

マクロライド系抗菌薬Azithromycinの嫌気性菌と *Ureaplasma*に対する抗菌力

加藤直樹・加藤はる・田中香お里・渡辺邦友・上野一恵
岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設*

多田晃司・河田幸道
岐阜大学医学部泌尿器科学教室

マクロライド系抗菌薬azithromycin (AZM)の嫌気性菌, 一部の通性嫌気性菌および*Ureaplasma urealyticum*に対する抗菌力を検討した。参考菌株を用いた検討ではAZMのスペクトラムは嫌気性グラム陽性菌からグラム陰性菌まで幅広く, 多くの菌種に対してMICは3.13 μ g/mlであった。しかし, clarithromycin (CAM)やerythromycin (EM)とほぼ同様に, *Peptostreptococcus* spp. や*Bacteroides fragilis* groupの一部には抗菌力がやや弱かった。臨床分離株を用いた検討ではAZMは*Peptostreptococcus* spp. に対してEMと同等かやや劣る成績であった。グラム陽性桿菌に対してもほぼ同様の傾向であったが, *Mobiluncus* spp. には強い抗菌力が認められた。*B. fragilis* groupに対して抗菌力はやや弱かったが, *Prevotella bivia*および*Prevotella intermedia*に対してはcefaclorとampicillinに優る抗菌力を示した。AZMはCAMやEMと同様に, 培地pHが7から6に下がることにより, MICは4倍以上高くなった。一方, *B. fragilis*と*Escherichia coli*の混合感染によるマウス腹腔内感染治療実験ではAZMはCAMとほぼ同等の効果を示した。AZMは*U. urealyticum*に対してCAMよりは劣るものの, minocyclineとほぼ同等で, EMよりやや優れた抗菌力を示した。以上の結果から, 本薬は嫌気性菌感染症および*Ureaplasma*感染症に対しEMに優る治療効果を発揮する可能性が示唆された。

Key words : azithromycin, 嫌気性菌, *Bacteroides fragilis*, *Ureaplasma urealyticum*, マクロライド

Azithromycin (AZM)はerythromycin (EM)の14員環ラク톤にメチル置換窒素を導入することにより新規に創製された15員環マクロライド系抗菌薬である。AZMは2つのアミン塩基を持つことからマクロライド系でもアザライド系に属し, 弱アルカリ性を示す¹⁾。本薬は上記の化学構造的特性からもたらされる優れた組織内移行と長い血中濃度半減期を大きな特徴とする²⁾。

AZMはEMと比較し, 好気性グラム陰性菌に抗菌力が³⁾増強されたと報告されているが³⁾, 広範囲の嫌気性菌に対する*in vitro*抗菌力の検討は少ない。著者らは嫌気性菌全般に対するAZMの抗菌力を知る目的で, 嫌気性菌の参考菌株および臨床分離株に対するAZMのMICを他の抗菌薬と比較検討するとともに, マウス腹腔内感染モデル⁴⁾を用いて本薬の*in vivo*効果を検討した。また, 非淋菌性尿道炎⁵⁾のみでなく新生児における肺炎や髄膜炎あるいは低体重出産の原因菌^{6,7)}として注目されている*Ureaplasma urealyticum*に対する本抗菌薬の抗菌力も併せて検討した。

I. 材料と方法

1. 使用薬剤

抗菌薬はすべて力価の明らかなものを用いた。使用薬剤はAZM(ファイザー製薬)の他に, clarithromycin (CAM, 大正製薬), EM (Sigma), ampicillin (ABPC, 明治製薬)およびcefaclor (CCL, 塩野義製薬)を比較薬剤として使用した。なお, *U. urealyticum*に対する抗菌力測定に際しては, 対照薬としてCAM, EMに加え, minocycline (MINO, 日本レダリー)も使用した。

2. 使用菌株

参考菌株は当施設保有の嫌気性菌および通性嫌気性菌の中, グラム陽性菌として37菌株, グラム陰性菌として29菌株を使用した。新鮮臨床分離株は1987年以降に分離された嫌気性菌360株および通性嫌気性菌の*Gardnerella vaginalis* 20株を用いた。*U. urealyticum*は1986年~1993年に臨床材料から分離された15株を用いた。

3. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定方法

MICの測定は原則として日本化学療法学会の推奨する

方法⁸⁾に準じて行った。ただし、菌株の前培養は Brucella HK RS blood agar (極東製薬) を用いて行い、接種菌液は Anaerobe broth MIC (Difco) を使用して調整した。接種菌量は 10^6 CFU/ml とした。MIC の測定用培地は *G. vaginalis* では 5% ヒツジ血液および 1% proteose peptone No. 3 (Difco) 添加 Columbia agar (Oxoid), その他の菌種では 5% ヒツジ溶血血液加 Brucella HK 寒天培地 (極東製薬) を用いたが、*Clostridium* spp. では寒天濃度を 3% にして使用した。

