

新キノロン系抗菌薬balofloxacinの*in vitro* 抗菌作用

小嶋佳奈・伊藤達也・宗村和子・近藤晶子・松本雅彦・永野洋幸

中外製薬株式会社富士御殿場研究所*

松原秀三

中外製薬株式会社臨床開発部

Balofloxacin (BLFX) は、キノロン骨格の8位にメトキシ基を導入したニューキノロン系経口抗菌薬である。BLFXの*in vitro* 抗菌力を、ofloxacin (OFLX), norfloxacin (NFLX), ciprofloxacin (CPFX), tosufloxacin (TFLX) およびlomefloxacin (LFLX) と比較検討した。

各種臨床分離株に対する感受性分布では、BLFXはメチシリン感受性*Staphylococcus aureus* (MSSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* 属, *Enterococcus* 属, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Haemophilus influenzae*, *Xanthomonas maltophilia*, *Bacteroides fragilis* に対して0.05~3.13 μ g/mlのMIC₉₀を示した。中でもMSSA, *Streptococcus* 属, *Enterococcus* 属に対しては比較薬中最も優れた抗菌力を示した。また、BLFXは供試したメチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) のすべての菌株の発育を6.25 μ g/mlの濃度で抑制し、比較薬中最も優れた抗MRSA活性を示した。BLFXの抗菌力は、培地、血清添加および接種菌量の影響を受け難いが、比較薬と同様に高濃度の金属イオン存在下や培地pHの酸性域で抗菌力が低下した。BLFXの殺菌力は強く、MICとMBCはほぼ同値を示した。さらに、BLFXは黄色ブドウ球菌および大腸菌に対して良好なpostantibiotic effect (PAE) を有していた。

Key words : balofloxacin, キノロン, 抗菌作用, *in vitro*

Balofloxacin (BLFX, 治験略号Q-35) は中外製薬株式会社で合成された新しいニューキノロン系抗菌薬である。フルオロキノロン骨格7位にメチルアミノペリジン基を配し、広域の抗菌スペクトルを有する¹⁾。また、8位にメトキシ基を有することより、紫外線照射に対して構造安定性を増し、光毒性の発現を抑制している^{2,3)}。

今回、我々は、BLFXの*in vitro* 抗菌力をofloxacin (OFLX), norfloxacin (NFLX), ciprofloxacin (CPFX), tosufloxacin (TFLX) およびlomefloxacin (LFLX) と比較検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

BLFXは中外製薬株式会社富士御殿場研究所で合成したものを使用した。対照薬として用いたNFLX(杏林製薬), OFLX(第一製薬), CPFX(バイエル薬品), TFLX(富山化学), LFLX(北陸製薬)およびmethicillin (DMPPC, 萬有製薬)は、それぞれ市販品より抽出精製して使用した。

2. 使用菌株

各種標準株および臨床分離株(1986年~1989年に分離)は、当研究所の保存菌株を用いた。

3. 感受性測定

前培養にMueller-Hinton broth (Difco), 感受性測定にMueller-Hinton agar (MHA, Difco)を用い、日本化学療法学会法⁴⁾に従って最小発育阻止濃度(MIC)測定した。なお、*Streptococcus* 属については、10%馬脱線維血加MHAを用い、*Haemophilus* 属については5% Fildes enrichmentを加えたMHAを用いて、37 $^{\circ}$ C, 24時間培養後にMICを求めた。嫌気性菌は、GAM broth (ニッスイ) およびGAM agar (ニッスイ)をそれぞれ前培養および測定用培地として用い、日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法⁵⁾に準じて感受性を測定した。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地の種類、培地pH、馬血清添加ならびに接種菌量の影響は、*Staphylococcus aureus* CSJ 1923, *Streptococcus pneumoniae* No. 12, *Escherichia coli* NIHJ JC-2および*Pseudomonas aeruginosa* NC-5を試験菌として、MHAを用いた寒天平板希釈法(37 $^{\circ}$ C, 一夜培養)により検討した。なお、培地の影響についてはMHA, Nutrient agar (NA, Difco), Heart infusion agar (HIA, Difco), Tryptic soy agar (TSA, Difco) およびBrain heart infusion agar (BHIA, Difco)を用いて検討した。*S. pneumoniae*の培養は、培地に5%の羊脱線維血を加えたもので行った。

尿中でのMICはコントロール尿(Ortho)を用い、*S. aureus* CSJ 1923, *E. coli* NIHJ JC-2, および*P. aeruginosa* NC-5に対するMICを接種菌量 5×10^5 CFU/ml, 液量100 μ lの条件で微量液体希釈法により測定した。各種金属イオンの影響は、KCl, AlK(SO₄)₂, FeCl₃, MgSO₄およびCaCl₂を5mM添加した後に、pHを7.2に調製したMHBを用いて*S. aureus* CSJ 1923および*E. coli* NIHJ JC-2を被験菌として、尿中MICの測定と同じ要領で微量液体希釈法で測定した。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

MHBで前培養した*S. aureus* CSJ 1923, *S. pneumoniae* No. 12, *E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* NC-5を $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ CFU/mlとなるよう5mlのMHBに接種し、対数増殖期中期まで培養した後、BLFXおよび対照薬剤を所定の濃度となるよう添加し、以後、24時間後までの生菌数を経時的に測定した(生菌数の検出限界: 10CFU/ml)。

6. MBCの測定

MHBを用いた微量液体希釈法により、接種菌量 5×10^5 CFU/ml, 液量100 μ lの条件にてMICを測定し、この培養液3 μ lを新たなMHAに接種し、菌の発育の有無によりMBCを測定した。

7. Postantibiotic Effect (PAE)の測定

Brain heart infusion broth (BHIB, Difco)で前培養した*S. aureus* 209Pおよび*E. coli* NIHJ JC-2を用いた。6mlのMHB中約 10^6 CFU/mlに調製した菌液に2, 4, 8MIC濃度のBLFXまたはOFLXを37 $^{\circ}$ Cで1時間作用させ、メンブランフィルターで集菌、洗浄後、新たな5または10mlのMHBに再懸濁し、37 $^{\circ}$ Cで培養した。経時的に生菌数を測定し、薬剤処理群の細菌が薬剤除去後10倍に増殖する時間から、薬剤無処理群の菌数が10倍に達する時間を差し引いた値をPAEとして算出した。

8. 自然耐性菌出現頻度の測定

MHBで試験菌株を一夜培養し、培養液を適宜希釈し、その0.2mlを試験菌株の2MICおよび4MICに相当する薬剤を添加したMHAにそれぞれ塗布し、37 $^{\circ}$ Cで一夜培養後、出現したコロニー数より耐性株の出現頻度を接種菌量に対する比率で算出した。

9. 試験管内耐性上昇試験

試験菌株を、それぞれの薬剤を含むMHB培地で9回継代培養し、微量液体希釈法でMICを測定した。すなわち、96穴プレート上で接種菌量 5×10^5 CFU/ml, 液量100 μ lの条件でMICを測定し、1/2MIC濃度の薬剤を含むウェルの菌液を適宜希釈して新たにMICの測定に用いる過程を繰り返した。

II. 成績

1. 抗菌スペクトラム

当研究所保存の各種グラム陽性菌およびグラム陰性菌

に対する試験管内抗菌力について検討した結果をTable 1~2に示した。BLFXは供試菌に対し、幅広い抗菌スペクトラムを示した。グラム陽性菌に対する抗菌力はTFLXよりやや弱いものの、NFLX, OFLX, CPFXおよびLFLXよりも優れていた。グラム陰性菌に対しては、NFLX, OFLX, CPFXおよびTFLXより弱いものの、LFLXと同程度の抗菌力を示した。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された24菌種の感受性分布をTable 3に示した。

Methicillin感受性*S. aureus* 46株に対するBLFXのMICは ≤ 0.013 から0.20 μ g/mlに分布し、MIC₅₀, MIC₉₀は共に0.10 μ g/mlであった。この抗菌力はTFLXよりやや弱いものの、OFLX, NFLX, CPFXおよびLFLXより優れていた。また、methicillin耐性*S. aureus* 87株に対するBLFXのMICは0.025から6.25 μ g/mlに分布し、そのMIC₉₀は6.25 μ g/mlで比較薬中最も優れていた。*Staphylococcus epidermidis* 42株に対してはBLFXのMICは0.05から0.78 μ g/mlに分布し、MIC₅₀, MIC₉₀は0.10, 0.39 μ g/mlで、TFLXとほぼ同等、OFLX, NFLX, CPFXおよびLFLXより優れた抗菌力を示した。

