

Azithromycinに関する細菌学的検討

三橋 進・井上邦雄

エビゾーム研究所*

新規マクロライド系抗生物質azithromycin (AZM) の*in vitro*抗菌作用について, erythromycin (EM), oleandomycin (OL), clarithromycin (CAM), josamycin (JM) およびrokitamycin (RKM) と比較検討を行った。

AZMはグラム陽性菌に対して幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌力を示した。またAZMは*Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. および*Acinetobacter calcoaceticus*等のグラム陰性菌に対してEM, OL, CAM, JMおよびRKMよりも優れた抗菌活性を示した。更に*Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*および*Moraxella catarrhalis*に対する抗菌活性は際立って高かった。

*Staphylococcus aureus*および*H. influenzae*の増殖曲線に及ぼす影響について検討した。AZMは4MICの薬剤濃度で*S. aureus*および*H. influenzae*に対して殺菌的に作用した。

Key words : Azithromycin, マクロライド, 抗菌力, 殺菌作用

Azithromycin (AZM) はファイザー社が開発した酸に安定なazalide系マクロライド抗生物質である。その構造はFig. 1に示すとおり, erythromycin (EM) の14員環ラク톤にメチル置換窒素を導入した15員環を有している。本薬は, 組織内移行に優れ消失半減期が極めて長い為, 有効濃度が長時間維持されるという特徴を有する。

今回, AZMの細菌学的評価のひとつとして, 標準菌株および臨床分離株に対する*in vitro*抗菌活性および殺菌力について14員環マクロライド剤であるEM, oleandomycin (OL), clarithromycin (CAM) および16員環マクロライド剤であるjosamycin (JM), rokitamycin (RKM) と

比較検討したので報告する。

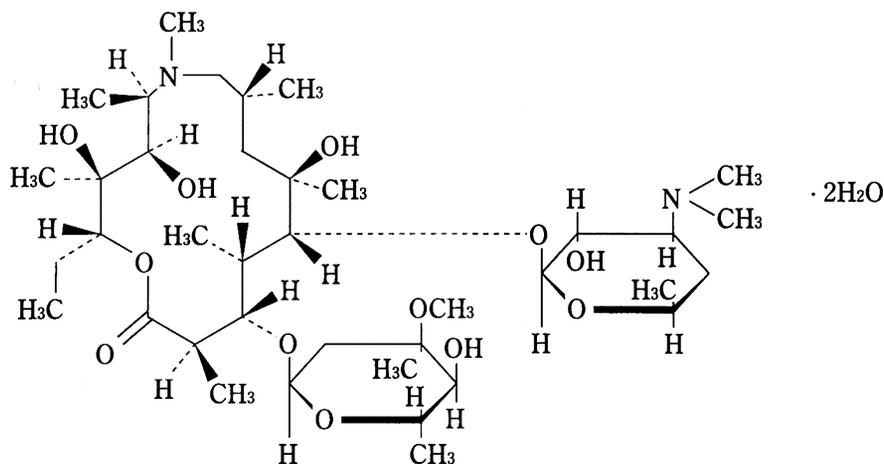
I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

AZMおよびOLはファイザー製薬, EMはアボット, CAMは大正製薬, JMは山之内製薬, RKMは旭化成工業からそれぞれ分与されたものを使用した。

2. 使用菌株

日本化学療法学会設定の標準菌株¹⁾および各種臨床分離株は当研究所保存株を用いた。臨床分離株は主として1985~1987年に日本各地の医療機関において分離されたものを使用した。なお, *Streptococcus pneumoniae*は



(-)-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*, 8*R*, 10*R*, 11*R*, 12*S*, 13*S*, 14*R*)-13-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribohexopyranosyl)oxy]-2-ethyl-3, 4, 10-trihydroxy-3, 5, 6, 8, 10, 12, 14-heptamethyl-11-[[3, 4, 6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xylohexopyranosyl]oxy]-1-oxa-6-azacyclopentadecan-15-one dihydrate

Fig. 1. Chemical structure of azithromycin.