培養は嫌気チャンバー (ヒラサワ) 内で N_2 82%, CO_2 10%, H_2 8% の環境下で 37°C, 48 時間行った。ただし、*Porphyromonas gingivalis* と *Mobiluncus* spp. では培養を 3 日間行った。

4. 接種菌量および培地 pH の MIC に及ぼす影響

5% ヒツジ溶血血液加 Brucella HK 寒天培地と参考菌株 8 株を用いて 10^6 , 10^7 および 10^8 CFU/ml 接種時の MIC を測定した。同様に、 10^6 CFU/ml 接種時の培地 pH (pH 5, 6, 7) の MIC に及ぼす影響を検討した。pH の調整は 5N HCl を用いて行った。

5. マウス腹腔内感染治療実験

先の報告に準じてマウス腹腔内感染の治療実験を行った⁹⁾。ただし、マウスは ICR 系, 雄, 6~7 週齢 (体重約 20g) を 1 群 8 匹使用した。また、使用菌株は *Bacteroides fragilis* NCTC 10581 と膿由来臨床分離株 *Staphylococcus aureus* GAI 93111 で、両菌株を同時にマウス当たりそれぞれ 8×10^7 CFU と 2.5×10^5 CFU 接種した。薬剤は AZM と CAM を用い、菌接種直後より 100mg/kg の量を 1 日 2 回、4 日間経口投与した。経口投与に際し、両薬剤は 0.5% carboxymethyl cellulose に懸濁後、使用した。なお、AZM と CAM の *B. fragilis* NCTC 10581 に対する MIC はそれぞれ $6.25 \mu\text{g/ml}$ と $1.56 \mu\text{g/ml}$ で、*S. aureus* GAI 93111 に対してはそれぞれ $0.78 \mu\text{g/ml}$ と $0.39 \mu\text{g/ml}$ であった。

6. *U. urealyticum* に対する抗菌力

先の報告に準じて T-broth とマイクロプレートを用いた尿素代謝阻止試験法により MIC の測定を行った¹⁰⁾。接種菌量は $10^2 \sim 10^3$ CFU/well とし、判定は菌接種後 3 日目に行った。

7. 統計処理

マウス腹腔内感染治療実験における腹腔内膿瘍重量の各治療群間比較は Mann-Whitney's U test (StatView 4.0) を用いて検討した。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトラム

嫌気性菌の参考菌株に対する AZM のスペクトラムはグラム陽性菌 (Table 1) からグラム陰性菌 (Table 2) まで幅広く、多くの菌種に対して MIC は $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。しかし、比較薬として用いた CAM や EM とほぼ同様に、*Peptostreptococcus* spp. や *B. fragilis* group の一部に

は抗菌力がやや弱かった。

ABPC との比較では嫌気性グラム陽性球菌や桿菌に対しては AZM はやや劣るが、*Lactobacillus* spp. に対してはやや優る成績であった。また、嫌気性グラム陰性菌に対しては AZM の方が全般的にやや劣っていた。

CCL との比較では、グラム陽性菌に対しては *Peptostreptococcus* を除き AZM の方が優っていた。グラム陰性菌に対しては *Bacteroides* spp. とごく一部の菌種を除き、CCL の方が優っていた。

β -lactamase 高度産生 *B. fragilis* で各種 β -lactam 薬に耐性を示す菌株に対する MIC は Table 3 に示した。Cefoperazone に高度耐性を示す GAI 0558 株と ABPC に高度耐性を示す GAI 10150 株は CAM や EM に対するのと同様に AZM に対してとくに耐性化傾向を示さなかったが、cefoxitin 高度耐性の GAI 7955 株と IPM 高度耐性の GAI 30144 株は CAM と EM には比較的感受性であるのに対し、AZM には高度耐性を示した。

2. 新鮮臨床分離株に対する抗菌力

成績は Table 4 に示した。

AZM は *Peptostreptococcus* spp. に対しては EM と同等かやや劣り、その他の比較薬剤よりも劣る成績であった。グラム陽性桿菌に対してもほぼ同様の傾向であったが、*Mobiluncus* spp. には優れた、強い抗菌力が認められた。*B. fragilis* group に対しては 50% の株を発育阻止する AZM の薬剤濃度 (MIC_{50}) は $50 \mu\text{g/ml}$ 以上と高く、抗菌力は弱かった。また、imipenem 耐性 *B. fragilis* group には比較薬剤と同様に抗菌力はほとんど認められなかった。*Prevotella bivia* および *Prevotella intermedia* に対する 90% の株を発育阻止する薬剤濃度 (MIC_{90}) は比較薬剤である CCL と ABPC に優る抗菌力を示した。*Prevotella gingivalis* に対する AZM の MIC_{90} は $0.78 \mu\text{g/ml}$ と低値であったが、比較薬剤よりは劣る成績であった。