S. pneumoniae 36株, *Streptococcus pyogenes* 47株および*Streptococcus agalactiae* 71株に対しては、BLFXのMICは0.10から0.78 μ g/mlに分布し、MIC₅₀は0.20, 0.20および0.39 μ g/ml, MIC₉₀は共に0.39 μ g/mlで、TFLXとほぼ同等、OFLX, NFLX, CPFXおよびLFLXより優れた抗菌力を示した。

Enterococcus faecalis 43株, *Enterococcus faecium* 44株の腸球菌属に対しては、BLFXのMICは0.10から25 μ g/mlに分布し、MIC₅₀は0.78および1.56 μ g/ml, MIC₉₀は0.78および3.13 μ g/mlであった。この抗菌力はTFLXとほぼ同程度、OFLX, NFLX, CPFXおよびLFLXより優れていた。

腸内細菌科の*E. coli* 98株, *Citrobacter freundii* 46株, *Klebsiella pneumoniae* 47株, *Enterobacter cloacae* 39株, *Serratia marcescens* 68株, *Proteus mirabilis* 50株, *Proteus vulgaris* 37株, *Morganella morganii* 50株, *Providencia rettgeri* 32株および*Providencia stuartii* 49株では、BLFXのMICは ≤ 0.013 から50 μ g/mlに分布し、MIC₅₀はそれぞれ0.20, 1.56, 0.20, 0.39, 1.56, 1.56, 0.78, 0.78, 12.5および0.78 μ g/mlで、MIC₉₀はそれぞれ0.39, 12.5, 3.13, 6.25, 25, 1.56, 1.56, 3.13, 25および3.13 μ g/mlであった。この抗菌力は、OFLX, NFLX, CPFXおよびTFLXより弱いものの、LFLXと同程度であった。

Haemophilus influenzae 52株に対して、BLFXのMICは ≤ 0.013 から0.10 μ g/mlに分布し、MIC₅₀およびMIC₉₀は0.025および0.05 μ g/mlであり、OFLX, CPFXおよびTFLXよりやや弱いものの、NFLXおよびLFLXとほぼ同

等の抗菌力を示した。

Pseudomonas aeruginosa 48株では, BLFXのMICは0.39から $>100\mu\text{g/ml}$ に分布し, MIC₅₀およびMIC₉₀は3.13および $25\mu\text{g/ml}$ で, OFLX, NFLX, CFPXおよびTFLXより

弱いものの, LFLXと同程度であった。*Pseudomonas cepacia* 39株, *Xanthomonas maltophilia* 46株および*Acinetobacter calcoaceticus* 20株ではBLFXのMICは0.10から $50\mu\text{g/ml}$ に分布しMIC₅₀はそれぞれ12.5, 1.56および

Table 1. Antibacterial spectrum of balofloxacin and reference quinolones against gram-positive bacteria

Strains		MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
		balofloxacin	norfloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	tosufloxacin	lomefloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i>	209P	0.10	0.20	0.39	0.10	0.05	0.39
	JU-5	0.05	1.56	0.20	0.39	0.025	0.78
	JU-39	0.05	0.10	0.20	0.05	0.05	0.39
	Smith	0.10	1.56	0.39	0.78	0.10	0.78
	CSJ 1923	0.10	1.56	0.39	0.78	0.10	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	IFO 12993	0.20	3.13	0.78	0.78	0.20	3.13
	TO-11	0.05	0.39	0.20	0.20	0.10	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	No.12	0.39	12.5	3.13	3.13	0.39	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Sv	0.39	6.25	3.13	1.56	0.39	12.5
<i>Streptococcus salivarius</i>	IFO 13956	0.05	0.05	≤ 0.013	0.39	0.10	3.13
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341	0.39	6.25	1.56	1.56	3.13	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	CSJ 1212	0.39	3.13	1.56	0.78	0.39	3.13
<i>Enterococcus faecium</i>	IFO 3181	0.10	0.39	0.78	0.39	0.20	3.13
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	≤ 0.013	0.10	0.05	0.025	0.025	0.10
<i>Bacillus cereus</i>	IFO 13494	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39
<i>Listeria monocytogenes</i>	4b	0.39	1.56	0.78	0.39	0.39	3.13

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

Table 2. Antibacterial spectrum of balofloxacin and reference quinolones against gram-negative bacteria

Strains		MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
		balofloxacin	norfloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	tosufloxacin	lomefloxacin
<i>Escherichia coli</i>	NIHJ JC-2	0.20	0.05	0.10	≤ 0.013	0.05	0.10
	C-11	0.10	0.10	0.05	≤ 0.013	0.025	0.10
	CSJ 1922	0.10	0.05	0.05	≤ 0.013	0.025	0.10
	CSJ 1218	0.20	0.05	0.05	≤ 0.013	0.025	0.10
	<i>Shigella flexneri</i>	2b	0.10	0.025	0.025	≤ 0.013	≤ 0.013
<i>Shigella sonnei</i>	TO-1	0.10	0.05	0.05	≤ 0.013	0.025	0.10
<i>Salmonella typhi</i>	TANAKA	0.10	0.025	0.025	≤ 0.013	≤ 0.013	0.10
<i>Salmonella enteritidis</i>	T-1	0.10	0.10	0.10	≤ 0.013	0.025	0.10
<i>Salmonella typhimurium</i>	LT-2	0.20	0.10	0.10	≤ 0.013	0.05	0.10
<i>Citrobacter freundii</i>	IFO 12681	0.20	0.025	0.025	≤ 0.013	0.025	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3K25	0.20	0.10	0.10	0.025	0.05	0.20
	B-54	0.20	0.05	0.05	≤ 0.013	0.05	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i>	IFO 3320	0.10	0.025	0.025	≤ 0.013	0.025	0.05
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IFO 13534	0.39	0.10	0.10	0.025	0.05	0.10
<i>Serratia marcescens</i>	TO-101	0.39	0.10	0.10	0.05	0.10	0.10
	FU-111	12.5	6.25	6.25	1.56	3.13	12.5
	IFO 12648	0.78	0.10	0.20	0.05	0.20	0.20
<i>Proteus vulgaris</i>	IFO 3851	0.20	0.025	0.05	≤ 0.013	0.20	0.05
<i>Proteus mirabilis</i>	IFO 13300	0.10	0.025	0.05	≤ 0.013	0.05	0.05
<i>Providencia rettgeri</i>	IFO 13501	0.10	≤ 0.013	0.025	≤ 0.013	0.025	0.025
<i>Morganella morganii</i>	IFO 3848	0.20	0.025	0.025	≤ 0.013	0.10	≤ 0.013
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IFO 12582	6.25	1.56	1.56	0.78	0.78	3.13
	NC-5	6.25	0.78	1.56	0.20	0.78	3.13
	CSJ 1853	6.25	1.56	1.56	0.39	0.78	1.56
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	IFO 14161	0.78	6.25	1.56	0.78	0.39	1.56
<i>Alcaligenes faecalis</i>	IFO 13111	3.13	6.25	1.56	1.56	3.13	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	IFO 12552	0.39	3.13	0.39	0.39	0.10	0.78

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

0.20 μ g/mlで、MIC₉₀はそれぞれ25, 3.13および25 μ g/mlであった。この抗菌力は、CPFXおよびTFLXより弱いものの、OFLX, NFLXおよびLFLXとほぼ同程度であった。

Bacteroides fragilis 40株に対しては、BLFXのMICは0.39から6.25 μ g/mlに分布し、MIC₅₀およびMIC₉₀は0.78および3.13 μ g/mlであり、この抗菌力はTFLXとほぼ同等で、OFLX, NFLX, CPFXおよびLFLXより優れていた。

Table 3-1. Antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones against clinical isolates

