

Azithromycinの*in vitro*および*in vivo*抗菌力

西野武志・香本晃良・大槻雅子

京都薬科大学微生物学教室*

新規マクロライド系抗生物質azithromycin (AZM) の*in vitro*および*in vivo*抗菌作用について、erythromycin (EM), clarithromycin (CAM), josamycin (JM), rokitamycin (RKM), amoxicillin, cefaclor (CCL), cefixime (CFIX) および一部の試験ではofloxacin (OFLX) を比較薬として検討を行った。

AZMはグラム陽性菌およびグラム陰性菌の*Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. ならびに*Acinetobacter calcoaceticus*に対して良好な抗菌活性を有していた。また、AZMは、*Staphylococcus aureus*, および*Staphylococcus epidermidis*に対しては静菌作用を示し、*Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*および*H. influenzae*に対して濃度依存的な殺菌作用を示した。形態学的変化について走査型および透過型電子顕微鏡で観察したところ、AZMは*S. aureus*に対し細胞壁の肥厚を、*E. coli*, *K. pneumoniae*および*H. influenzae*に対しては伸長化を引き起こすことが判った。実験的マウス感染モデルに対する治療効果について検討した結果、*S. aureus*, *S. pneumoniae*および*Streptococcus pyogenes*に対してAZMは、EM, JMおよびRKMより優れた効果を示した。また、CAMのそれと比較すると、*S. aureus*に対してはほぼ同等の効果を示したが、*S. pneumoniae*および*S. pyogenes*に対しては約3倍の優れた効果を示した。実験的皮下膿瘍に対する治療効果は、CAMと同等でCCLより若干勝っており、EMおよびOFLXより明らかに優れていた。

Key words : azithromycin, *in vitro*抗菌力, *in vivo*抗菌力, 殺菌作用, 形態変化

Azithromycin (AZM) は米国ファイザー社において開発された、15員環の経口用マクロライド系抗生物質である。本薬はerythromycin (EM) 14員環ラク톤にメチル置換窒素を導入したアザライド^{1,2)}、化学名を9-deoxy-9a-aza-9a-methyl-9a-homoerythromycin A dihydrateといい、分子式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 2H_2O$ 、分子量785.03で白色～淡黄白色の結晶性の粉末である。AZMは組織移行性に優れ³⁾、各臓器、組織内濃度は血清中濃度より高い。さらに食細胞への移行性に優れ^{4,5)}、ヒト多核白血球内における細胞外との濃度比は200倍以上であり、それはEMの約10倍である⁴⁾。また、海外で既に発売されており優れた臨床成績を示している⁵⁾。

今回、我々はAZMの*in vitro*および*in vivo*抗菌力について、EM, clarithromycin (CAM), josamycin (JM), rokitamycin (RKM), amoxicillin (AMPC), cefaclor (CCL), cefixime (CFIX) および一部の試験ではofloxacin (OFLX) を比較薬として検討したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

標準株として教室保存の好気性グラム陽性菌20株、好気性グラム陰性菌35株を用いた。また、臨床分離株

として1985年から1991年に分離されたメチシリン (DMPPC) 感受性*Staphylococcus aureus* 42株、DMPPC耐性*S. aureus* (DMPPCに対するMICが $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の株) (MRSA) 39株、DMPPC感受性*Staphylococcus epidermidis* 35株、DMPPC耐性*S. epidermidis* (MRSE) 23株、*Streptococcus pyogenes* 34株、*Streptococcus pneumoniae* 34株、*Enterococcus faecalis* 30株、*Enterococcus faecium* 28株、*Enterococcus avium* 26株、*Escherichia coli* 49株、*Klebsiella pneumoniae* 40株、*Citrobacter freundii* 34株、*Acinetobacter calcoaceticus* 30株、*Haemophilus influenzae* 29株、*Moraxella catarrhalis* 23株および*Neisseria gonorrhoeae* 24株を使用した。

2. 使用薬剤

AZM (ファイザー製薬)、EM (塩野義製薬)、CAM (大正製薬)、JM (山之内製薬)、RKM (旭化成工業)、AMPC (明治製薬)、CCL (塩野義製薬)、CFIX (藤沢薬品工業) およびOFLX (第一製薬) のいずれも力価の明らかな原末を用いた。

3. 感受性測定法

感受性測定は日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁶⁾ に準じて実施し、前培養にはtrypto-soya

*〒607 京都市山科区御陵中内町5

broth (TSB, ニッスイ), MIC測定にはheart infusion agar (HIA, ニッスイ)を使用した。なお *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. および *Corynebacterium diphtheriae* には, 10% 馬脱線維血液 (DHB, 日本バイオテスト研究所) 加HIAを, *M. catarrhalis* には5% DHB加チョコレート寒天培地をMIC測定に用いた。*H. influenzae* では, 5% Fildes enrichment (Difco) 加TSBおよびHIAを前培養および測定に用い, 37°C, 18時間培養を行った。*Neisseria* spp. の場合, 前培養およびMIC測定ともに5% DHB加チョコレート寒天培地を用い, 37°C, 48時間ロウソク培養を行った。また, マクロライド剤はメタノールに, β -lactam 剤は滅菌水に, OFLXは0.1N NaOHに溶解し0.1N HClでpH7.0になるように調整し, 適宜使用濃度まで滅菌水で希釈した。なおメタノールは最終濃度が3%以下となるように調製した。