1991年度に順天堂大学で分離されたものを用いた。

3. 試験管内抗菌力の測定

最小発育阻止濃度(MIC)の測定は、日本化学療法学会標準法²⁾に準拠した寒天平板希釈法により求めた。Table 1にその使用培地を示した。一夜、37°Cで静置培養した菌液を 2×10^6 CFU/mlになるようにBuffered Saline Gelatin (BSG)で希釈し、マイクロプランター(佐久間製作所)を用いて約5 μ l(10⁴CFU/spot)ずつ2倍希釈系列にした濃度の薬剤を含む寒天平板上にスポット接種した。平板を37°Cで18~24時間培養後、菌の発育の有無からMICを判定した。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

Staphylococcus aureus SmithはSensitivity test broth (STB), *Haemophilus influenzae* BI-45は*Haemophilus Test Medium* (HTM)でそれぞれ一夜培養した菌液を新鮮な同培地に接種し、37°Cで振盪培養した。菌数が10⁶CFU/ml付近に達した時にMIC前後の濃度の薬剤を加え振盪培養し、経時的に生菌数を測定した。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトル

AZMの抗菌スペクトルをEM, OL, JMおよびRKMを対照薬剤として比較検討し、その結果をTable 2に示した。

Table 1. Media used for preculture and MIC determination

Media	Organisms
For preculture	
BHIB	<i>Streptococcus pyogenes</i>
BHIB + 5% horse blood	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
BHIB + 5% Fildes enrichment (Difco)	<i>Haemophilus influenzae</i>
STB	other organisms
For MIC determination	
BHIA	<i>Streptococcus pyogenes</i>
SDA-N + 5% horse blood	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
SDA-N + 5% Fildes enrichment (Difco)	<i>Haemophilus influenzae</i>
SDA-N	other organisms

BHIB: brain heart infusion broth (Difco), STB: sensitivity test broth (Nissui),
BHIA: brain heart infusion agar (Difco), SDA-N: sensitivity disk agar-N (Nissui)

Table 2. Antibacterial activities of azithromycin and other antibiotics against standard strains of bacteria

Organism	MIC (μ g/ml)*				
	Azithromycin	Erythromycin	Oleandomycin	Josamycin	Rokitamycin
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P JC-1	0.10	0.10	0.78	0.20	0.10
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.39	0.10	1.56	0.78	0.20
<i>Staphylococcus aureus</i> MS 353	0.20	0.20	1.56	0.78	0.10
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.10	0.025	0.78	0.10	0.025
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.10	1.56	0.20	0.20
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.025	0.025	0.20	0.05	0.10
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	6.25	100	>100	>100	100
<i>Escherichia coli</i> K 12 C600	3.13	100	>100	>100	50
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	25	>100	>100	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	12.5	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	3.13	6.25	25	12.5	12.5
<i>Salmonella typhimurium</i> IID 971	6.25	100	>100	>100	>100
<i>Salmonella typhi</i> 901	3.13	100	>100	>100	100
<i>Salmonella paratyphi</i> 1015	1.56	50	>100	>100	50
<i>Salmonella schottmuelleri</i> 8006	12.5	100	>100	>100	>100
<i>Salmonella enteritidis</i> G 14	3.13	50	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IAM 1184	25	100	>100	>100	100
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	50	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	50	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> HX-19	50	>100	>100	>100	>100
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 3850	50	>100	>100	>100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	100	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO 1	>100	>100	>100	>100	>100

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

* MICs were determined with serial two-fold dilutions of the agents in sensitivity test agar.

グラム陽性菌に対しAZMは用いた対照薬剤と同様に広範な抗菌スペクトルと強い抗菌力を示した。一方、グラム陰性菌に対しAZMは従来のマクロライド系薬剤がほとんど無効であった*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*および*Salmonella* spp. に対し感受性ないし中等度付近のMIC値を示した。

2. 各種臨床分離株に対する試験管内抗菌力

AZMの19菌種(グラム陽性菌7菌種, グラム陰性菌12菌種), 20~105臨床分離株に対する試験管内抗菌力をEM, OL, CAM, JMおよびRKMのそれと比較検討した(Table 3, 4)。

1) グラム陽性菌

Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) 54株に対するAZMの抗菌力はMIC₅₀が0.39 μ g/mlを示し, この抗菌力の強さはJMより1管, OLより2管優れていたが, EMおよびRKMより1管劣った。

Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 27株に対してはAZMのMIC₅₀およびMIC₉₀ともに>100 μ g/mlで対照薬同様, 抗菌力は弱かった。

Staphylococcus epidermidis 105株に対するAZMのMIC₅₀は0.78 μ g/ml, MIC₉₀は>100 μ g/mlであり, 0.78 μ g/mlの濃度で試験菌株の約70%の株の発育を抑えた。残りの30%は試験したどの薬剤にも>100 μ g/mlの高度耐性株であった。

Streptococcus pyogenes 95株および*S. pneumoniae* 36株に対してAZMは優れた抗菌力を示し, 0.10 μ g/mlの濃度で約80%の試験菌株の発育を抑制した。その抗菌力の強さはEMと同等か1管程度劣ったが, RKMと同等, JMより1管, OLより4管優れていた。

Enterococcus faecalis 99株および*Enterococcus faecium* 81株に対するAZMのMIC₅₀はそれぞれ3.13 μ g/mlおよび25 μ g/mlであり, 対照薬より1~4管劣っていたが, MIC₉₀はどの薬剤も>100 μ g/mlを示した。

2) グラム陰性菌

E. coli 50株, *K. pneumoniae* 50株, *Klebsiella oxytoca* 54株および*Citrobacter freundii* 96株に対し, AZMは比較薬剤中最も強い抗菌力を示した。これら4菌種に対するAZMのMIC₅₀はそれぞれ12.5, 25, 25および25 μ g/mlで

Table 3. Antibacterial activities of azithromycin and other antibiotics against clinical isolates of gram-positive bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (54)	Azithromycin	0.39 ~ >100	0.39	6.25
	Erythromycin	0.20 ~ >100	0.20	3.13
	Oleandomycin	1.56 ~ >100	1.56	3.13
	Josamycin	0.39 ~ >100	0.78	0.78
	Rokitamycin	0.10 ~ >100	0.20	0.20
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (27)	Azithromycin	6.25 ~ >100	>100	>100
	Erythromycin	1.56 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	0.78 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	0.10 ~ >100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (105)	Azithromycin	0.39 ~ >100	0.78	>100
	Erythromycin	0.20 ~ >100	0.39	>100
	Josamycin	0.20 ~ >100	0.78	>100
	Rokitamycin	0.10 ~ >100	0.39	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> (95)	Azithromycin	0.05 ~ 0.10	0.05	0.10
	Erythromycin	0.025 ~ 0.10	0.025	0.05
	Josamycin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	Rokitamycin	0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (36)	Azithromycin	0.025 ~ 0.78	0.05	0.78
	Erythromycin	0.013 ~ 0.39	0.05	0.39
	Oleandomycin	0.20 ~ 6.25	0.78	6.25
	Josamycin	0.025 ~ 0.78	0.10	0.20
	Rokitamycin	0.025 ~ 0.10	0.05	0.10
<i>Enterococcus faecalis</i> (99)	Azithromycin	0.39 ~ >100	3.13	>100
	Erythromycin	0.10 ~ >100	0.78	>100
	Josamycin	0.39 ~ >100	1.56	>100
	Rokitamycin	0.20 ~ >100	0.78	>100
<i>Enterococcus faecium</i> (81)	Azithromycin	0.20 ~ >100	25	>100
	Erythromycin	0.05 ~ >100	6.25	>100
	Josamycin	0.39 ~ >100	6.25	>100
	Rokitamycin	0.20 ~ >100	1.56	>100

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

あり、25 μ g/mlの濃度で約70%の試験菌株の発育を阻止した。

Shigella spp. 54株および*Salmonella* spp. 53株に対するAZMのMIC₉₀はともに6.25 μ g/mlを示し、*Shigella* spp. では6.25 μ g/ml、*Salmonella* spp. では12.5 μ g/mlの濃度で100%の菌株の発育を抑えた。一方、対照薬剤(EM, JM, RKM)は両菌種の90%の株が>12.5 μ g/mlであった。

Yersinia enterocolitica 40株に対するAZMのMIC分布は一峯性を示し、12.5 μ g/mlの濃度で100%の株の発育を阻止した。一方、対照薬剤(EM, OL, JM, RKM)は12.5 μ g/mlの濃度で10%未満の株しか抑えられなかった。