Strains	Drugs	MIC (μ g/ml)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (46)	balofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.20$	0.10	0.10
	norfloxacin	0.20 \sim 25	0.78	3.13
	ofloxacin	0.10 \sim 1.56	0.39	0.39
	ciprofloxacin	0.05 \sim 3.13	0.20	0.78
	tosufloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.05	0.10
	lomefloxacin	0.39 \sim 3.13	0.78	0.78
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (87)	balofloxacin	0.025 \sim 6.25	0.20	6.25
	norfloxacin	0.20 \sim > 100	6.25	> 100
	ofloxacin	0.20 \sim 50	0.78	25
	ciprofloxacin	0.05 \sim 100	1.56	100
	tosufloxacin	0.025 \sim 100	0.39	50
	lomefloxacin	0.39 \sim > 100	3.13	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (42)	balofloxacin	0.05 \sim 0.78	0.10	0.39
	norfloxacin	0.10 \sim 12.5	0.78	3.13
	ofloxacin	0.20 \sim 3.13	0.39	1.56
	ciprofloxacin	0.10 \sim 1.56	0.20	0.78
	tosufloxacin	0.05 \sim 1.56	0.10	0.20
	lomefloxacin	0.39 \sim 6.25	0.78	3.13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (36)	balofloxacin	0.10 \sim 0.39	0.20	0.39
	norfloxacin	0.78 \sim 12.5	3.13	12.5
	ofloxacin	0.78 \sim 1.56	1.56	1.56
	ciprofloxacin	0.20 \sim 1.56	0.78	0.78
	tosufloxacin	0.10 \sim 0.39	0.20	0.39
	lomefloxacin	1.56 \sim 12.5	6.25	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> (47)	balofloxacin	0.10 \sim 0.78	0.20	0.39
	norfloxacin	0.78 \sim 3.13	3.13	3.13
	ofloxacin	0.78 \sim 1.56	1.56	1.56
	ciprofloxacin	0.10 \sim 1.56	0.39	0.78
	tosufloxacin	0.10 \sim 0.78	0.20	0.39
	lomefloxacin	1.56 \sim 6.25	6.25	6.25
<i>Streptococcus agalactiae</i> (71)	balofloxacin	0.20 \sim 0.39	0.39	0.39
	norfloxacin	1.56 \sim 25	6.25	6.25
	ofloxacin	0.78 \sim 3.13	1.56	1.56
	ciprofloxacin	0.20 \sim 1.56	0.78	1.56
	tosufloxacin	0.10 \sim 0.78	0.39	0.78
	lomefloxacin	3.13 \sim 25	6.25	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> (43)	balofloxacin	0.1 \sim 1.56	0.78	0.78
	norfloxacin	1.56 \sim 12.5	3.13	6.25
	ofloxacin	0.78 \sim 6.25	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.39 \sim 1.56	1.56	1.56
	tosufloxacin	0.10 \sim 3.13	0.78	1.56
	lomefloxacin	3.13 \sim 12.5	6.25	6.25
<i>Enterococcus faecium</i> (44)	balofloxacin	0.20 \sim 25	1.56	3.13
	norfloxacin	0.20 \sim > 100	3.13	6.25
	ofloxacin	0.20 \sim 100	3.13	6.25
	ciprofloxacin	0.10 \sim > 100	1.56	3.13
	tosufloxacin	0.025 \sim > 100	1.56	6.25
	lomefloxacin	0.39 \sim > 100	6.25	12.5

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

Table 3-2. Antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones against clinical isolates

Strains	Drugs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i> (98)	balofloxacin	$\leq 0.013 \sim 1.56$	0.20	0.39
	norfloxacin	0.025 \sim 0.78	0.05	0.20
	ofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.78$	0.05	0.10
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.20$	≤ 0.013	0.025
	tosufloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.025	0.05
	lomefloxacin	0.025 \sim 1.56	0.10	0.20
<i>Citrobacter freundii</i> (46)	balofloxacin	0.10 \sim 50	1.56	12.5
	norfloxacin	0.025 \sim 12.5	0.20	6.25
	ofloxacin	0.025 \sim 25	0.39	3.13
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 6.25$	0.10	1.56
	tosufloxacin	0.025 \sim >100	0.20	3.13
	lomefloxacin	0.05 \sim 25	0.39	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (47)	balofloxacin	0.10 \sim 25	0.20	3.13
	norfloxacin	0.05 \sim 25	0.10	1.56
	ofloxacin	0.05 \sim 12.5	0.10	1.56
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 6.25$	0.025	0.39
	tosufloxacin	0.025 \sim 6.25	0.05	0.78
	lomefloxacin	0.10 \sim 25	0.20	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> (39)	balofloxacin	0.025 \sim 12.5	0.39	6.25
	norfloxacin	0.025 \sim 12.5	0.20	6.25
	ofloxacin	0.025 \sim 6.25	0.10	3.13
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 3.13$	0.025	1.56
	tosufloxacin	$\leq 0.013 \sim 3.13$	0.05	1.56
	lomefloxacin	0.025 \sim 12.5	0.20	6.25
<i>Serratia marcescens</i> (68)	balofloxacin	0.10 \sim \leq 50	1.56	25
	norfloxacin	0.05 \sim 25	0.10	25
	ofloxacin	0.05 \sim 25	0.20	12.5
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 6.25$	0.10	6.25
	tosufloxacin	0.05 \sim >100	0.39	25
	lomefloxacin	0.10 \sim 25	0.39	25
<i>Proteus mirabilis</i> (50)	balofloxacin	0.20 \sim 3.13	1.56	1.56
	norfloxacin	0.025 \sim 0.39	0.05	0.20
	ofloxacin	0.05 \sim 0.78	0.20	0.39
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.20$	0.025	0.10
	tosufloxacin	0.05 \sim 1.56	0.39	0.78
	lomefloxacin	0.10 \sim 1.56	0.39	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> (37)	balofloxacin	0.39 \sim 6.25	0.78	1.56
	norfloxacin	0.025 \sim 0.20	0.05	0.10
	ofloxacin	0.05 \sim 0.39	0.10	0.39
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.10$	0.025	0.05
	tosufloxacin	0.05 \sim 1.56	0.20	0.39
	lomefloxacin	0.10 \sim 0.78	0.20	0.39
<i>Morganella morganii</i> (50)	balofloxacin	0.20 \sim 25	0.78	3.13
	norfloxacin	0.025 \sim 0.8	0.05	0.2
	ofloxacin	0.05 \sim 3.13	0.10	0.39
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.78$	≤ 0.013	0.1
	tosufloxacin	0.05 \sim 12.5	0.20	0.78
	lomefloxacin	0.05 \sim 3.13	0.10	0.78
<i>Proteus rettgeri</i> (32)	balofloxacin	0.78 \sim 25	12.5	25
	norfloxacin	0.05 \sim 50	6.25	25
	ofloxacin	0.20 \sim 12.5	6.25	12.5
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 12.5$	1.56	6.25
	tosufloxacin	0.10 \sim 12.5	3.13	12.5
	lomefloxacin	0.20 \sim 25	6.25	12.5

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

Table 3-3. Antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones against clinical isolates

Strains	Drugs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Providencia stuartii</i> (49)	balofloxacin	$\leq 0.013 \sim 3.13$	0.78	3.13
	norfloxacin	0.025 \sim 3.13	0.20	1.56
	ofloxacin	$\leq 0.013 \sim 1.56$	0.39	1.56
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.78$	0.05	0.39
	tosufloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.10	0.39
	lomefloxacin	0.025 \sim 1.56	0.39	1.56
<i>Haemophilus influenzae</i> (52)	balofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.10$	0.025	0.05
	norfloxacin	0.05 \sim 0.10	0.05	0.10
	ofloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.10$	≤ 0.013	0.05
	ciprofloxacin	$\leq 0.013 \sim \leq 0.013$	≤ 0.013	≤ 0.013
	tosufloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.025$	≤ 0.013	≤ 0.013
	lomefloxacin	$\leq 0.013 \sim 0.10$	0.05	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (48)	balofloxacin	0.39 \sim > 100	3.13	25
	norfloxacin	0.20 \sim 100	0.78	12.5
	ofloxacin	0.05 \sim 25	0.39	6.25
	ciprofloxacin	0.025 \sim 25	0.20	3.13
	tosufloxacin	0.05 \sim > 100	0.39	12.5
	lomefloxacin	0.39 \sim > 100	1.56	50
<i>Pseudomonas cepacia</i> (39)	balofloxacin	0.20 \sim 50	12.5	25
	norfloxacin	0.39 \sim 50	12.5	25
	ofloxacin	0.10 \sim 25	6.25	12.5
	ciprofloxacin	0.05 \sim 12.5	3.13	3.13
	tosufloxacin	0.025 \sim 6.25	3.13	3.13
	lomefloxacin	0.20 \sim 25	12.5	12.5
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (46)	balofloxacin	0.39 \sim 12.5	1.56	3.13
	norfloxacin	3.13 \sim 50	12.5	12.5
	ofloxacin	0.39 \sim 6.25	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.39 \sim 12.5	1.56	3.13
	tosufloxacin	0.10 \sim 3.13	0.39	0.78
	lomefloxacin	0.78 \sim 12.5	1.56	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (20)	balofloxacin	0.10 \sim 50	0.2	25
	norfloxacin	0.78 \sim > 100	1.56	> 100
	ofloxacin	0.10 \sim 50	0.20	50
	ciprofloxacin	0.05 \sim 50	0.10	50
	tosufloxacin	$\leq 0.013 \sim$ > 100	0.05	12.5
	lomefloxacin	0.20 \sim > 100	0.39	100
<i>Bacteroides fragilis</i> (40)	balofloxacin	0.39 \sim 6.25	0.78	3.13
	norfloxacin	12.5 \sim > 100	25	100
	ofloxacin	1.56 \sim 50	3.13	6.25
	ciprofloxacin	3.13 \sim 25	3.13	12.5
	tosufloxacin	0.39 \sim 12.5	0.78	1.56
	lomefloxacin	6.25 \sim 50	6.25	25