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, 培地のpH, 馬血清添加および接種菌量の影響について, *S. aureus* 209-P JC, *S. aureus* Smith, *S. epidermidis* ATCC 14990, *E. faecalis* IFO 12968および*Micrococcus luteus* ATCC 10240を被検菌として検討した。培地による影響は, sensitivity test agar (STA: 栄研), HIA, brain heart infusion agar (BHIA: Difco), Mueller-Hinton agar (MHA: Difco), trypto-soya agar (TSA: ニッスイ) および nutrient agar (NA: ニッスイ) を用いて測定した。培地pHによる影響は, pH6.0, 7.0, 8.0および9.0のHIAを用い, また血清添加による影響は, 非働化馬血清 (大阪大学微生物研究所) をHIAに10, 25および50%添加してMICを測定した。接種菌量の影響については, 約 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 および 10^8 CFU/mlの菌を接種した時のMICを測定した。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

TSBで37°C, 18時間培養した*S. aureus* 209-P JC, *S. epidermidis* ATCC 14990, *S. pneumoniae* Type III, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* ATCC 29665 および *H. influenzae* ATCC 10211の各菌液をheart infusion broth (HIB, ニッスイ)に0.1~1%接種し, 37°Cで振盪培養を行った。ただし, *S. pneumoniae* Type IIIについては10%非働化馬血清加TSBおよびHIBを前培養および測定に, *H. influenzae* ATCC 10211については5% Fildes enrichment加TSBおよびHIBを前培養および測定に用いた。その2~4時間後の対数増殖中期の菌液に所定濃度の薬剤を添加し, 37°Cで振盪培養を行い, グラム陽性菌では0, 2, 4, 6および8時間後, グラム陰性菌では0, 1, 2および4時間後の生菌数を測定した。生菌数は適宜希釈した菌液を寒天平板上に塗布することにより求めた。なおマクロライド剤はメタノールに溶解し適宜使用濃度まで滅菌水で希釈したが, メタノールの最終濃度が1%以下となるように調製した。そのため, 本実験において検討可能な薬剤最高

濃度はCAM, RKMにおいて $12.5\mu\text{g/ml}$ となった。

6. 形態変化像の観察

1) 走査型電子顕微鏡による形態観察

TSBで37°C, 18時間培養した*S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* ATCC 29665 および *H. influenzae* ATCC 10211の各菌液をHIBに0.1~1%接種し, 37°Cで振盪培養を行った。ただし, *H. influenzae* ATCC 10211については5% Fildes enrichment加TSBおよびHIBを前培養および測定に用いた。2~4時間後の対数増殖中期の菌液に所定濃度のAZMを作用させ, 所定時間後に菌液を採取し, 1.5% glutaraldehydeで前固定した。4°C, 6000rpmで20分遠心分離後, Kellenberger緩衝液で洗浄し1% osmium acidにより本固定を行った。次にエタノール系列で脱水して酢酸イソアミルと置換し, 臨界点乾燥した後, 白金パラジウムを蒸着して走査型電子顕微鏡JSM-35 (JEOL)にて観察した。

2) 透過型電子顕微鏡による形態観察

1)において固定した被検菌の一部を, 2%寒天に懸濁し, 寒天ブロックを作成後, 2%酢酸ウラニル緩衝液でブロック染色を行った。次にエタノール系列で脱水し, Luftらの方法⁷⁾に準じてエポキシ樹脂に包埋した。これをultramicrotome 480IA (LKB)を用いて超薄切片を作成し, 酢酸ウラニル飽和溶液, クエン酸鉛溶液を用いて二重染色⁸⁾を行った後, 透過型電子顕微鏡JEM1200EX (JEOL)で観察した。

7. マウス腹腔内感染モデルに対する治療効果

S. aureus Smithはnutrient broth (NB)で37°C, 18時間培養後同培地で希釈し, gastric mucin (Difco)と等量混合した。なお, gastric mucinは最終濃度3%となるように調製した。*S. pneumoniae* Type IIIおよび*S. pyogenes* C-203は, 10%非働化馬血清添加NBで37°C, 18時間培養したものをNBで希釈して接種菌液とした。このように調製した菌液をそれぞれ1群10匹のddY系, 4週齢, 雄マウス (体重 $20\pm 1\text{g}$)の腹腔内に0.5ml接種することにより感染を惹起した。所定濃度に調製した各薬剤を菌接種2時間後に1回0.2mlを経口投与した。その後7日間の生死の観察を行い, Litchfield-Wilcoxon法により50% effective dose (ED₅₀)を算出した。なお, 薬剤は0.5% sodium carboxymethyl cellulose (ナカライ) 溶液 (0.5% CMC)に懸濁することにより調製した。

