

## 新規キノロン薬 pazufloxacin の細菌学的評価

中塩哲士・岩沢博子・金光敬二・杜 甫云・嶋田甚五郎

聖マリアンナ医科大学

難病治療研究センター\*

新規キノロン薬 pazufloxacin(PZFX)の *in vitro* 抗菌力を対照薬 norfloxacin, ofloxacin(OFLX), levofloxacin, ciprofloxacin, tosufloxacin, fleroxacin, sparfloxacin と比較検討した。本薬の *Streptococcus* 属に対する MIC range は 0.39~3.13 $\mu$ g/ml に分布し, OFLX とほぼ同等の抗菌力を示した。Methicillin 耐性 (MIC $\geq$ 25 $\mu$ g/ml) *Staphylococcus aureus* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 12.5 $\mu$ g/ml であった。PZFX は腸内細菌科菌群に対して良好な抗菌力を示し, 特に *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* および *Serratia marcescens* に対しては, 検討したキノロン薬と同等以上もしくは最も良好な抗菌力を示した。*S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 各 1 株を用い 10 代にわたり薬剤増量継代培養を行ったが, PZFX の MIC の上昇はいずれも 4 倍以内であり耐性化し難いことが示唆された。*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* 各 3 株を用い PZFX の postantibiotic effect を検討したところ, それぞれ 1.3, 1.6, 1.7 時間を示した。*P. aeruginosa* のバイオフィーム形成菌 (sessile cells) に対して, PZFX およびマクロライド薬 (erythromycin, clarithromycin) のそれぞれ単独では殺菌作用はなかったが, 両薬をそれぞれ併用することにより相乗的殺菌作用がみられた。

**Key words** : PZFX, *in vitro*, 抗菌力, 試験管内耐性獲得, postantibiotic effect, 緑膿菌バイオフィーム

Pazufloxacin(PZFX)は新規の経口用キノロン系抗菌薬でピリド [1, 2, 3-de][1, 4] ベンゾオキサジン環の 10 位に 1-アミノシクロプロピル基を有する。本薬は従来のキノロン薬に較べて痙攣誘発などの中枢神経系に対する作用が弱く, 血中半減期が短いにもかかわらず高い血中濃度が維持され, 主として尿中に排泄される。今回, 当院における各種の臨床材料から分離され起炎菌と推定された新鮮分離菌に対する PZFX の *in vitro* 抗菌力, 試験管内耐性獲得, postantibiotic effect を検討した。さらにヒト体内へ挿入, 留置する各種の医用器材表面に細菌が付着し, 特有のグリコカリックスを産生し強固なバイオフィームを形成することが, 近年臨床上大きな問題となっているが, バイオフィームは各種の抗菌薬・消毒薬あるいは白血球の貪食作用にも高度の抵抗性を示すことから, 除去・殺菌することが困難である<sup>1-4)</sup>。そこで今回, 医用材料表面に形成させた緑膿菌バイオフィームに対する PZFX, あるいはマクロライド薬との併用による殺菌作用の有無を検討したので報告する。

## I 材料と方法

## 1. 使用菌株

当院において 1992 年に各種臨床材料から分離された新鮮株 769 株を使用した。*Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* については methicillin 感受性

菌 (MIC $\leq$ 1.56 $\mu$ g/ml) と methicillin 耐性菌 (MIC $\geq$ 25 $\mu$ g/ml) に分けて検討した。

## 2. 使用薬剤

Norfloxacin(NFLX, 杏林製薬), ofloxacin(OFLX, 第一製薬), levofloxacin(LVFX, 第一製薬), ciprofloxacin(CPFX, バイエル薬品), tosufloxacin(TFLX, 富山化学工業), fleroxacin(FLRX, 杏林製薬), sparfloxacin(SPFX, 大日本製薬), PZFX(富山化学工業, ミドリ十字), erythromycin(EM, 塩野義製薬) および clarithromycin(CAM, 大正製薬, ダイナボット)を用いた。

## 3. 抗菌力測定法

日本化学療法学会標準法に従い寒天平板希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた<sup>5-7)</sup>。使用培地は Mueller-Hinton 培地 (BBL) を基礎培地とし, *Streptococcus* 属, *Enterococcus* 属にはヒツジ脱繊維血液 (コーニング) を終濃度 10% (V/V) に, *Staphylococcus* 属には NaCl を終濃度 2% (W/V) に添加した。*Bacteroides* 属, *Clostridium difficile* の場合は GAM 寒天培地 (日水) を用いた。