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

S. aureus CSJ 1923, *S. pneumoniae* No. 12, *E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* NC-5を試験菌として、抗菌力に及ぼす培地の種類、培地pH、馬血清添加および接種菌量の影響について検討した結果をTable 4~7に示した。

BLFXの抗菌力は、他剤同様、培地種および血清添加の影響をほとんど受けなかった。

培地pHを6.0, 7.0および8.0に調製した時の抗菌力を測定した結果、BLFXは他剤同様、酸性域で抗菌活性が低下し、アルカリ域で、上昇する傾向が見られた。

約 $10^4 \sim 10^8$ CFU/mlの菌液を接種したときの抗菌力を測定した結果、BLFXは他剤同様、接種菌量が増えると僅かに抗菌力が低下する傾向がみられた。

BLFXの*S. aureus* CSJ 1923, *E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* NC-5の尿中でのMICはそれぞれ0.2, 6.25および25 $\mu\text{g/ml}$ であった(Table 8)。MHB中でのMICと比較すると*S. aureus*では大きな差はないが、*E. coli*および*P. aeruginosa*では64および8倍、尿中MICの方が高く、この傾向は他剤にも同様にみられた。

BLFXの*S. aureus* CSJ 1923および*E. coli* NIHJ JC-2に

Table 4. Influence of medium on antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones

Strains	Drugs	Medium				
		MHA	NA	HIA	TSA	BHIA
<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923	balofloxacin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	norfloxacin	3.13	1.56	3.13	1.56	3.13
	ofloxacin	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
	ciprofloxacin	0.78	0.78	1.56	0.78	1.56
	tosufloxacin	0.20	0.20	0.39	0.20	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> No. 12	lomefloxacin	1.56	1.56	3.13	1.56	3.13
	balofloxacin	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
	norfloxacin	6.25	6.25	25	12.5	25
	ofloxacin	1.56	1.56	3.13	3.13	3.13
	ciprofloxacin	1.56	0.78	3.13	1.56	3.13
	tosufloxacin	0.39	0.20	0.39	0.39	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	lomefloxacin	6.25	3.13	12.5	12.5	12.5
	balofloxacin	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
	norfloxacin	0.10	0.39	0.20	0.10	0.10
	ofloxacin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	ciprofloxacin	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
	tosufloxacin	0.05	0.10	0.05	0.05	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	lomefloxacin	0.05	0.10	0.10	0.10	0.10
	balofloxacin	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
	norfloxacin	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
	ofloxacin	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56
	ciprofloxacin	0.39	0.39	0.20	0.20	0.20
	tosufloxacin	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

MIC (μg/ml)

Medium: MHA: Mueller Hinton agar (Difco) NA: Nutrient agar (Difco) HIA: Heart Infusion agar (Difco)

TSA: Tryptic soy agar (Difco) BHIA: Brain Heart Infusion agar (Difco)

Table 5. Influence of medium pH on antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones

Strains	Drugs	pH		
		6	7	8
<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923	balofloxacin	0.10	0.10	0.10
	norfloxacin	3.13	3.13	3.13
	ofloxacin	0.39	0.39	0.78
	ciprofloxacin	0.39	0.78	0.78
	tosufloxacin	0.20	0.20	0.39
	lomefloxacin	6.25	3.13	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> No. 12	balofloxacin	0.39	0.39	0.20
	norfloxacin	12.5	6.25	3.13
	ofloxacin	1.56	1.56	1.56
	ciprofloxacin	1.56	1.56	0.78
	tosufloxacin	0.39	0.39	0.39
	lomefloxacin	6.25	6.25	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	balofloxacin	0.39	0.20	0.05
	norfloxacin	0.39	0.05	0.025
	ofloxacin	0.20	0.10	0.05
	ciprofloxacin	0.05	≤0.013	≤0.013
	tosufloxacin	0.10	0.05	0.025
	lomefloxacin	0.39	0.10	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	balofloxacin	3.13	1.56	0.78
	norfloxacin	3.13	1.56	0.78
	ofloxacin	1.56	0.78	1.56
	ciprofloxacin	0.39	0.20	0.20
	tosufloxacin	1.56	0.78	1.56
	lomefloxacin	1.56	1.56	3.13

Medium: Mueller Hinton agar (Difco)

MIC (μg/ml)

Table 6. Influence of horse serum on antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones

Strains	Drugs	Horse serum (%)			
		0	12.5	25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923	balofloxacin	0.10	0.10	0.10	0.20
	norfloxacin	1.56	3.13	3.13	1.56
	ofloxacin	0.39	0.39	0.78	0.78
	ciprofloxacin	0.39	0.78	0.78	0.39
	tosufloxacin	0.10	0.10	0.20	0.39
	lomefloxacin	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> No. 12	balofloxacin	0.39	0.39	0.20	0.20
	norfloxacin	6.25	6.25	6.25	6.25
	ofloxacin	1.56	1.56	1.56	1.56
	ciprofloxacin	1.56	1.56	1.56	1.56
	tosufloxacin	0.39	0.39	0.39	0.39
	lomefloxacin	6.25	6.25	6.25	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	balofloxacin	0.20	0.10	0.10	—
	norfloxacin	0.10	0.05	0.10	—
	ofloxacin	0.10	0.10	0.05	—
	ciprofloxacin	0.025	≦0.013	0.025	—
	tosufloxacin	0.025	0.025	0.025	—
	lomefloxacin	0.05	0.05	0.05	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	balofloxacin	3.13	3.13	1.56	3.13
	norfloxacin	0.78	0.78	0.78	0.78
	ofloxacin	1.56	0.78	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.20	0.20	0.20	0.10
	tosufloxacin	0.39	0.39	0.78	1.56
	lomefloxacin	1.56	0.78	1.56	1.56

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

Medium: Mueller Hinton agar (Difco)

MIC (μg/ml)

Table 7. Influence of inoculum size on antibacterial activity of balofloxacin and reference quinolones

Strains	Drugs	Inoculum size (cfu/ml)				
		10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923	balofloxacin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.20
	norfloxacin	1.56	1.56	3.13	3.13	3.13
	ofloxacin	0.20	0.39	0.39	0.39	0.78
	ciprofloxacin	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78
	tosufloxacin	0.20	0.20	0.20	0.78	0.78
	lomefloxacin	0.78	1.56	1.56	1.56	3.13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> No. 12	balofloxacin	0.20	0.20	0.39	0.78	0.78
	norfloxacin	3.13	6.25	6.25	12.5	25
	ofloxacin	0.78	1.56	1.56	3.13	6.25
	ciprofloxacin	0.78	0.78	1.56	1.56	3.13
	tosufloxacin	0.20	0.20	0.39	0.78	0.78
	lomefloxacin	3.13	6.25	6.25	12.5	25
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	balofloxacin	0.10	0.20	0.20	0.20	0.39
	norfloxacin	0.05	0.05	0.10	0.10	0.10
	ofloxacin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	ciprofloxacin	0.025	0.025	0.05	0.05	0.05
	tosufloxacin	0.025	0.025	0.05	0.05	0.05
	lomefloxacin	0.05	0.05	0.05	0.10	0.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	balofloxacin	1.56	1.56	3.13	3.13	6.25
	norfloxacin	0.39	0.39	0.78	0.78	1.56
	ofloxacin	0.39	0.78	1.56	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.10	0.20	0.39	0.39	0.78
	tosufloxacin	0.39	0.78	0.78	0.78	1.56
	lomefloxacin	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56

Medium: Mueller Hinton agar (Difco)

MIC (μg/ml)

対する抗菌力に及ぼす Al^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} および Fe^{3+} の影響を検討した結果をTable 9, 10に示した。BLFXは他剤同様、2価および3価の金属陽イオン添加によりMICが上昇し、この傾向は3価の陽イオンにおいてより顕著だった。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus CSJ 1923, *S. pneumoniae* No. 12, *E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* NC-5を試験菌として、BLFX, NFLX, OFLX, CPFX, LFLXおよびTFLXの増殖曲線に及ぼす影響を検討し、その結果をFig. 1~4に示した。BLFXは、他剤同様、濃度依存的な作用を示し、全ての菌に対して1~2MIC以上の濃度で殺菌的に作用した。また、いずれの薬剤も菌株によっては1~4MICの濃度下で短時間のうちに生菌数が減少した後24時間後には再び

増殖する現象がみられたが、BLFXは2MIC以上の濃度ではいずれの菌株でも菌の再増殖がみられなかった。

5. MBCの測定

S. aureus CSJ 1923, *E. coli* NIHJ JC-2, *S. pneumoniae* No. 12および*P. aeruginosa* NC-5に対するMICとMBCを測定し、その成績をTable 11に示した。BLFXは他剤同様、試験した全ての菌においてMICとMBCが一致した。