Stenotrophomonas maltophilia 49株に対するAZMのMIC₅₀は25 μ g/ml、MIC₉₀は50 μ g/mlであり、対照薬剤と同様その抗菌力は弱かった。

Acinetobacter calcoaceticus 35株に対するAZMのMIC₅₀

は3.13 μ g/ml、MIC₉₀は12.5 μ g/mlであり、用いた試験菌株35株中33株(94%)が12.5 μ g/mlの濃度でその発育が抑えられたのに対し、EMおよびCAMでは12株(30%)、RKMでは1株(2%)、JMでは0株(0%)であった。

H. influenzae 49株に対しAZMは使用した4薬剤中最も優れた抗菌力を示した。AZMのMIC分布は0.20~3.13 μ g/ml、MIC₉₀は3.13 μ g/mlであり、3.13 μ g/mlの濃度で100%の菌株の発育を抑えた。一方、対照薬剤のMIC₉₀は12.5~50 μ g/mlであり、3.13 μ g/mlの濃度では30%以下の株しか抑えられなかった。

Neisseria gonorrhoeae 35株に対するAZMのMIC₉₀は0.78 μ g/mlを示し、EM(3.13 μ g/ml)、RKM(3.13 μ g/ml)およびJM(6.25 μ g/ml)に比べ2~3管強い抗菌力を示した。

Moraxella catarrhalis 20株に対してAZMのMIC₉₀は

Table 4-1. Antibacterial activities of azithromycin and other antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i> (50)	Azithromycin	6.25 ~ >100	12.5	25
	Erythromycin	25 ~ >100	>100	>100
	Oleandomycin	>100	>100	>100
	Josamycin	>100	>100	>100
	Rokitamycin	50 ~ >100	100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (50)	Azithromycin	6.25 ~ 100	25	50
	Erythromycin	50 ~ >100	>100	>100
	Oleandomycin	>100	>100	>100
	Josamycin	>100	>100	>100
	Rokitamycin	100 ~ >100	>100	>100
<i>Klebsiella oxytoca</i> (54)	Azithromycin	6.25 ~ 25	25	25
	Erythromycin	50 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	>100	>100	>100
	Rokitamycin	100 ~ >100	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i> (96)	Azithromycin	12.5 ~ >100	25	50
	Erythromycin	100 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	>100	>100	>100
	Rokitamycin	100 ~ >100	>100	>100
<i>Shigella</i> spp. (54)	Azithromycin	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
	Erythromycin	12.5 ~ 100	25	100
	Josamycin	50 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	12.5 ~ 100	50	50
<i>Salmonella</i> spp. (53)	Azithromycin	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25
	Erythromycin	12.5 ~ 100	50	100
	Josamycin	>100	>100	>100
	Rokitamycin	25 ~ >100	>100	>100
<i>Yersinia enterocolitica</i> (40)	Azithromycin	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25
	Erythromycin	12.5 ~ 100	25	50
	Oleandomycin	>100	>100	>100
	Josamycin	50 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	12.5 ~ >100	100	100
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (49)	Azithromycin	3.13 ~ 50	25	50
	Erythromycin	25 ~ >100	50	100
	Oleandomycin	100 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	25 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	25 ~ 100	50	100

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

0.05 μ g/mlを示し、EMおよびRKMより3管、JMより5管、OLより8管優れた抗菌力を示した。また、AZMは全株を0.10 μ g/mlで抑えた。

3. 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus Smithおよび*H. influenzae* BI-45に対するAZMの増殖曲線に及ぼす影響をCAMおよびEMと比較検討を行った。

S. aureus Smithに対してAZMは4MICの濃度で、CAMおよびEMは2MIC以上の濃度で2~4時間目まで生菌数の減少が僅かに認められ、その後24時間目まで生菌数の変動が余り無く静菌的作用を示した(Fig. 2)。

H. influenzae BI-45に対してAZMおよびEMは4MICの濃度で6時間目まで生菌数の著しい減少が認められ、強い殺菌作用を示した。その後24時間後においてAZMでは僅かに菌の増殖が、EMでは減少が認められた。一方、CAMでは4MICの濃度でも生菌数の減少は認められなかった(Fig. 3)。