## 4. 試験管内耐性獲得試験

*S. aureus* No. 6 株, *Escherichia coli* No. 6 株, *Pseudomonas aeruginosa* No. 4 株を用いた。被験菌に対する PZFX の MIC はそれぞれ 0.1, 0.05 および 0.39 $\mu$ g/ml であった。Mueller-Hinton broth (MHB, BBL) を用いて継代

培養により PZFX 耐性獲得状況を検討した<sup>8)</sup>。被験菌 (10<sup>6</sup>CFU/ml) の増殖に影響を与えない薬剤濃度である 1/8MIC から継代をはじめ、2 倍段階ずつ高濃度の薬剤を含む MHB へ移植し、37℃で 24 時間培養し、これを 10 回繰り返した。各継代毎に被験菌に対する PZFX の MIC を測定した<sup>8)</sup>。

#### 5. Postantibiotic effect の検討

*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* および *P. aeruginosa* のそれぞれ 3 株を用い、postantibiotic effect (PAE) を検討した。PZFX および対照薬とした NFLX, OFLX, CPFX のそれぞれ 2MIC 濃度で 37℃, 2 時間接触させた後、メンブランフィルター (ミリポア, 0.23 $\mu$ m) を用いて抗菌薬を洗浄除去した。37℃にて振とう培養し、0, 1, 2, 3, 4 時間後に生菌数を測定した。PAE は薬剤除去後に細菌が 1 log 増殖する時間からコントロールが 1log 増殖する時間を差し引いた値 (h) とした<sup>9)</sup>。

#### 6. *P. aeruginosa* sessile cells に対する PZFX とマクロライド薬の相乗的殺菌作用

テフロン断片 (1cm<sup>2</sup>) を含む Trypticase soy broth (BBL) へ、*P. aeruginosa* SMU 9001 株を 10<sup>6</sup>CFU/ml に接種し、37℃にて 5 日間培養した。テフロン表面に付着した菌叢を sessile cells, 付着しないで培地中に浮遊している菌を floating cells とした。PZFX およびマクロライド薬 (EM, CAM) をそれぞれ単独、あるいは両薬を併用して各濃度を含む MHB 中にテフロン断片を移植し、37℃で保温してテフロン表面の sessile cells の生菌数を経時的に測定した<sup>10)</sup>。

## II. 成 績

### 1. PZFX の *in vitro* 抗菌力

Streptococci に対する PZFX の MIC range は 0.39 ~ 3.13 $\mu$ g/ml に分布し、*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> はそれぞれ 3.13, 1.56, 3.13 $\mu$ g/ml で、OFLX とほぼ同等の抗菌力を示した (Table 1)。Enterococci に対する PZFX の MIC range は 0.2 ~ 25 $\mu$ g/ml に分布し、*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus avium* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 12.5, 25 $\mu$ g/ml で、検討したキノロン薬と同等以上であった。また、*Enterococcus faecium* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 0.78 $\mu$ g/ml で検討薬中最も良好であった。Methicillin 感受性の *S. aureus*, *S. epidermidis* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 0.2, 3.13 $\mu$ g/ml と良好であった。それに対して methicillin 耐性の *S. aureus*, *S. epidermidis* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 12.5, 6.25 $\mu$ g/ml であった。腸内細菌科菌群に対して PZFX は良好な抗菌力を示し、PZFX の MIC<sub>90</sub> が 0.1 $\mu$ g/ml 以下であった菌種は *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* および *Morganella morganii* であった。特に *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*, *M. morganii* および *Serra-*

*tia marcescens* に対して PZFX は検討したキノロン薬と同等以上もしくは最も良好な抗菌力を示した。ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌のうち、*P. aeruginosa* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 0.78 $\mu$ g/ml で、CPFEX と同等であり、それ以外の検討薬より最も良好な抗菌力を示した。*Haemophilus influenzae* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> は 0.05 $\mu$ g/ml 以下と良好であった。嫌気性菌に対して PZFX は検討薬と同等以上の良好な抗菌力を示し、*Bacteroides fragilis*, *C. difficile* に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> はそれぞれ 0.78, 3.13 $\mu$ g/ml であった (Table 1)。各菌種に対する PZFX の MIC<sub>90</sub> を Table 2 にまとめて示した。

### 2. 試験管内耐性獲得試験ならびに PAE

被験菌を 10 代にわたって薬剤増量継代培養を行った結果、被験菌株の PZFX に対する MIC は 4 倍以内の上昇であることから、本薬に対し耐性化し難いことが示された (Fig. 1)。

次に *E. coli*, *K. pneumoniae* および *P. aeruginosa* の各々 3 株を用いて、PZFX の PAE を検討した結果、それぞれ 1.3, 1.6 および 1.7 時間を示し、対照とした NFLX, OFLX, CPFEX の PAE よりやや短かった (Table 3)。