6. Postantibiotic Effect (PAE)の測定

S. aureus CSJ 1923および*E. coli* NIHJ JC-2に対するBLFXとOFLXのPAEを比較し、その成績をTable 12に示した。PAEは、両菌種において観察された。*S. aureus*に対しては、4および8MICにおいて、BLFXはOFLXより長いPAEを示した。一方、*E. coli*に対しては、BLFXは4MICにおいてOFLXより長いPAEを示したが、8MIC

Table 8. Antibacterial activity of balofloxacin in urine

Drugs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923		<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	
	MHB	Urine*	MHB	Urine*	MHB	Urine*
Balofloxacin	0.10	0.20	0.10	6.25	3.13	25
Norfloxacin	1.56	1.56	0.05	3.13	0.78	12.5
Ofloxacin	0.78	0.78	0.05	3.13	1.56	25
Ciprofloxacin	0.78	3.13	≤ 0.013	0.78	0.10	3.13
Tosufloxacin	0.10	0.20	≤ 0.013	0.39	0.20	1.56
Lomefloxacin	0.78	1.56	0.10	3.13	1.56	25

*: control urine II (Ortho), pH 6.3 Inoculum size: 10^6 CFU/ml
Medium: Mueller Hinton agar (Difco)

Table 9. Effects of metal ion on the antibacterial activity of balofloxacin against *Staphylococcus aureus* CSJ 1923

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	—	KCl	$AlK(SO_4)_2$	$MgSO_4$	$CaCl_2$	$FeCl_3$
Balofloxacin	0.05	0.10	0.78	0.10	0.10	0.20
Norfloxacin	0.39	0.78	>12.5	3.13	0.39	12.5
Ofloxacin	0.20	0.39	3.13	0.78	0.39	1.56
Ciprofloxacin	0.39	0.78	12.5	1.56	0.39	3.13
Tosufloxacin	0.025	0.05	0.10	0.05	0.025	0.20
Lomefloxacin	0.78	0.78	6.25	1.56	0.78	3.13

Inoculum size: 10^6 CFU/ml
Medium: Mueller Hinton agar (Difco)

Table 10. Effects of metal ion on the antibacterial activity of balofloxacin against *Escherichia coli* NIHJ JC-2

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	—	KCl	$AlK(SO_4)_2$	$MgSO_4$	$CaCl_2$	$FeCl_3$
Balofloxacin	0.20	0.20	3.13	0.78	0.39	3.13
Norfloxacin	0.05	0.05	3.13	0.20	0.20	3.13
Ofloxacin	0.05	0.05	1.56	0.20	0.10	1.56
Ciprofloxacin	0.025	0.025	1.56	0.05	0.05	1.56
Tosufloxacin	≤ 0.013	0.025	0.39	0.05	0.05	0.39
Lomefloxacin	0.10	0.10	1.56	0.20	0.20	3.13

Inoculum size: 10^6 CFU/ml
Medium: Mueller Hinton agar (Difco)

ではOFLXの方が長いPAEを示した。

7. 自然耐性菌出現頻度の測定

S. aureus CSJ 1923, *S. pneumoniae* No. 12, *E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* NC-5に対するBLFXおよび対照

薬剤の2および4MICを添加したMHA培地で自然耐性株の出現頻度を調べ、その成績をTable 13に示した。*S. aureus*のBLFX耐性株の出現頻度は、2MICでは他剤と同様に 1.7×10^{-6} 程度に検出されたが、*S. aureus*の4MICお

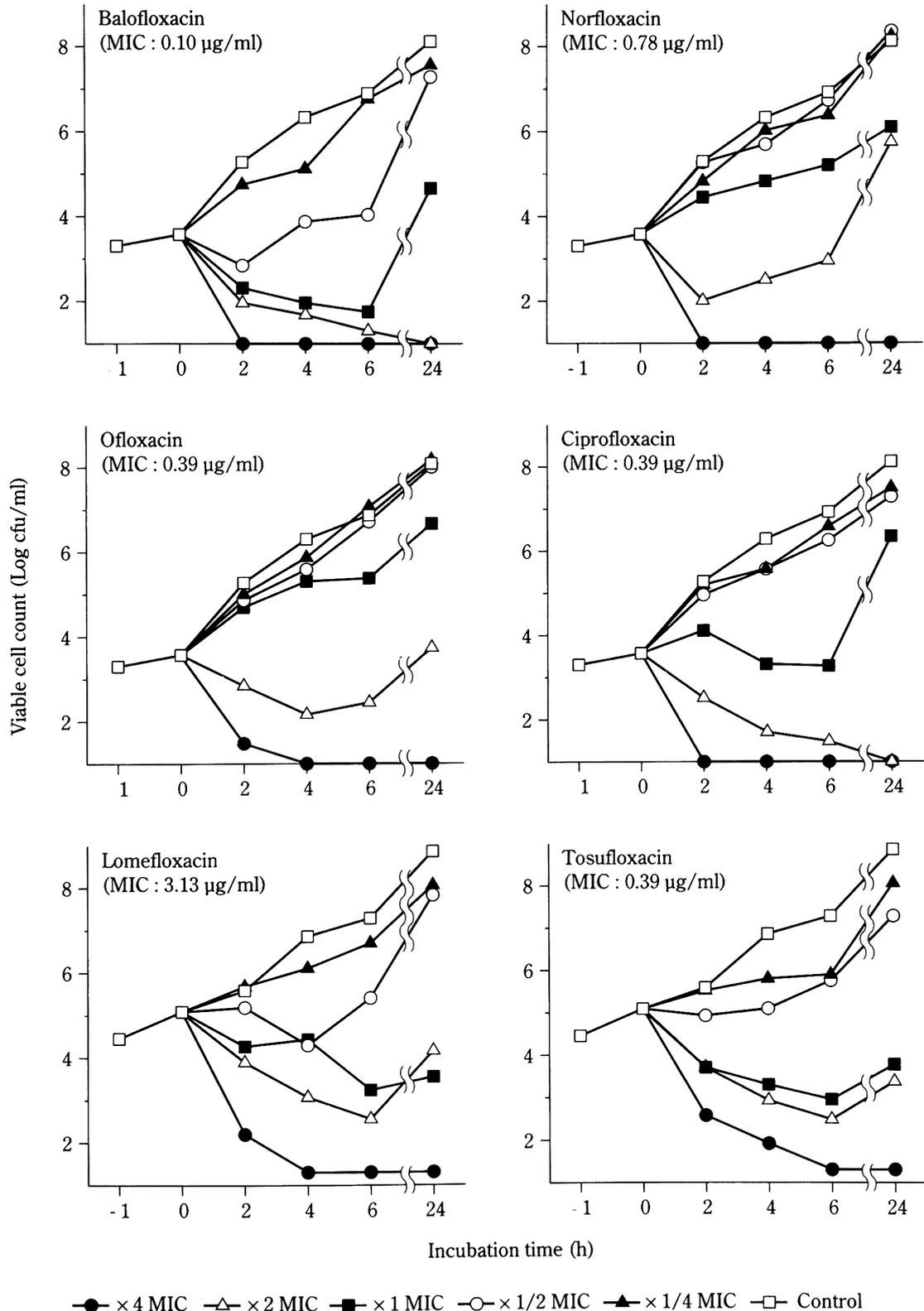


Fig. 1. Bactericidal activity of balofloxacin and reference quinolones against *Staphylococcus aureus* CSJ1923.

よび *S. pneumoniae* では、 10^8 以下であった。一方、グラム陰性菌株の BLFX に対する耐性株の出現頻度は、 10^{-7} 以下であったが、4MIC においても耐性菌の出現が認められた。

8. 試験管内耐性上昇試験

S. aureus CSJ 1923, *S. pneumoniae* No. 12, *E. coli* NIHJ JC-2 および *P. aeruginosa* NC-5 に対する BLFX および対照薬剤の耐性上昇試験を行い、その成績を Fig. 5 に示した。