3. 接種菌量および pH による MIC の変動

AZM は接種菌量の増量により、検討したほとんどの株に対し 2 倍から 8 倍の MIC の増加を示した (Table 5)。CAM と EM においても同様の成績であった。しかし、ABPC と CCL では *Bilophila wadsworthia* に対する 10^8 CFU/ml 接種時の MIC が 10^6 CFU/ml 接種時の MIC と比べ 32 倍以上の上昇が見られた。

培地 pH の AZM の抗菌力に対する影響は検討したすべての株で認められ、pH が 7 から 6 に下がることにより、MIC はすべての株で 4 倍以上高くなった (Table 6)。しかし、pH を 5 に下げることにより *B. fragilis* と *Bacteroides thetaiotaomicron* では依然として MIC が高値であったが、*Peptostreptococcus magnus*, *Veillonella parvula*, *Prevotella oralis* などでは MIC が逆に低下した。同様な現象は EM でも認められたが、CAM では検討したすべての菌種で MIC の低下が見られた。

4. マウス腹腔内感染治療実験

AZMは腹腔内膿瘍形成率から見るとCAMよりわずかに優れた効果を示したが、形成された膿瘍重量はCAM治療群の方が有意($p < 0.05$)に低かった(Table 7)。AZM治療群と薬剤を投与しなかったコントロール群との比較ではAZM治療群の方が膿瘍重量が低かったが、有意の差ではなかった(Table 7)。

形成された腹腔内膿瘍中の菌数は菌種別にTable 8に示した。AZM治療群では膿瘍5個中3個からのみ菌が検出され、その内、*S. aureus*は3個すべてから、*B. fragilis*は2個からのみ検出された。CAM治療群では膿瘍6個中2個からのみ菌が検出され、2個とも*S. aureus*と*B. fragilis*を含んでいた。

5. *U. urealyticum*に対する抗菌力

AZMは*U. urealyticum*に対してCAMよりは劣るものの、

MINOとほぼ同等でEMよりやや優れた抗菌力を示した(Table 9)。なお、Tableには示していないが、*U. urealyticum* ATCC 27618に対するAZM, CAM, EMおよびMINOのMICはそれぞれ0.25, ≤ 0.03 , 0.5, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

III. 考 察

今回の広範囲な嫌気性菌菌種を用いた検討においてAZMは嫌気性菌全般に対してEMとほぼ同等の強い*in vitro*抗菌力を示した。同様な結果はBarryら¹¹⁾やSpanglerら¹²⁾によっても報告されており、方法の違いなどにより得られたMIC値に違いがみられるものの、AZMの嫌気性菌に対する*in vitro*抗菌力はEMとほぼ同じであると思われる。

マクロライド系抗菌薬の抗菌力は培地のpHにより非常に影響を受けやすいことは今までに多く報告されてい

Table 1. Antibacterial activity of azithromycin and other agents against gram-positive anaerobic bacteria and facultative anaerobic bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	Azithromycin	Clarithromycin	Erythromycin	Ampicillin	Cefaclor
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	1.56	0.10	0.20	0.20	0.78
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> WAL 3218	>200	>200	>200	0.20	3.13
<i>Peptostreptococcus indolicus</i> GAI 0915	>200	200	>200	≤ 0.025	0.20
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 29328	6.25	3.13	6.25	0.39	6.25
<i>Peptostreptococcus micros</i> VPI 5464-1	1.56	0.78	1.56	0.05	1.56
<i>Peptostreptococcus prevotii</i> ATCC 9321	1.56	0.78	1.56	0.10	0.39
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953	1.56	0.39	0.39	≤ 0.025	0.05
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	0.39	0.05	0.10	0.39	3.13
<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC 27335	0.78	0.10	0.20	0.39	6.25
<i>Streptococcus parvulus</i> VPI 0546	0.39	≤ 0.025	0.10	0.78	0.78
<i>Gemella morbillorum</i> ATCC 27824	0.78	0.10	0.20	≤ 0.025	0.78
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11828	0.05	≤ 0.025	0.10	0.39	1.56
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC 25564	0.05	≤ 0.025	0.05	≤ 0.025	0.39
<i>Eubacterium lentum</i> ATCC 25559	0.78	≤ 0.025	0.20	3.13	25
<i>Mobiluncus mulieris</i> ATCC 35240	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.78
<i>Mobiluncus mulieris</i> ATCC 35243	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05	1.56
<i>Mobiluncus curtisii</i> subsp. <i>curtisii</i> ATCC 35241	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05	0.10	3.13
<i>Mobiluncus curtisii</i> subsp. <i>holmesii</i> ATCC 35242	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05	0.10	3.13
<i>Clostridium clostridioforme</i> NCTC 11224	0.10	0.10	0.10	0.39	50
<i>Clostridium difficile</i> GAI 10029	>200	200	100	0.78	12.5
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	1.56	0.78	1.56	≤ 0.025	0.10
<i>Clostridium ramosum</i> ATCC 25582	0.78	0.78	1.56	0.10	25
<i>Clostridium septicum</i> ATCC 12464	1.56	0.20	0.78	≤ 0.025	0.10
<i>Clostridium sordellii</i> ATCC 9714	1.56	0.10	0.20	0.05	1.56
<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM 1255	0.05	≤ 0.025	0.05	0.05	1.56
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> JCM 1275	0.20	0.05	0.10	0.39	1.56
<i>Bifidobacterium breve</i> JCM 1192	0.10	≤ 0.025	0.10	0.05	0.20
<i>Bifidobacterium longum</i> JCM 1217	0.39	≤ 0.025	0.20	0.39	0.78
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> JCM 1205	0.20	≤ 0.025	0.10	0.39	0.39
<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM 1132 ^a	0.10	≤ 0.025	0.10	0.78	25
<i>Lactobacillus brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM 1059 ^a	0.20	≤ 0.025	0.10	12.5	100
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134 ^a	0.39	0.20	0.20	3.13	50
<i>Lactobacillus fermentum</i> JCM 1173 ^a	0.20	0.10	0.20	0.78	50
<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149 ^a	1.56	0.20	0.39	1.56	25
<i>Lactobacillus reuteri</i> JCM 1112 ^a	0.39	0.20	0.20	1.56	200
<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM 1231 ^a	0.78	0.20	0.39	1.56	100
<i>Gardnerella vaginalis</i> NCTC 10915 ^a	0.20	0.05	0.10	0.05	1.56
<i>Gardnerella vaginalis</i> NCTC 10287 ^a	0.20	0.05	0.10	0.05	1.56