### 3. *P. aeruginosa* sessile cells に対する PZFX と EM, CAM の相乗的殺菌作用

テフロン表面に形成された *P. aeruginosa* SMU 9001 株の sessile cells に対する PZFX と、マクロライド薬 (EM, CAM) の単独および併用時の殺菌作用を検討した。被験株の浮遊菌に対する PZFX, EM, CAM の MIC はそれぞれ 0.2, 200, 200 $\mu$ g/ml で、いずれも単独では被験菌 sessile cells に対して殺菌作用は認められなかった。しかし 0.1 $\mu$ g/ml 濃度の PZFX と、sub MIC 濃度である 50 $\mu$ g/ml の EM あるいは CAM と併用した場合には相乗的殺菌作用がみられた (Fig. 2)。

## III. 考 察

多数の臨床分離株を用いた検討で PZFX は各菌種に対して対照としたキノロン薬と同等またはより優れた抗菌力を示した。特に近年有効な治療薬が乏しいことから医学的、社会的に問題となっている MRSA に対し PZFX の MIC<sub>90</sub> は 12.5 $\mu$ g/ml であり、TFLX, SFLX より若干劣るものの、OFLX, CPFEX より良好な抗菌力を示した。この他にも腸内細菌科菌群のうち *E. coli*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*, *M. morganii* および *S. marcescens* に対して PZFX は対照薬と同等以上もしくは最も良好な抗菌力を示した。

なお、*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* および *P. aeruginosa* の各々 2 株ずつを用いて PZFX の最小殺菌濃度 (MBC) を測定し MIC と比較したところ、両者間には大きくても 4 倍以内の差しかなかったことから PZFX は殺菌的に作用すると考えられる。

バイオフィーム形成菌 (sessile cells) は各種の抗菌薬に

Table 1-1. Antimicrobial activity of pazufloxacin

Species	Agent	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>S. pneumoniae</i> (27)	Norfloxacin	0.39 ~ 12.5	3.13	6.25
	Ofloxacin	0.39 ~ 6.25	1.56	1.56
	Levofloxacin	0.2 ~ 6.25	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	0.2 ~ 3.13	0.39	1.56
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 3.13	0.39	0.78
	Fleroxacin	0.2 ~ 3.13	0.78	3.13
	Sparfloxacin	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
	Pazufloxacin	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>S. pyogenes</i> (27)	Norfloxacin	0.39 ~ 6.25	3.13	3.13
	Ofloxacin	0.2 ~ 3.13	1.56	1.56
	Levofloxacin	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78
	Tosufloxacin	0.1 ~ 1.56	0.39	0.78
	Fleroxacin	0.2 ~ 1.56	0.78	0.78
	Sparfloxacin	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
	Pazufloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
<i>S. agalactiae</i> (27)	Norfloxacin	1.56 ~ 25	6.25	12.5
	Ofloxacin	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
	Levofloxacin	0.2 ~ 3.13	0.78	3.13
	Ciprofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	Tosufloxacin	0.1 ~ 3.13	0.39	0.78
	Fleroxacin	0.39 ~ 3.13	1.56	1.56
	Sparfloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	Pazufloxacin	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>E. faecalis</i> (27)	Norfloxacin	1.56 ~ 100	3.13	100
	Ofloxacin	0.78 ~ 50	1.56	50
	Levofloxacin	0.39 ~ 25	0.78	25
	Ciprofloxacin	0.39 ~ 50	0.78	50
	Tosufloxacin	0.1 ~ 25	0.39	25
	Fleroxacin	3.13 ~ ≧200	6.25	≧200
	Sparfloxacin	0.39 ~ 25	0.39	12.5
	Pazufloxacin	0.39 ~ 12.5	0.78	12.5
<i>E. avium</i> (27)	Norfloxacin	0.78 ~ ≧200	3.13	50
	Ofloxacin	1.56 ~ 100	3.13	50
	Levofloxacin	1.56 ~ 50	1.56	25
	Ciprofloxacin	0.78 ~ 100	1.56	25
	Tosufloxacin	0.39 ~ >25	1.56	25
	Fleroxacin	3.13 ~ ≧200	6.25	≧200
	Sparfloxacin	0.2 ~ 25	0.78	25
	Pazufloxacin	0.39 ~ 25	1.56	25
<i>E. faecium</i> (27)	Norfloxacin	0.78 ~ 50	3.13	6.25
	Ofloxacin	0.78 ~ 25	3.13	12.5
	Levofloxacin	0.2 ~ 25	1.56	6.25
	Ciprofloxacin	0.1 ~ 50	1.56	3.13
	Tosufloxacin	0.1 ~ 25	1.56	12.5
	Fleroxacin	1.56 ~ 100	6.25	25
	Sparfloxacin	0.2 ~ 25	0.39	3.13
	Pazufloxacin	0.2 ~ 6.25	0.39	0.78
Methicillin-sensitive <i>S. aureus</i> (27)	Norfloxacin	0.39 ~ 12.5	0.78	12.5
	Ofloxacin	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78
	Levofloxacin	0.2 ~ 0.78	0.2	0.78
	Ciprofloxacin	0.1 ~ 1.56	0.78	0.78
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
	Fleroxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	3.13
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 0.1	≦0.05	0.1
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (27)	Norfloxacin	0.39 ~ ≧200	1.56	≧200
	Ofloxacin	0.2 ~ 25	0.39	25
	Levofloxacin	0.2 ~ 12.5	0.39	12.5
	Ciprofloxacin	0.39 ~ 100	0.78	100
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 6.25	≦0.05	6.25
	Fleroxacin	0.78 ~ 100	0.78	50
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 6.25	≦0.05	6.25
	Pazufloxacin	0.2 ~ 25	0.39	12.5