III. 考 察

15員環のazalide系マクロライドであるAZMはグラム陽性菌に対して優れた抗菌活性を示し、その抗菌力はEMに比べ1管程度劣っていたが、RKMとほぼ同等で、JMおよびOLよりは上回る成績であった。MRSAに対し

Table 4-2. Antibacterial activities of azithromycin and other antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)*		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (35)	Azithromycin	1.56 ~ >100	3.13	12.5
	Erythromycin	12.5 ~ >100	25	50
	Clarithromycin	12.5 ~ >100	25	50
	Josamycin	50 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	12.5 ~ 100	50	100
<i>Haemophilus influenzae</i> (49)	Azithromycin	0.20 ~ 3.13	1.56	3.13
	Erythromycin	0.78 ~ 12.5	6.25	12.5
	Josamycin	3.13 ~ 100	25	50
	Rokitamycin	1.56 ~ 25	6.25	12.5
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (35)	Azithromycin	0.05 ~ 1.56	0.39	0.78
	Erythromycin	0.20 ~ 6.25	1.56	3.13
	Josamycin	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
	Rokitamycin	0.20 ~ 12.5	0.78	3.13
<i>Moraxella catarrhalis</i> (20)	Azithromycin	0.025 ~ 0.10	0.05	0.05
	Erythromycin	0.10 ~ 0.78	0.20	0.39
	Oleandomycin	1.56 ~ 12.5	6.25	6.25
	Josamycin	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
	Rokitamycin	0.05 ~ 0.39	0.20	0.39

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

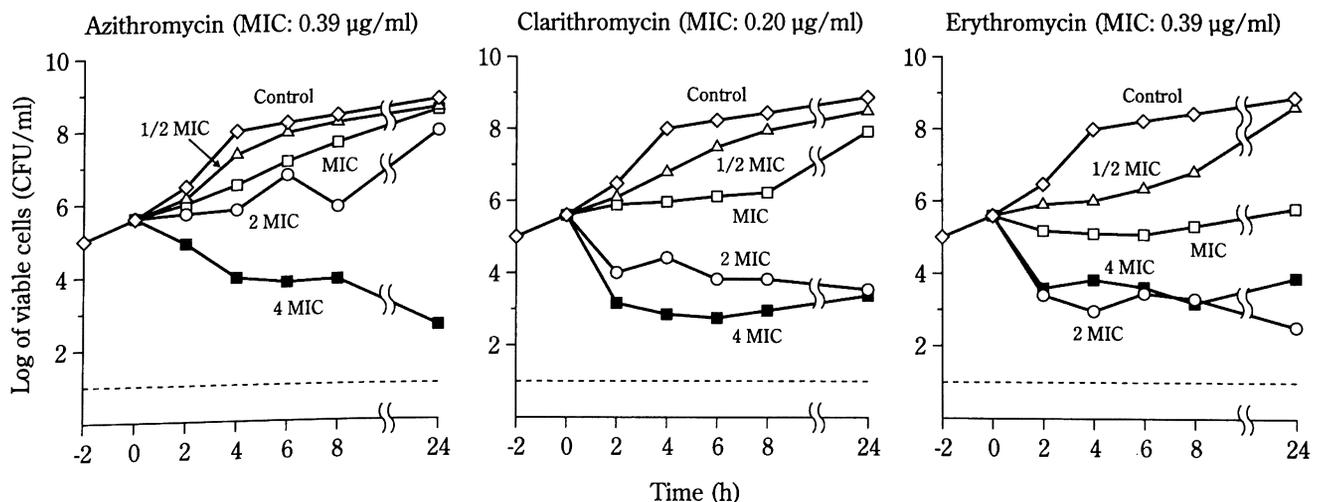


Fig. 2. Bactericidal activity of azithromycin against *Staphylococcus aureus* Smith.