^a Facultative anaerobic bacteria.

る¹¹⁻¹³⁾。すなわち、培地pHが中性より低くなるとMIC値が高くなり、マクロライド系抗菌薬の抗菌力が弱くなる。同様の成績は今回の検討でも得られた。今回の検討で興味深いことは、pHが5とさらに低くなると*P. magnus*な

どでは*B. fragilis*などとは異なり逆にAZMやEMのMICが低くなり、CAMではすべての使用菌株でMICの低下が見られたことである。今回得られた極めて低いpHでの優れた抗菌力の臨床的意味は明らかではないが、膿瘍の中

Table 2. Antibacterial activity of azithromycin and other agents against gram-negative anaerobic bacteria and facultative anaerobic bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	Azithromycin	Clarithromycin	Erythromycin	Ampicillin	Cefaclor
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI 5562	12.5	1.56	3.13	25	200
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	6.25	0.78	3.13	25	200
<i>Bacteroides fragilis</i> NCTC 10581	6.25	1.56	6.25	25	100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	1.56	0.20	0.78	1.56	6.25
<i>Bacteroides distasonis</i> ATCC 8503	1.56	0.20	0.78	1.56	6.25
<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC 8483	25	6.25	12.5	50	>200
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	25	6.25	12.5	25	100
<i>Bacteroides uniformis</i> ATCC 8492	6.25	1.56	3.13	3.13	12.5
<i>Bacteroides eggerthii</i> ATCC 27754	>200	3.13	12.5	0.20	0.78
<i>Bacteroides gracilis</i> GAI 10428	0.78	6.25	3.13	3.13	0.78
<i>Bacteroides ureolyticus</i> NCTC 10941	0.39	1.56	0.78	≤ 0.025	0.39
<i>Prevotella bivia</i> ATCC 29303	3.13	0.39	3.13	50	25
<i>Prevotella buccae</i> ATCC 33574	3.13	0.39	3.13	0.20	1.56
<i>Prevotella corporis</i> GAI 91000	0.39	0.05	0.20	0.39	0.78
<i>Prevotella heparinolytica</i> ATCC 35895	0.39	0.10	0.20	0.20	0.78
<i>Prevotella intermedia</i> ATCC 25611	0.78	0.10	0.20	0.10	0.39
<i>Prevotella melaninogenica</i> GAI 5490	0.78	0.39	0.78	0.10	0.39
<i>Prevotella oralis</i> ATCC 33269	1.56	0.39	1.56	0.10	0.39
<i>Prevotella oris</i> ATCC 33573	0.78	0.10	0.39	0.20	0.39
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC 25260	0.39	0.05	0.10	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	1.56	0.10	0.39	0.05	0.10
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	3.13	50	50	0.05	1.56
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 8501	100	>200	>200	1.56	50
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ATCC 25286	0.78	12.5	12.5	0.10	3.13
<i>Bilophila wadsworthia</i> WAL 7959	3.13	6.25	3.13	25	6.25
<i>Desulfomonas pigra</i> DSM 749	0.39	0.78	1.56	25	100
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	12.5	12.5	25	0.10	0.10
<i>Veillonella disper</i> ATCC 17748	0.78	3.13	1.56	0.20	0.10
<i>Capnocytophaga ochracea</i> GAI 5586 ^a	1.56	≤ 0.025	0.39	0.39	1.56

^a Facultative anaerobic bacteria.