(μg/ml)

Table 1-2. (Continued)

Species	Agent	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Methicillin-sensitive <i>S. epidermidis</i> (27)	Norfloxacin	0.2 ~ ≥200	0.78	50
	Ofloxacin	0.2 ~ 50	0.39	50
	Levofloxacin	0.1 ~ 25	0.2	12.5
	Ciprofloxacin	≦0.05 ~ ≥200	0.2	50
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 12.5	0.1	6.25
	Fleroxacin	0.39 ~ ≥200	0.78	100
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 25	0.1	6.25
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 12.5	0.2	3.13
Methicillin-resistant <i>S. epidermidis</i> (27)	Norfloxacin	0.2 ~ ≥200	1.56	100
	Ofloxacin	0.2 ~ 50	0.78	50
	Levofloxacin	0.1 ~ 100	0.39	12.5
	Ciprofloxacin	0.1 ~ 100	0.78	50
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 12.5	0.1	6.25
	Fleroxacin	0.39 ~ ≥200	1.56	≧200
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 25	0.1	12.5
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.2	6.25
<i>E. coli</i> (27)	Norfloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.1	0.78
	Ofloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.1	0.78
	Levofloxacin	≦0.05 ~ 1.56	≦0.05	0.78
	Ciprofloxacin	≦0.05 ~ 1.56	≦0.05	0.39
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 6.25	≦0.05	0.78
	Fleroxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.1	1.56
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.1	0.39
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 0.1	≦0.05	0.1
<i>C. freundii</i> (27)	Norfloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.39	6.25
	Ofloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.78	6.25
	Levofloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.39	6.25
	Ciprofloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.1	6.25
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.39	6.25
	Fleroxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.78	6.25
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.78	6.25
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 3.13	0.39	3.13
<i>C. diversus</i> (27)	Norfloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Ofloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Levofloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Ciprofloxacin	≦0.05 ~ 0.78	≦0.05	0.2
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Fleroxacin	≦0.05 ~ 3.13	0.1	0.78
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 1.56	≦0.05	0.39
<i>K. pneumoniae</i> (27)	Norfloxacin	0.1 ~ 6.25	0.1	3.13
	Ofloxacin	0.1 ~ 6.25	0.1	1.56
	Levofloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Ciprofloxacin	≦0.05 ~ 1.56	≦0.05	0.78
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 3.13	≦0.05	0.78
	Fleroxacin	≦0.05 ~ 6.25	0.2	6.25
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 6.25	≦0.05	0.78
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 0.78	0.1	0.39
<i>K. oxytoca</i> (27)	Norfloxacin	≦0.05 ~ 0.39	0.1	0.1
	Ofloxacin	≦0.05 ~ 0.1	0.1	0.1
	Levofloxacin	≦0.05 ~ 0.1	≦0.05	≦0.05
	Ciprofloxacin	≦0.05	≦0.05	≦0.05
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 0.1	≦0.05	≦0.05
	Fleroxacin	≦0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 0.1	≦0.05	0.1
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 0.1	≦0.05	0.1
<i>E. aerogenes</i> (27)	Norfloxacin	≦0.05 ~ 3.13	0.1	1.56
	Ofloxacin	0.1 ~ 1.56	0.2	1.56
	Levofloxacin	≦0.05 ~ 0.78	0.1	0.78
	Ciprofloxacin	≦0.05 ~ 0.78	≦0.05	0.39
	Tosufloxacin	≦0.05 ~ 0.78	≦0.05	0.78
	Fleroxacin	0.1 ~ 3.13	0.2	1.56
	Sparfloxacin	≦0.05 ~ 0.78	≦0.05	0.78
	Pazufloxacin	≦0.05 ~ 0.39	0.1	0.2