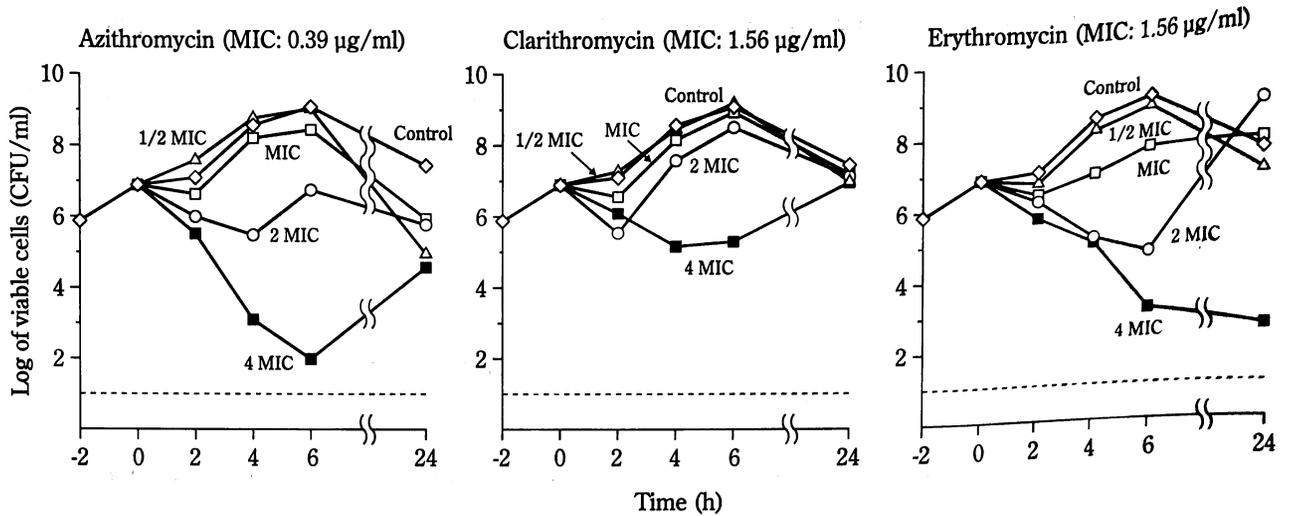


Fig. 3. Bactericidal activity of azithromycin against *Haemophilus influenzae* BI-45.

ては他のマクロライド同様抗菌活性は弱かった。一方、AZMがグラム陰性菌に対し従来のマクロライドに比べ強い抗菌活性を示す点は本薬の特徴のひとつと考えられる。*H. influenzae*に対して $3.13\mu\text{g/ml}$ で、*N. gonorrhoeae*に対して $1.56\mu\text{g/ml}$ で全株の発育を抑え、EMより2管程度優れた抗菌力を示した。また、*M. catarrhalis*に対しては全株 $0.10\mu\text{g/ml}$ で抑え、臨床効果の期待できる抗菌活性を示した。

増殖曲線に及ぼす影響では、*S. aureus* Smithに対してAZMは4MIC濃度との接触では他のマクロライド同様静菌的な作用が認められた。また、呼吸器感染症の起因菌である*H. influenzae* BI-45に対してはAZMは4MIC濃度との接触で菌数減少傾向であり、殺菌的な作用が認められ

た。AZMの殺菌効果には菌種による違いがあると推察される。

更に本薬は、食細胞内および組織内への移行も優れているほか血中濃度半減期が長いという特徴があり、臨床においては従来のマクロライド剤より短時間、少量の投与で効果の期待できる薬剤であると考えられる。

文 献

- 1) 三橋 進, 井上松久: MIC測定用標準菌株。Chemotherapy 27: 561, 1979
- 2) 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

In vitro antibacterial activity of azithromycin,
a new macrolide antibiotic

Susumu Mitsuhashi and Kunio Inoue

Episome Institute

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

The *in vitro* activity of azithromycin (AZM), a new macrolide, was compared with those of erythromycin (EM), oleandomycin (OL), clarithromycin (CAM), josamycin (JM) and rokitamycin (RKM).

AZM possessed broad antibacterial spectra together with potent activity against gram-positive bacteria. AZM demonstrated superior potency against gram-negative bacteria such as *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. and *Acinetobacter calcoaceticus* in comparison with EM, OL, CAM, JM and RKM. AZM also showed a high activity against *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Moraxella catarrhalis*.

In a killing-kinetics experiment, AZM at four times its MIC demonstrated the bactericidal effect against *Staphylococcus aureus* and *H. influenzae*.