Table 3. Activity of azithromycin and other agents against β -lactamase-highly-producing *Bacteroides fragilis* strains

Organism	Character of organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
		Azithromycin	Clarithromycin	Erythromycin	Ampicillin	Cefaclor
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	CXase ^a type I producer, cephalosporin-resistant (MIC of cefoperazon, >200 $\mu\text{g/ml}$)	50	3.13	25	>200	>200
<i>B. fragilis</i> GAI 7955	CXase type I producer, cefoxitin-resistant (MIC, 100 $\mu\text{g/ml}$)	>200	6.25	50	>200	>200
<i>B. fragilis</i> GAI 10150	CXase type I producer, ampicillin-resistant (MIC, 1600 $\mu\text{g/ml}$)	25	1.56	12.5	>200	>200
<i>B. fragilis</i> GAI 30079	CXase type II producer, imipenem-resistant (MIC, 50 $\mu\text{g/ml}$)	>200	>200	>200	>200	>200
<i>B. fragilis</i> GAI 30144	CXase type II producer, (MIC, 100 $\mu\text{g/ml}$)	>200	6.25	50	>200	>200

^a Cefuroximase.

にはpHが6以下のものも存在することから¹⁴⁾, そのような例では治療上意味を持つかもしれない。

一方, 嫌気性菌のMICを測定する場合には一般的に10%CO₂存在下で嫌気培養を行うが, CO₂は培地pHを低下させ, マクロライド系抗菌薬のMIC値を高くする¹¹⁻¹³⁾。これに対し, Oxyrase (Oxyrase Inc., U.S.A.) と言う酵素を用いてCO₂の無い環境で嫌気培養を行うと培地pHは低下せず, したがってマクロライド系抗菌薬のMICは高くない^{12,15)}。Retsemaら⁹⁾は嫌気性菌用のWilkins-Chalgren brothを用いた実験で, GasPak Plus system培養で

は培地pHが6.4~6.9であったのに対し, Oxyrase system培養ではpHが7.1~7.4になり, 嫌気性菌に対するAZMのMICは2~64倍大きく低下したと報告している。また, 膿瘍においてドレナージやdebridementが通常の治療では行われるので, その後の感染巣のpHは正常の組織や体液に近いものとなると思われ, 抗菌薬が働く環境のpHは7.2付近になるであろうと推論している。マクロライド系抗菌薬のように培地pHの影響を受けやすい抗菌薬のMICを測定する場合, いずれの方法が臨床的により意味があるかは, 動物実験や臨床検討の成績を見る必要

Table 4-1. *In vitro* activity of azithromycin and other agents against clinical isolates of anaerobic bacteria

Organism	Agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>P. anaerobius</i> (20)	Azithromycin	0.39 ~ >200	0.78	1.56
	Clarithromycin	0.05 ~ >200	0.05	0.20
	Erythromycin	0.10 ~ >200	0.20	0.39
	Ampicillin	0.10 ~ 12.5	0.20	0.39
	Cefaclor	0.20 ~ 25	0.39	0.39
<i>P. asaccharolyticus</i> (27)	Azithromycin	1.56 ~ >200	3.13	>200
	Clarithromycin	0.78 ~ >200	1.56	>200
	Erythromycin	1.56 ~ >200	6.25	>200
	Ampicillin	≤ 0.025 ~ 0.10	≤ 0.025	0.10
	Cefaclor	0.05 ~ 3.13	0.10	0.78
<i>P. magnus</i> (38)	Azithromycin	3.13 ~ >200	6.25	>200
	Clarithromycin	1.56 ~ >200	3.13	>200
	Erythromycin	3.13 ~ >200	6.25	>200
	Ampicillin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
	Cefaclor	0.10 ~ 3.13	0.78	3.13
<i>Mobiluncus</i> spp. (18)	Azithromycin	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	0.05
	Clarithromycin	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	≤ 0.025
	Erythromycin	≤ 0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
	Ampicillin	≤ 0.025 ~ 0.20	0.10	0.20
	Cefaclor	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>G. vaginalis</i> (20)	Azithromycin	≤ 0.025 ~ 0.20	0.20	0.20
	Clarithromycin	≤ 0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
	Erythromycin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	Ampicillin	0.05 ~ 1.56	0.20	0.20
	Cefaclor	1.56 ~ 50	3.13	6.25
<i>C. difficile</i> (26)	Azithromycin	6.25 ~ >200	12.5	>200
	Clarithromycin	1.56 ~ >200	200	>200
	Erythromycin	1.56 ~ >200	>200	>200
	Ampicillin	0.78 ~ 3.13	1.56	1.56
	Cefaclor	25 ~ 100	50	50
<i>C. perfringens</i> (15)	Azithromycin	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
	Clarithromycin	0.39 ~ 1.56	0.78	0.78
	Erythromycin	1.56 ~ 3.13	1.56	1.56
	Ampicillin	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	Cefaclor	≤ 0.025 ~ 0.10	0.05	0.10
<i>B. fragilis</i> (66)	Azithromycin	6.25 ~ >200	50	>200
	Clarithromycin	0.78 ~ >200	3.13	>200
	Erythromycin	3.13 ~ >200	25	>200
	Ampicillin	0.78 ~ >200	25	>200
	Cefaclor		200	>200