(μg/ml)

Table 1-3. (Continued)

Species	Agent	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>E. cloacae</i> (27)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 6.25	0.2	3.13
	Ofloxacin	≦ 0.05 ~ 3.13	0.2	3.13
	Levofloxacin	≦ 0.05 ~ 1.56	≦ 0.05	1.56
	Ciprofloxacin	≦ 0.05 ~ 1.56	≦ 0.05	1.56
	Tosufloxacin	≦ 0.05 ~ 1.56	≦ 0.05	1.56
	Fleroxacin	0.1 ~ 6.25	0.2	6.25
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 0.78	0.1	0.78
	Pazufloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	0.1
<i>P. mirabilis</i> (27)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	0.1
	Ofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
	Levofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
	Ciprofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	≦ 0.05
	Tosufloxacin	0.1 ~ 0.2	0.2	0.2
	Fleroxacin	0.1 ~ 0.39	0.2	0.2
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 0.39	0.2	0.39
	Pazufloxacin	≦ 0.05	≦ 0.05	≦ 0.05
<i>P. vulgaris</i> (27)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	≦ 0.05
	Ofloxacin	0.1 ~ 0.78	0.1	0.39
	Levofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.39	≦ 0.05	0.2
	Ciprofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	0.1
	Tosufloxacin	≦ 0.05 ~ 0.78	0.1	0.39
	Fleroxacin	0.1 ~ 0.78	0.2	0.39
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 1.56	0.1	0.78
	Pazufloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	0.1
<i>M. morgani</i> (27)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 3.13	≦ 0.05	0.78
	Ofloxacin	≦ 0.05 ~ 1.56	0.1	0.78
	Levofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.78	0.1	0.39
	Ciprofloxacin	≦ 0.05 ~ 0.78	≦ 0.05	0.39
	Tosufloxacin	≦ 0.05 ~ 0.39	0.1	0.39
	Fleroxacin	≦ 0.05 ~ 6.25	0.1	0.39
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 0.39	0.2	0.39
	Pazufloxacin	≦ 0.05 ~ 0.2	≦ 0.05	0.1
<i>S. marcescens</i> (27)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 100	6.25	50
	Ofloxacin	0.1 ~ 50	3.13	25
	Levofloxacin	0.1 ~ 25	1.56	12.5
	Ciprofloxacin	0.1 ~ 50	0.78	25
	Tosufloxacin	≦ 0.05 ~ >25	1.56	>25
	Fleroxacin	0.1 ~ 100	3.13	25
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 50	1.56	12.5
	Pazufloxacin	0.1 ~ 25	1.56	12.5
<i>P. aeruginosa</i> (40)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 100	0.78	1.56
	Ofloxacin	0.1 ~ 50	1.56	3.13
	Levofloxacin	≦ 0.05 ~ 50	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	≦ 0.05 ~ 25	0.39	0.78
	Tosufloxacin	≦ 0.05 ~ >25	0.39	1.56
	Fleroxacin	0.1 ~ 50	1.56	3.13
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 50	0.78	3.13
	Pazufloxacin	0.1 ~ 25	0.39	0.78
<i>X. maltophilia</i> (27)	Norfloxacin	6.25 ~ ≧200	12.5	≧200
	Ofloxacin	0.39 ~ 50	1.56	3.13
	Levofloxacin	0.39 ~ 25	0.78	6.25
	Ciprofloxacin	0.39 ~ 50	3.13	12.5
	Tosufloxacin	0.1 ~ >25	0.39	0.78
	Fleroxacin	0.78 ~ 50	1.56	3.13
	Sparfloxacin	0.1 ~ 12.5	0.39	0.78
	Pazufloxacin	≦ 0.05 ~ 25	0.39	0.78
<i>A. calcoaceticus</i> (27)	Norfloxacin	≦ 0.05 ~ 100	1.56	50
	Ofloxacin	0.1 ~ 50	0.2	25
	Levofloxacin	≦ 0.05 ~ 25	0.2	12.5
	Ciprofloxacin	≦ 0.05 ~ 12.5	0.2	12.5
	Tosufloxacin	≦ 0.05 ~ 25	0.2	12.5
	Fleroxacin	0.1 ~ 100	0.39	12.5
	Sparfloxacin	≦ 0.05 ~ 50	0.1	6.25
	Pazufloxacin	0.1 ~ 25	0.2	6.25