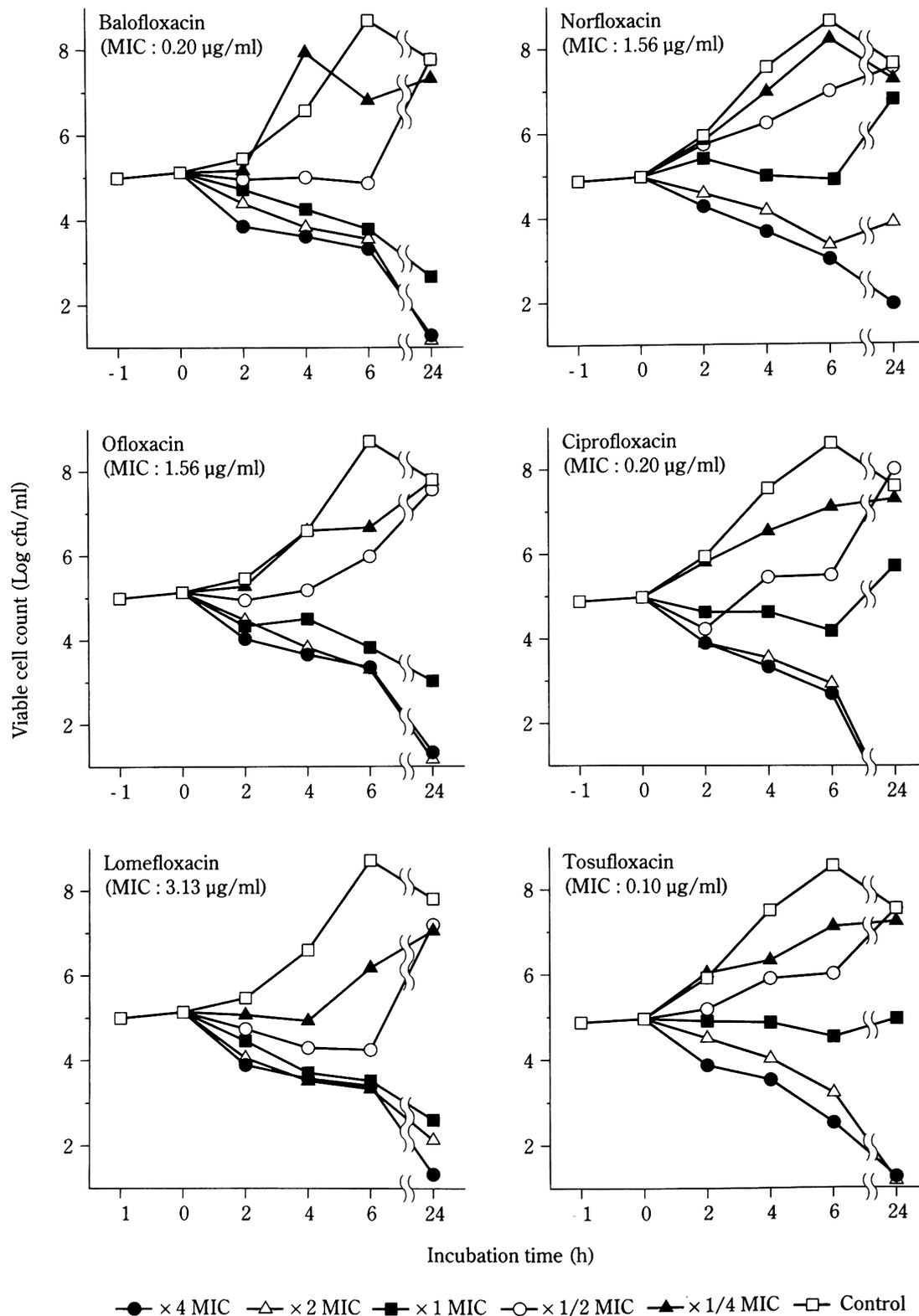


Fig. 2. Bactericidal activity of balofloxacin and reference quinolones against *Streptococcus pneumoniae* No. 12.

薬剤含有培地での継代を繰り返すと、他剤と同様に、BLFXのMICは2~8倍に上昇した。

Ⅲ. 考 察

新しい合成抗菌薬BLFXの*in vitro*抗菌力を、既存ニ

ューキノロン薬のNFLX, OFLX, CPFX, TFLXおよびLFLXと比較検討した。BLFXはグラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対し抗菌作用を示し、これまでに開発されたニューキノロン薬と同様、広い抗菌スペク

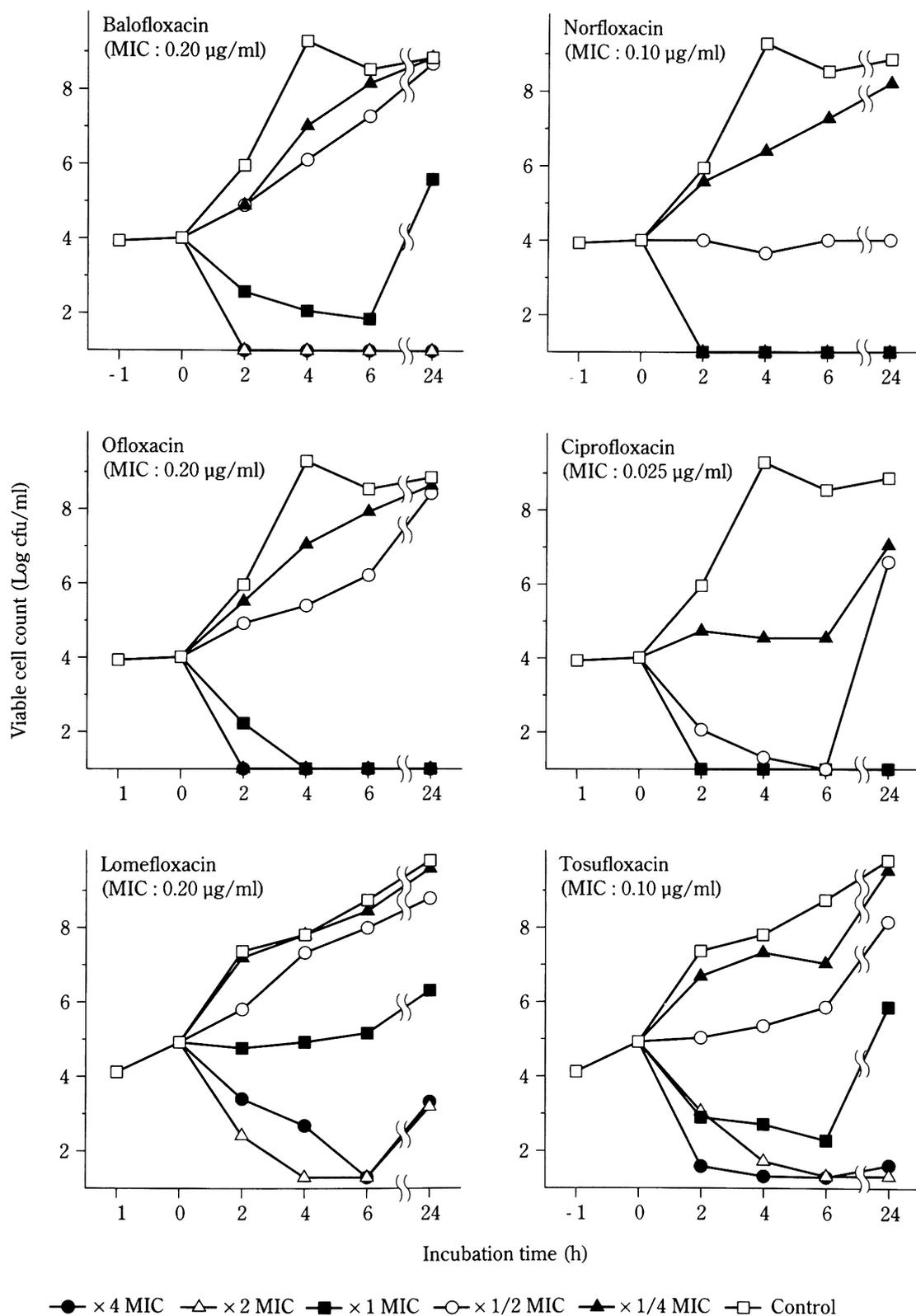


Fig. 3. Bactericidal activity of balofloxacin and reference quinolones against *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

トルを有していた。

BLFXはグラム陽性菌に対してTFLXと同様の強い抗菌力を示し、グラム陰性菌に対しては、他剤に比べやや弱い抗菌力を示したが、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabi-*

lis, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. stuartii*, *H. influenzae*, *X. maltophilia*に対するBLFXのMIC₉₀は3.13 μ g/ml以下であった。特に、呼吸器感染症および皮膚感染症の起炎菌、例えば*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*および*H. in-*