がある。

AZMの接種菌量によるMICの変動は際だったものではなく、多くの抗菌薬で見られる範囲のものと思われた。

Retsemaら³⁾は好気性菌とmicrobroth dilution法を用いた検討で、接種菌量によるMICの変動はほとんど認められなかったと報告している。我々の結果との相違は検討菌種や

Table 4-2. *In vitro* activity of azithromycin and other agents against clinical isolates of anaerobic bacteria

Organism	Agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>B. thetaiotaomicron</i> (45)	Azithromycin	6.25 ~ >200	100	>200
	Clarithromycin	0.78 ~ >200	12.5	>200
	Erythromycin	3.13 ~ >200	25	>200
	Ampicillin	12.5 ~ >200	25	>200
	Cefaclor	50 ~ >200	200	>200
Other <i>B. fragilis</i> group organisms (14)	Azithromycin	6.25 ~ >200	100	>200
	Clarithromycin	0.39 ~ >200	6.25	>200
	Erythromycin	3.13 ~ >200	25	>200
	Ampicillin	6.25 ~ >200	12.5	>200
	Cefaclor	0.78 ~ >200	25	>200
Imipenem-resistant <i>B. fragilis</i> group organisms (20)	Azithromycin	25 ~ >200	>200	>200
	Clarithromycin	0.78 ~ >200	>200	>200
	Erythromycin	6.25 ~ >200	>200	>200
	Ampicillin	>200	>200	>200
	Cefaclor	50 ~ >200	>200	>200
<i>P. bivia</i> (25)	Azithromycin	0.78 ~ 25	3.13	12.5
	Clarithromycin	$\leq 0.025 \sim 1.56$	0.39	0.78
	Erythromycin	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
	Ampicillin	6.25 ~ 200	6.25	100
	Cefaclor	0.39 ~ >200	12.5	200
<i>P. intermedia</i> (22)	Azithromycin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.39
	Clarithromycin	$\leq 0.025 \sim 0.10$	0.05	0.10
	Erythromycin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
	Ampicillin	0.05 ~ 50	0.10	1.56
	Cefaclor	0.10 ~ 100	0.39	6.25
<i>P. gingivalis</i> (20)	Azithromycin	$\leq 0.025 \sim 0.78$	0.39	0.78
	Clarithromycin	$\leq 0.025 \sim 0.10$	0.05	0.10
	Erythromycin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
	Ampicillin	$\leq 0.025 \sim 0.10$	0.05	0.10
	Cefaclor	0.05 ~ 0.78	0.39	0.39

Table 5. Effect of inoculum size on the *in vitro* activity of azithromycin and other agents against anaerobes

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	Azithromycin			Clarithromycin			Erythromycin			Ampicillin			Cefaclor		
	10 ^{8a}	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	50	12.5	6.25	25	6.25	3.13	25	12.5	6.25	0.78	0.20	0.20	25	12.5	6.25
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	25	12.5	12.5	25	12.5	12.5	25	25	25	0.78	0.39	0.10	0.20	0.10	0.10
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	50	25	25	3.13	3.13	3.13	25	12.5	6.25	25	25	25	200	200	100
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	25	12.5	12.5	3.13	1.56	1.56	12.5	6.25	6.25	50	25	25	200	100	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	50	50	50	12.5	12.5	6.25	12.5	12.5	12.5	25	25	25	200	100	100
<i>P. oralis</i> ATCC 33269	12.5	6.25	3.13	0.78	0.39	0.39	6.25	6.25	3.13	0.10	0.10	0.10	0.39	0.39	0.20
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	6.25	6.25	3.13	100	100	100	100	100	100	0.78	0.10	0.10	3.13	1.56	1.56
<i>B. wadsworthia</i> WAL 7959	12.5	12.5	6.25	25	12.5	12.5	25	25	12.5	>200	25	6.25	>200	100	6.25

^a Inoculum size, CFU/ml.

方法の違いによることが示唆されるが、その理由は明らかではない。

AZMは血中濃度が低いにもかかわらず、食細胞内や組織内濃度が極めて高値となることが報告されている^{21,6)}。このことは*in vivo*における抗菌効果が*in vitro*から推測される効果より良くなる可能性が示唆される。今回のマウス腹腔内感染治療実験ではAZMの使用菌株に対するMICがCAMより2倍から4倍高いにもかかわらず、膿瘍形成率と膿瘍内菌数はCAMと同等の効果を示し、本薬の*in vivo*抗菌効果の良さを証明した。

以上の結果より、*in vitro*抗菌力からはAZMはEMとほぼ同等の抗菌力であったが、優れた*in vivo*効果を考え合

わせると、本薬は嫌気性菌感染症に対しEMに優る治療効果を発揮する可能性が示唆された。

Table 9. *In vitro* activity of azithromycin and other agents against 15 clinical isolates of *Ureaplasma urealyticum*

Agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Range	50%	90%
Azithromycin	0.125~0.25	0.25	0.25
Clarithromycin	$\leq 0.03\sim 0.06$	≤ 0.03	0.06
Erythromycin	0.25~0.5	0.5	0.5
Minocycline	0.125~0.5	0.125	0.25

Table 6. Effect of medium pH on the *in vitro* activity of azithromycin and other agents against anaerobes

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	Azithromycin			Clarithromycin			Erythromycin			Ampicillin			Cefaclor		
	pH 5 ^{a)}	pH 6	pH 7	pH 5	pH 6	pH 7	pH 5	pH 6	pH 7	pH 5	pH 6	pH 7	pH 5	pH 6	pH 7
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	≤ 0.025	12.5	1.56	≤ 0.025	3.13	1.56	≤ 0.025	6.25	3.13	≤ 0.025	0.39	0.20	≤ 0.025	1.56	6.25
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	≤ 0.025	25	6.25	≤ 0.025	6.25	12.5	≤ 0.025	25	12.5	≤ 0.025	0.10	0.20	≤ 0.025	≤ 0.025	0.10
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	50	100	6.25	0.78	6.25	1.56	100	100	6.25	3.13	25	25	6.25	200	>200
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	100	50	6.25	0.78	6.25	1.56	100	50	6.25	3.13	12.5	12.5	3.13	50	200
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	50	100	12.5	0.78	12.5	6.25	100	25	6.25	12.5	>200	25	0.39	100	200
<i>P. oralis</i> ATCC 33269	≤ 0.025	6.25	0.78	≤ 0.025	0.20	0.39	≤ 0.025	3.13	0.39	≤ 0.025	0.10	0.10	≤ 0.025	3.13	0.10
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	≤ 0.025	6.25	3.13	≤ 0.025	50	50	≤ 0.025	100	50	≤ 0.025	0.05	0.10	≤ 0.025	3.13	1.56
<i>B. wadsworthia</i> WAL 7959	≤ 0.025	6.25	1.56	≤ 0.025	12.5	6.25	≤ 0.025	25	6.25	≤ 0.025	6.25	6.25	≤ 0.025	1.56	12.5

^a pH of the medium used for susceptibility testing.

Table 7. *In vitro* effect of 4-day treatment with azithromycin and clarithromycin on mouse mortality and intraabdominal abscess formation caused by mixed infection with *B. fragilis* NCTC 10581 and *S. aureus* GAI 93111

Treatment ^a	Abscess formation rate (%)	Abscess weight (mg)	Mean abscess weight (mg \pm S.D.)
Azithromycin	5/8 (63%)	17.6, 14.5, 13.2, 6.8, 4.8	11.4 \pm 5.4
Clarithromycin	6/8 (75%)	8.7, 7.1, 3.4, 3.2, 2.7, 1.6	4.5 \pm 2.8
Control	8/8 (100%)	28.8, 25.7, 20.4, 19.8, 16.9, 11.1, 8.6, 8.2	17.4 \pm 7.7

^a A dose of 100 mg/kg, twice a day was given for four days to eight mice (ICR strain) for each treatment group.

Table 8. *In vitro* effect of 4-day treatment with azithromycin and clarithromycin on viable cells in mouse intraabdominal abscess caused by mixed infection with *B. fragilis* NCTC 10581 and *S. aureus* GAI 93111

Treatment ^a	No. of abscess tested	No. of viable cells in abscess ^b						
		not detected	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
Azithromycin	5	2	0/2 ^c		1/0	2/0		
Clarithromycin	6	4	0/1		1/0	1/0	0/1	
Control	8	0					2/4	6/4

^a A dose of 100 mg/kg, twice a day was given for four days to eight mice (ICR strain) for each treatment group.

^b Viable cells were counted 7 days postinfection.

^c *S. aureus*/*B. fragilis*

*U. urealyticum*に関しては本菌に対するAZMの抗菌力はEMよりやや優れMINOに匹敵することから、*U. urealyticum*感染症に対しては少なくともEMに優る治療効果は期待できるものと思われる。