(μg/ml)

Table 1-4. (Continued)

Species	Agent	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>A. xylosoxidans</i> (27)	Norfloxacin	0.1 ~ $\geq$ 200	25	100
	Ofloxacin	0.1 ~ 100	6.25	25
	Levofloxacin	0.1 ~ 50	1.56	12.5
	Ciprofloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 50	6.25	25
	Tosufloxacin	0.1 ~ >25	12.5	>25
	Fleroxacin	0.1 ~ 100	6.25	12.5
	Sparfloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 50	6.25	12.5
	Pazufloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 25	3.13	12.5
<i>H. influenzae</i> (27)	Norfloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 0.2	$\leq$ 0.05	0.1
	Ofloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 0.1	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
	Levofloxacin	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
	Ciprofloxacin	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
	Tosufloxacin	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
	Fleroxacin	$\leq$ 0.05 ~ 0.1	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
	Sparfloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 0.1	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
	Pazufloxacin	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05	$\leq$ 0.05
<i>B. fragilis</i> (27)	Norfloxacin	6.25 ~ $\geq$ 200	25	100
	Ofloxacin	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	Levofloxacin	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
	Ciprofloxacin	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
	Tosufloxacin	0.2 ~ 3.13	0.78	3.13
	Fleroxacin	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
	Sparfloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 1.56	0.78	0.78
	Pazufloxacin	$\leq$ 0.05 ~ 0.78	0.39	0.78
<i>C. difficile</i> (27)	Norfloxacin	12.5 ~ $\geq$ 200	100	$\geq$ 200
	Ofloxacin	1.56 ~ 50	6.25	12.5
	Levofloxacin	0.78 ~ 25	3.13	6.25
	Ciprofloxacin	1.56 ~ 50	6.25	25
	Tosufloxacin	0.39 ~ 12.5	1.56	3.13
	Fleroxacin	3.13 ~ 100	12.5	25
	Sparfloxacin	1.56 ~ 25	3.13	6.25
	Pazufloxacin	0.2 ~ 3.13	1.56	3.13

(μg/ml)

Table 2. Summary of antimicrobial activity of pazufloxacin

Species against which MIC <sub>90</sub> of pazufloxacin is			
$\leq$ 0.1	0.2 ~ 6.25	12.5 ~ 50	$\geq$ 100
	<i>S. pneumoniae</i> (3.13) <i>S. pyogenes</i> (1.56) <i>S. agalactiae</i> (3.13) <i>E. faecium</i> (0.78)	<i>E. faecalis</i> (12.5) <i>E. avium</i> (25) MRSA (12.5)	
	MSSA (0.2) MSSE (3.13) MRSE (6.25)		
<i>E. coli</i> (0.1)	<i>C. freundii</i> (3.13) <i>C. diversus</i> (0.39) <i>K. pneumoniae</i> (0.39) <i>E. aerogenes</i> (0.2)	<i>S. marcescens</i> (12.5)	
<i>K. oxytoca</i> (0.1) <i>E. cloacae</i> (0.1) <i>P. mirabilis</i> ( $\leq$ 0.05) <i>P. vulgaris</i> (0.1) <i>M. organii</i> (0.1)			
<i>H. influenzae</i> ( $\leq$ 0.05)	<i>P. aeruginosa</i> (0.78) <i>X. maltophilia</i> (0.78) <i>A. calcoaceticus</i> (6.25)	<i>A. xylosoxidans</i> (12.5)	
	<i>B. fragilis</i> (0.78) <i>C. difficile</i> (3.13)		

MSSA: methicillin-sensitive *S. aureus*MRSA: methicillin-resistant *S. aureus*MSSE: methicillin-sensitive *S. epidermidis*MRSE: methicillin-resistant *S. epidermidis*