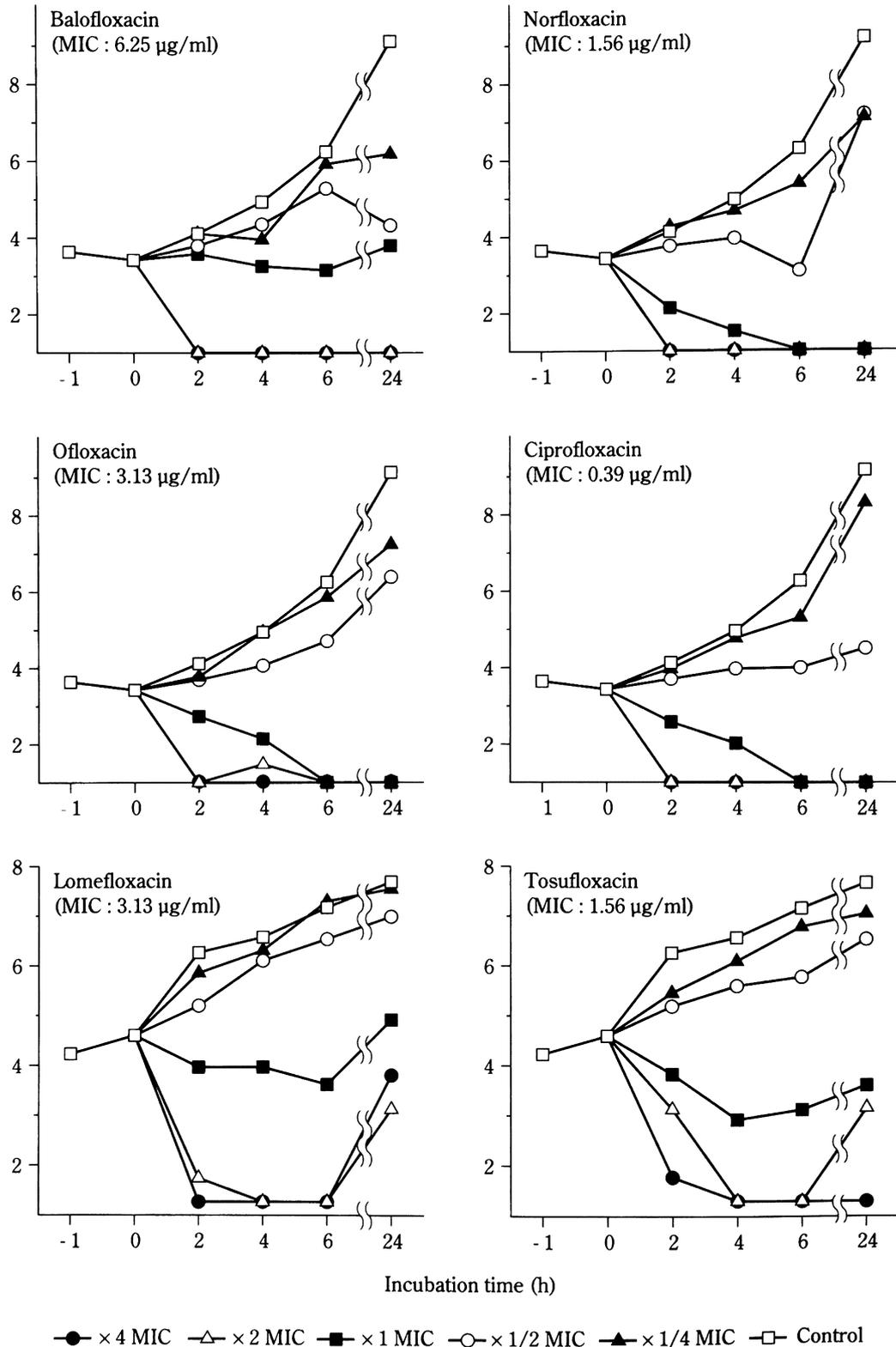


Fig. 4. Bactericidal activity of balofloxacin and reference quinolones against *Pseudomonas aeruginosa* NC-5.

*fluenzae*に対して強い抗菌力を示した。また、BLFXはMRSAに対して最も優れた抗菌力を示すと共に、嫌気性菌*B. fragilis*に対しても強い活性を示す事が特徴的であった。

BLFXの抗菌力は、使用したいずれの菌株においても、培地の種類、馬血清添加および接種菌量の影響をほとんど受けなかったが、培地pHが酸性側では低下した。また、

尿中および2価、3価のカチオンの添加により著しいMICの上昇を示した。この現象は、他のキノロン薬でも同様に観察され^{8,7)}、酸性条件下および金属イオンとキノロン薬とのキレートにより、薬剤の菌体膜透過が不良になることが報告されている^{8,9)}。従って、BLFXの抗菌力に及ぼす培地のpHおよび金属イオン添加の影響は、同様に菌体内への取り込みの低下が原因と思われる。

Table 11. MIC and MBC of balofloxacin and reference quinolones

Organisms	Balofloxacin		Norfloxacin		Ofloxacin		Ciprofloxacin		Tosufloxacin	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923	0.05	0.05	0.78	0.39	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> No. 12	0.10	0.10	1.56	3.13	0.39	0.39	0.39	0.78	0.10	0.10
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.10	0.10	0.025	0.025	0.05	0.05	≤0.013	≤0.013	0.10	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	3.103	3.103	0.78	0.78	1.56	1.56	0.10	0.10	0.39	0.39

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

Medium: Mueller Hinton broth (Difco)

Table 12. Postantibiotic effect (PAE) of balofloxacin and reference quinolones

Organisms	Drug	MIC (μg/ml)	PAE (h)		
			2 MIC	4 MIC	8 MIC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	balofloxacin	0.1	0.97	2.43	2.67
	ofloxacin	0.39	0.99	1.34	1.06
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	balofloxacin	0.39	1.73	2.44	2.59
	ofloxacin	0.2	1.77	1.70	3.62

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

Medium: Mueller Hinton broth (Difco)

Table 13. Frequency of spontaneous mutants resistant to quinolones

Strains	Drug	MIC (μg/ml)	Frequency	
			× 2 MIC	× 4 MIC
<i>Staphylococcus aureus</i> CSJ 1923	balofloxacin	0.10	1.7 × 10 ⁻⁶	< 1.4 × 10 ⁻⁸
	norfloxacin	1.56	4.7 × 10 ⁻⁵	1.3 × 10 ⁻⁷
	ofloxacin	0.39	2.0 × 10 ⁻⁶	< 1.4 × 10 ⁻⁸
	ciprofloxacin	0.78	6.2 × 10 ⁻⁶	5.6 × 10 ⁻⁸
	tosufloxacin	0.20	1.3 × 10 ⁻⁶	2.0 × 10 ⁻⁸
	lomefloxacin	1.56	4.3 × 10 ⁻⁷	< 2.5 × 10 ⁻⁹
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> No. 12	balofloxacin	0.78	< 1.8 × 10 ⁻⁸
norfloxacin		25	< 1.8 × 10 ⁻⁸	< 1.8 × 10 ⁻⁸
ofloxacin		6.25	< 1.8 × 10 ⁻⁸	< 1.8 × 10 ⁻⁸
ciprofloxacin		3.13	< 1.8 × 10 ⁻⁸	< 1.8 × 10 ⁻⁸
tosufloxacin		0.78	< 1.8 × 10 ⁻⁸	< 1.8 × 10 ⁻⁸
lomefloxacin		25	< 1.8 × 10 ⁻⁸	< 1.8 × 10 ⁻⁸
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	balofloxacin	0.20	2.6 × 10 ⁻⁷	5.3 × 10 ⁻⁹
	norfloxacin	0.10	< 5.3 × 10 ⁻⁹	< 5.3 × 10 ⁻⁹
	ofloxacin	0.10	< 5.3 × 10 ⁻⁹	< 5.3 × 10 ⁻⁹
	ciprofloxacin	0.025	< 5.3 × 10 ⁻⁹	< 5.3 × 10 ⁻⁹
	tosufloxacin	0.10	< 6.5 × 10 ⁻¹⁰	< 6.5 × 10 ⁻¹⁰
	lomefloxacin	0.10	4.7 × 10 ⁻⁸	< 6.5 × 10 ⁻¹⁰
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	balofloxacin	6.25	1.6 × 10 ⁻⁷
norfloxacin		1.56	4.7 × 10 ⁻⁷	4.2 × 10 ⁻⁸
ofloxacin		3.13	2.1 × 10 ⁻⁷	5.3 × 10 ⁻⁹
ciprofloxacin		0.39	5.3 × 10 ⁻⁸	< 5.3 × 10 ⁻⁹
tosufloxacin		0.78	2.4 × 10 ⁻⁷	1.6 × 10 ⁻⁹
lomefloxacin		1.56	5.4 × 10 ⁻⁸	5.1 × 10 ⁻⁸

BLFXの抗菌力は、MBCとMICが同等であることから、他剤同様、作用が殺菌的であることが期待され、増殖曲線に及ぼす影響において、いずれの薬剤も濃度依存的な殺菌作用を示したが、菌株によっては、一旦殺菌された後、24時間後には再増殖がみられた。これに対し、BLFXは2MIC以上の濃度ではいずれの菌株でも24時間後の再増殖は全く認められなかった。

BLFXに対する供試菌株の自然耐性菌は*S. aureus*で他剤同様 10^{-6} 程度に検出されたがその他の菌株では 10^{-7} ~ 10^{-8} 程度と耐性菌出現頻度は低かった。しかし、薬剤含