文 献

- 1) Bright M G, Nagel A A, Bordner J, Desai K A, Dibrino J N, Nowakowska J, Vincent L, Watrous R M, Sciavolino F C: Synthesis and *in vitro* and *in vivo* activity of novel 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin A derivatives; a new class of macrolide antibiotics, the azalides. *J Antibiot* 41: 1029~1047, 1988
- 2) Girard A E, Girard D, English A R, Gootz T D, Cimochoowski C R, Faiella J A, Haskell S L, Retsema J A: Pharmacokinetic and *in vivo* studies with azithromycin (CP-62, 993), a new macrolide with an extended half-life and excellent tissue distribution. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 1948 ~ 1954, 1987
- 3) Retsema J, Girard A, Schelkly W, Manousos M, Anderson M, Bright G, Borovoy R, Brennan L, Mason R: Spectrum and mode of action of azithromycin (CP-62, 993). a new 15-membered-ring macrolide with improved potency against Gram-negative organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 1939~1947, 1987
- 4) 田中保知, 渡辺邦友, 島倉康彦, 坂東香お里, 武藤吉徳, 加藤直樹, 上野一恵: 化学療法剤評価法としての実験的マウス腹腔内膿瘍モデルの検討. *Chemotherapy* 40: 1224~1230, 1992
- 5) Taylor-Robinson D: The role of mycoplasmas in nongonococcal urethritis: a review. *Yale Biol Med* 54: 537~543, 1983
- 6) Embree J E, Krause V W, Embil J A, MacDonald S: Placental infection with *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*: clinical correlation. *Obstet Gynecol* 56: 475~481, 1980
- 7) Naessens A, Foulon W, Volckaert M, Amy J J, Lauwers S: Cervical and placental colonization with *Ureaplasma urealyticum* and fetal outcome. *J Infect Dis* 148: 333, 1983
- 8) 嫌気性菌MIC測定検討委員会(委員長 小酒井望): 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法. *Chemotherapy* 23: 559~560, 1979
- 9) 渡辺邦友, 田中保知, 加藤直樹, 田中香お里, 加藤はる, 上野一恵: Tazobactam/piperacillinの嫌気性菌に対する*in vitro*および*in vivo*抗菌力およびマウス盲腸内細菌叢への影響. *Chemotherapy* 42(S-2): 62~72, 1994
- 10) 加藤直樹: 非淋菌性尿道炎における *Ureaplasma urealyticum*と *Clostridium difficile*の病原的意義. *感染症誌* 59: 687~700, 1985
- 11) Barry A L, Jones R N, Thomsberry C: *In vitro* activities of azithromycin (CP 62, 993), clarithromycin (A-56268; TE-031), erythromycin, roxithromycin, and clindamycin. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 752~754, 1988
- 12) Spangler S K, Jacobs M R, Appelbaum P C: Effect of CO₂ on susceptibilities of anaerobes to erythromycin, azithromycin, clarithromycin, and roxithromycin. *Antimicrob Agents Chemother* 38: 211~216, 1994
- 13) Hasen S L, Swomley P, Drusano G: Effect of carbon dioxide and pH on susceptibility of *Bacteroides fragilis* group to erythromycin. *Antimicrob Agents Chemother* 19: 335~336, 1981
- 14) Bryant R E: Effect of the suppurative environment on antibiotic activity. In *New dimensions in antimicrobial therapy* (Root R K and Sande M A eds), p. 313 ~ 337, Churchill Livingstone, New York, 1984
- 15) Spangler S K, Appelbaum P C: Oxyrase, a method which avoids CO₂ in the incubation atmosphere for anaerobic susceptibility testing of antibiotics affected by CO₂. *J Clin Microbiol* 31: 460~462, 1993
- 16) Gladue R P, Bright G M, Isaacson R E, Newborg M F: *In vitro* and *in vivo* uptake of azithromycin (CP-62, 993) by phagocytic cells: Possible mechanism of delivery and release at sites of infection. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 277~282, 1989

The *in vitro* and *in vivo* activity of azithromycin, a new macrolide, against anaerobic bacteria and ureaplasmas

Naoki Kato, Haru Kato, Kaori Tanaka, Kunitomo Watanabe and Kazue Ueno

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine,

40 Tukasa-machi, Gifu 500, Japan

Kouji Tada and Yukimichi Kawada

Department of Urology, Gifu University School of Medicine,

40 Tukasa-machi, Gifu 500, Japan

The *in vitro* activity of azithromycin (AZM), a new macrolide, was compared with those of erythromycin (EM), clarithromycin (CAM), ampicillin (ABPC), and cefaclor against anaerobic bacteria and a fastidious facultative anaerobe, *Gardnerella vaginalis*. Against *Ureaplasma urealyticum*, AZM, EM, CAM, and minocycline (MINO) were involved for susceptibility testing. AZM had broad spectrum against gram-positive and gram-negative reference strains of anaerobes, inhibiting many anaerobic bacterial strains at 3.13 $\mu\text{g/ml}$ or less. AZM was as active as or less active than EM against clinical isolates of *Peptostreptococcus* spp. and gram-positive rods. AZM was very potent against *Mobiluncus* spp. Although AZM had weak activity against the *Bacteroides fragilis* group, this compound had very strong activity against *Prevotella bivia* and *Prevotella intermedia*, the activity which was more than those of cefaclor and ampicillin. The influence of inoculum size upon antimicrobial activity was seen in AZM as well as EM and CAM. The activity of AZM was effected by medium pH; lowering pH from 7 to 6 rendered MIC 4 time or more higher. In a mouse model of intraabdominal infection with *B. fragilis* and *Escherichia coli*, AZM was as active as CAM. AZM was less active than CAM, comparable to MINO, and more active than EM against *U. urealyticum*. These results suggest that AZM is more effective than EM on anaerobic infections and ureaplasma infections.