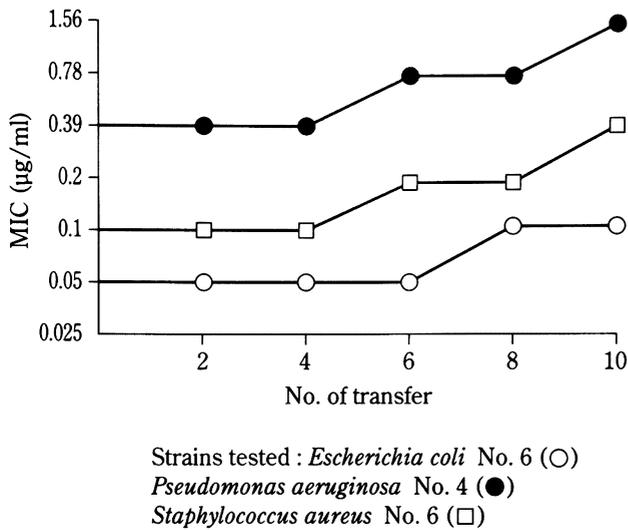
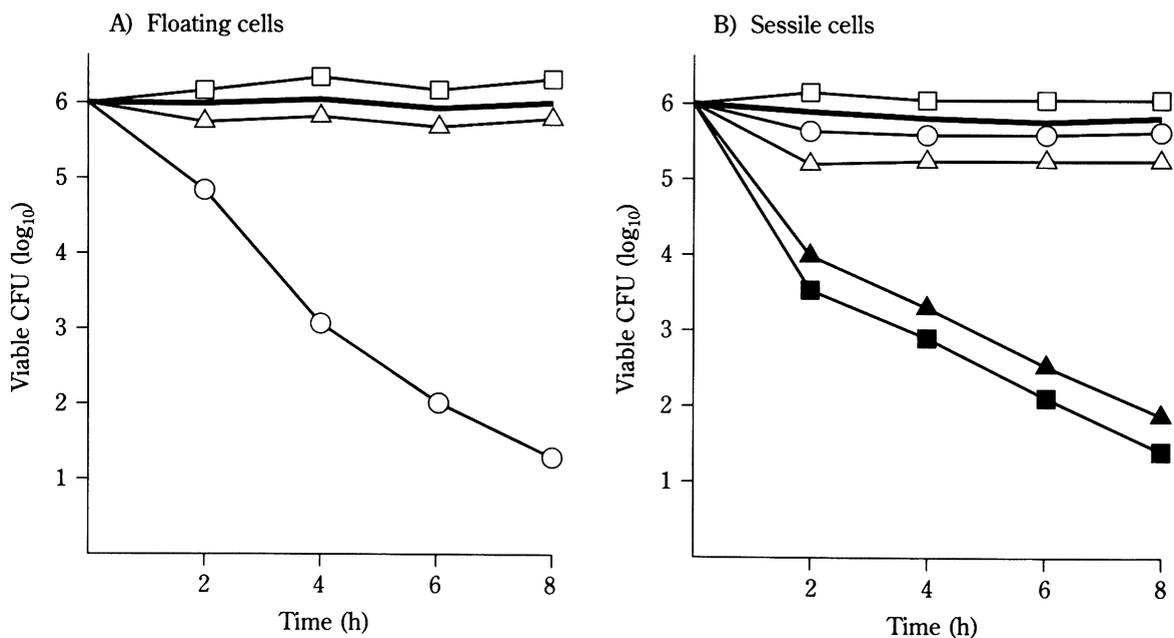


Fig. 1. Development of resistance to pazufloxacin.

Table 3. Postantibiotic effect of pazufloxacin and other quinolones

Organism	Postantibiotic effect (h)			
	Pazuflo- xacin	Nor- floxacin	Oflo- xacin	Ciproflo- xacin
<i>Escherichia coli</i>				
SMU 1001	1.4	1.1	2.0	1.7
SMU 1002	1.1	1.9	2.1	2.1
SMU 1003	1.3	1.5	1.6	1.6
Average	1.3	1.5	1.9	1.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
SMU 3001	1.5	1.5	1.9	2.4
SMU 3002	1.6	1.6	2.0	2.1
SMU 3003	1.6	1.6	2.2	2.6
Average	1.6	1.6	2.0	2.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
SMU 9001	1.5	2.4	1.8	2.1
SMU 9002	2.0	3.0	1.8	2.8
SMU 9003	1.6	3.0	2.1	3.6
Average	1.7	2.8	1.9	2.8



MIC against the strain tested : 0.2 µg/ml for pazufloxacin, 200 µg/ml for erythromycin (EM) or clarithromycin (CAM), respectively

Symbols : (—) control ; (○) PZFX 0.2 µg/ml ; (△) EM 50 µg/ml ; (□) CAM 50 µg/ml

(▲) PZFX 0.1 µg/ml and EM 50 µg/ml ; (■) PZFX 0.1 µg/ml and CAM 50 µg/ml

Fig. 2. Synergistic bactericidal activity of pazufloxacin combined with sub MICs of macrolides against the sessile cells of *Pseudomonas aeruginosa* SMU 9001.