有培地中で継代培養を繰返した場合にはいずれの薬剤においてもMICが初代培養時の値から数倍に上昇し、このような条件下では比較的容易に耐性化が起こる可能性が示唆された。

近年、投与法の検討から薬剤投与後の細菌の再増殖に関する関心が高まっており¹⁰⁾、抗菌薬を細菌に短時間接触してその後薬剤が消失しても菌の再増殖抑制が残る作用としてPAEが定義されている¹¹⁾。臨床的には、抗菌薬がある菌に対してPAEを有していればMIC以上で接触し続けていなくても、抗菌薬を間欠的に投与するだけでも

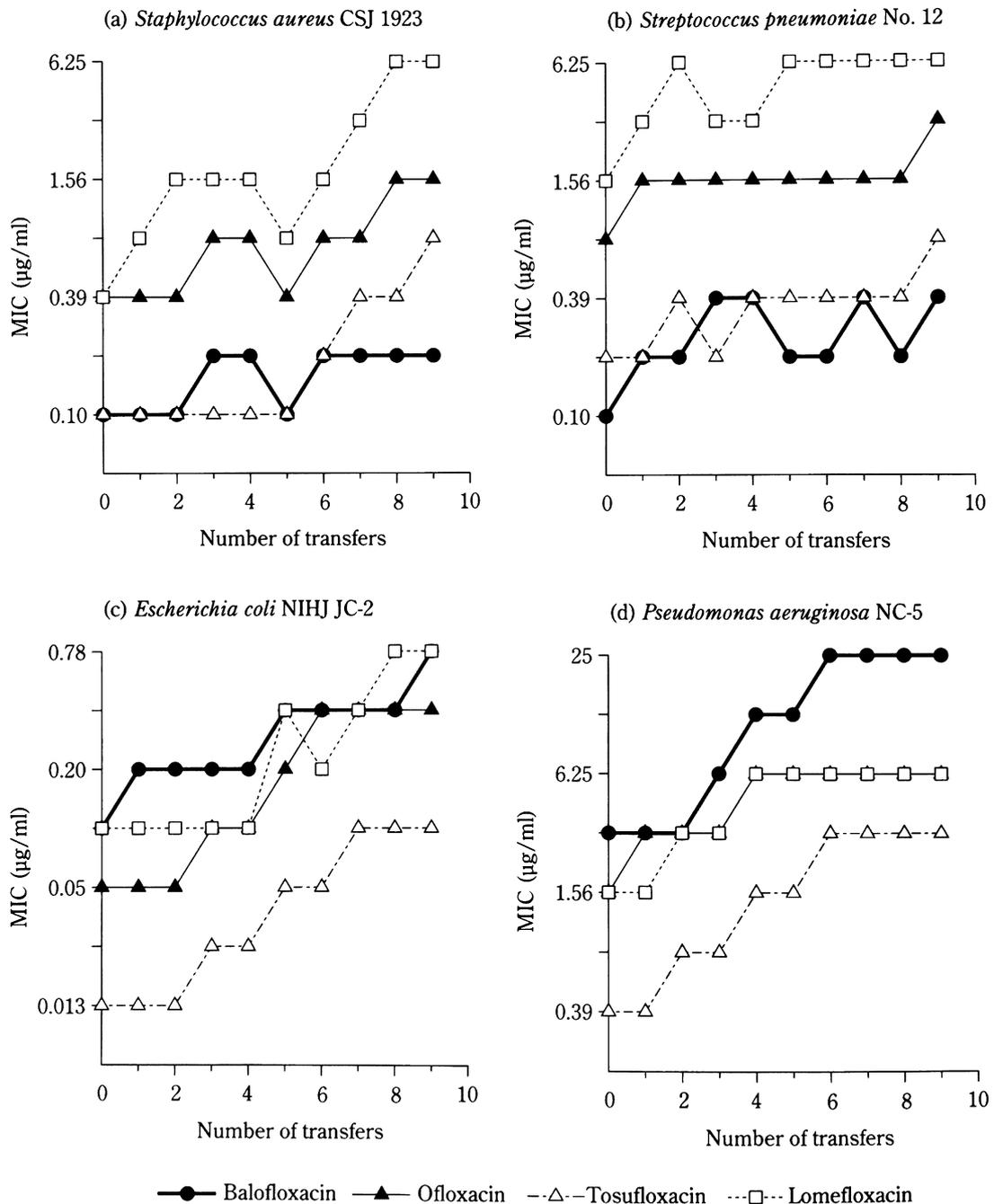


Fig. 5. Enhancement resistance against balofloxacin and reference quinolones.

効果が持続し、PAEを有する薬剤では投与間隔の延長が期待される。BLFXと短時間接触後の*E. coli*および*S. aureus*におけるPAEは、両菌株に認められ、BLFXは、特に*S. aureus*においてOFLXよりPAEが長く、グラム陽性菌により持続的に抗菌作用を示すことが示唆された。

以上BLFXの*in vitro*抗菌力を他剤と比較検討した結果、グラム陽性菌および*B. fragilis*に対して強い抗菌力を示すことがBLFXの特徴であり、殺菌的作用に加えて、PAEを有することから各種細菌感染症に対し優れた治療効果が期待される。また、他のキノロン薬に耐性の黄色ブドウ球菌に対してもある程度の抗菌力を示すことから、難治性のMRSA感染症に対しても有用性が期待される。

文 献

- 1) Ito T, Otsuki M, Nishino T: *In vitro* antibacterial activity of Q-35, a new fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 1708~1714, 1992
- 2) Matsumoto M, Kojima K, Nagano H, Matsubara S, Yokota T: Photostability and biological activity of fluoroquinolones substituted at the 8 position after UV irradiation. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 1715~1719, 1992
- 3) Marutani K, et al: Reduced phototoxicity of a fluoroquinolone antibacterial agent with a methoxy group at the 8 position in mice irradiated with long-wavelength UV light. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 2217~2223, 1993
- 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) 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
- 6) Stamm J M, Hanson C W, Chu D T W, Bailer R, Vojtko C, Fernandes P B: *In vitro* evaluation of A-56619 (difloxacin) and A-56620: new aryl-fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 193~200, 1986
- 7) Chin N-X, Novelli A, Neu H: *In vitro* activity of lomefloxacin (SC-47111; NY-198), a difluoroquinolone 3-carboxylic acid, compared with those of other quinolones. *Antimicrob agents Chemother* 32: 656~662, 1988
- 8) Chapman J S, Georgopapadakou N H: Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 438~442, 1988
- 9) Valisena S, Palumbo M, Parolin C, Palu G, Meloni A: Relevance of ionic effects on norfloxacin uptake by *Escherichia coli*. *Biochemical Pharmacology* 40: 431~436, 1990
- 10) 戸塚恭一, 清水喜八郎：抗菌薬のPAE。 *感染症* 19: 283~288, 1989
- 11) Craig W A, Gudmundsson S: The postantibiotic effect. In *Antibiotics in laboratory medicine* (Lorian V, ed), pp. 515~536, Baltimore: Williams and Wilkins, New York, 1985

In vitro antibacterial activity of balofloxacin

Kana Kojima, Tatsuya Ito, Kazuko Munemura, Akiko Kondo,
Masahiko Matsumoto and Hiroyuki Nagano

Fuji-Gotemba Research Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

1-135 Komakado Gotemba-shi, Shizuoka 412, Japan

Shuzo Matsubara

Clinical Research & Development Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

Balofloxacin (BLFX, Q-35) is a new oral quinolone in which the 7 position of the fluoroquinolone ring is replaced by a methylaminopiperidine group and its 8 position is modified with a methoxy group. BLFX was investigated for its *in vitro* antibacterial activities in comparison with ofloxacin (OFLX), norfloxacin (NFLX), ciprofloxacin (CPFX), tosufloxacin (TFLX) and lomefloxacin (LFLX). The MIC₉₀ of BLFX ranged from 0.05 to 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for clinically isolated methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), *S. epidermidis*, streptococci, enterococci, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Haemophilus influenzae*, *Xanthomonas maltophilia*, *Bacteroides fragilis*. Against methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), BLFX inhibited the growth of all strains tested at a concentration of 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and was superior to the reference quinolones. BLFX was not affected by several media, the addition of horse serum into the medium or inoculum size in the expression of antibacterial activity. The activity of BLFX was influenced by the pH of the medium and the addition of metal ion into the medium, as was that of the reference quinolones. The minimum bactericidal concentration (MBC) of BLFX against all of the strains tested was equal to the MIC. BLFX acted bactericidally on *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli* and *P. aeruginosa* at higher concentrations than the MIC for the respective bacteria. BLFX showed an excellent postantibiotic effect (PAE) against *S. aureus* and *E. coli*.