高度の抵抗性を有し生体内でも安定した生息圏を形成し長期にわたり生残する。臨床的には *Streptococcus* 属による亜急性細菌性心内膜炎, *S. aureus* による慢性骨髓炎, *P. aeruginosa* の関与が強く疑われているびまん性汎細気管支炎, 感染結石およびカテーテル等の医用器材に付着するケース等がバイオフィーム感染症の代表例である。今回, テフロン表面に実験的に形成された *P. aeruginosa* sessile cells に対し, PZFX およびマクロライド薬 (EM, CAM) はそれぞれ単独ではまったく殺菌作用を示さないが, 両薬を sub MIC 濃度で併用することにより相乗的殺菌作用がみられた。この併用機序は不明であるが, マクロライド薬により sessile cells の透過性が変化し, キノロン薬 PZFX が細胞内へ透過し易くなり, 抗菌作用を示すものと考えられた<sup>11,12)</sup>。各種のバイオフィーム形成菌による難治性・慢性感染症に対し PZFX とマクロライド薬の併用療法が臨床的に有効かどうかの検討が今後の課題である。

#### 文 献

- 1) Costerton J W: Bacterial biofilm in nature and disease. *Ann Rev Microbiol* 41:435~464, 1987
- 2) Dickinson G M, Bisno A L: Infections associated with indwelling devices: concepts of pathogenesis. *Antimicrob Agents Chemother* 33:597~601, 1989
- 3) 小林宏行: 細菌バイオフィーム。感染症 21:161~172, 1991
- 4) 公文裕巳: Biofilm 感染症一総論。化学療法の領域 10:1477~1485, 1994
- 5) 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
- 6) 日本化学療法学会嫌気性菌 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
- 7) 中塩哲士, 須佐千尋, 邱 世林, 金光敬二, 堀 誠治, 柳川 明, 嶋田甚五郎: 新規グリコペプチド系抗菌薬 Teicoplanin の各種臨床分離新鮮株に対する抗菌力の検討。 *Chemotherapy* 41(S-2): 41~46, 1993
- 8) 中塩哲士, 須佐千尋, 岩沢博子, 堀 誠治, 嶋田甚五郎: 新規ペネム系抗菌薬 SY5555 の各種臨床分離新鮮株に対する抗菌力の検討。 *Chemotherapy* 42(S-1): 656~663, 1994
- 9) 戸塚恭一, 柴田雄介, 菊地 賢, 片平潤一, 清水喜八郎: Cefozopran の *in vitro* postantibiotic effect に関する検討。 *Chemotherapy* 41(S-4): 524~526, 1993
- 10) 中塩哲士, 須佐千尋, 邱 世林, 木島あゆみ, 岩沢博子, 下村晴信, 金光敬二, 堀 誠治, 水島 裕, 嶋田甚五郎: Clarithromycin の *in vitro* 抗菌力と細菌の粘着抑制作用に関する研究。 *Jap J Antibiotics* 46:428~436, 1993
- 11) Hoyle B D, Alcantara J and Costerton J W: *Pseudomonas aeruginosa* biofilms as a diffusion barrier to piperacillin. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 2054~2056, 1992
- 12) Anwar H, DasGupta M K and Costerton J W: Testing the susceptibility of bacteria in biofilm to antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 2043~2046, 1992

## *In vitro* antibacterial activity of pazufloxacin, a new fluoroquinolone

Satoshi Nakashio, Hiroko Iwasawa, Keiji Kanemitsu, Fu Yun Dun and Jingoro Shimada

Institute of Medical Science, St. Marianna University, School of Medicine

2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216, Japan

The antimicrobial activity of pazufloxacin (PZFX), a new quinolone, was determined against 769 recent clinical isolates and compared with those of norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, tosufloxacin, fleroxacin and sparfloxacin. PZFX showed superior antimicrobial activity against the species of *Streptococcus* and *Enterococcus*, and the MICs<sub>90</sub> of PZFX against methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* were 0.2 and 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. The MICs of PZFX against most species of *Enterobacteriaceae* were less than 3.13  $\mu\text{g/ml}$ . PZFX showed the equal or the highest antimicrobial activity against the species of *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* and *Serratia marcescens* among the agents tested.

Resistance to PZFX was induced in stepwise fashion in broth cultures of *S. aureus*, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa* strains, indicating that the rate was very slow, and the increased level of resistance did not exceed fourfold.

The *in vitro* postantibiotic effect (PAE) of PZFX was evaluated. When strains of *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *P. aeruginosa* were exposed to PZFX at 2 MICs for 2 hours, the durations of PAE were 1.3, 1.6 and 1.7 hours, respectively, and PZFX tended to show a slightly shorter duration of PAE than the reference quinolones.

Although PZFX alone had no bactericidal activity against the sessile cells of the *P. aeruginosa* strain tested, PZFX showed synergistic bactericidal activity when combined with sub-MICs of erythromycin or clarithromycin.