8. マウス実験的皮下膿瘍に対する治療効果

使用菌株として, *S. aureus* 0238を用い, HIAで18時間培養した菌株を生理食塩水に懸濁し感染菌液とした。この0.2mlを1群5匹のddY系, 4週齢, 雄マウス (体重 $20\pm 1\text{g}$)背部皮下に接種 (3.7×10^7 CFU/mouse)し, 感染後直ちに3.13, 6.25, 12.5および25mg/kgの各薬剤を経口投与した。感染48時間後にマウスを屠殺して背部皮膚を静かに剝し, 膿瘍の長径と短径を測定した。長径と短

径の和の1/2を膿瘍径とした。なお、薬剤調製は7項と同様に行った。また、AZM投与時の膿瘍径と同投与量の対照薬の膿瘍径の間で有意確率を0.05および0.01としたDunnet's testによる有意差検定を行った。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトル

教室保存のグラム陽性菌およびグラム陰性菌標準株に対する抗菌力について検討した結果をTable 1~4に示す。

AZMのグラム陽性菌に対するMICは $\leq 0.006 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ でその抗菌力は、CAM, AMPCに少し劣るもののEMと同等で、JM, RKM, CCL, CFIXより強かった。グラム陰性菌に対しては、CFIXには劣るもののEM, CAM, JM, RKMより優れていた。また、*Salmonella* spp., *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*および*Providencia rettgeri*を除きAMPC, CCLよりも強かった。既存のマクロライドがほとんど抗菌力をもたなかった腸内細菌に対しても、AZMは抗菌力を示した。*A. calcoaceticus*に対するAZMの抗菌力は、どの対照薬よりも優れていた。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対するAZMおよび対照薬のMIC range, MIC₅₀およびMIC₉₀をTable 5に示す。

*S. aureus*に対するAZMのMIC rangeは $0.025 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ と広く、MIC₅₀は $0.10 \mu\text{g/ml}$ でCAM, EMと同等で、JM, RKM, AMPC, CCL, CFIXより強かった。また、MRSAに対するAZMのMIC₅₀は $>100 \mu\text{g/ml}$ で、他の対照薬と同様に抗菌力を示さなかった。*S. epidermidis*およびMRSEに対するAZMのMICは $0.025 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に分布し、MIC₅₀は $0.20 \mu\text{g/ml}$ でEMと同等であった。*S. pyogenes*および*S. pneumoniae*に対するAZMのMIC rangeは $0.013 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ 、MIC₅₀は $0.10 \mu\text{g/ml}$ 以下で、EM, CAMより若干劣っていた。*E. faecalis*に対するAZMのMIC₅₀は $>100 \mu\text{g/ml}$ で、比較薬剤中最も抗菌力が弱かった。*E. faecium*および*E. avium*に対するAZMのMIC rangeは $0.05 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ で、EM, CAMより若干劣っていた。また、全てのグラム陽性菌の一部にAZMの耐性株が存在したため、EMおよびCAMと同様MIC₉₀は全て $>100 \mu\text{g/ml}$ となった。

*E. coli*に対するAZMのMICは $0.78 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ の狭い範囲に分布した。また対照薬のMIC₉₀が全て $100 \mu\text{g/ml}$ 以上であったのに比べ、AZMのMIC₉₀は $3.13 \mu\text{g/ml}$ でそれらの1/32以下の非常に小さな値であった。*K. pneumoniae*および*C. freundii*に対するAZMのMIC rangeは $1.56 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ で、そのMIC₉₀は $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった。*K. pneumoniae*に対し、CCL, CFIXに劣っていたが、EM, CAM, JM, RKM, AMPCより優れた抗菌力を示した。*A. calcoaceticus*に対するAZMのMICは $0.05 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ に分布し、そのMIC₉₀は $3.13 \mu\text{g/ml}$ で対照薬よりも4~64倍

強く、最も優れていた。*H. influenzae*に対するAZMのMIC rangeは $0.10 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ であった。MIC₅₀, MIC₉₀はそれぞれ0.39, $0.78 \mu\text{g/ml}$ で、他のマクロライド剤より2~32倍強く、CFIXには劣るもののAMPC, CCLとほぼ同等であった。*M. catarrhalis*および*N. gonorrhoeae*に対するAZMのMICは $0.20 \mu\text{g/ml}$ 以下に分布し、*N. gonorrhoeae*に対してCFIXより1管劣っているものの、EM, CAM, JM, RKM, AMPC, CCLより優れた抗菌力を示した。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす諸因子の影響について検討した結果の一部をTable 6に示す。

培地pHの影響では、AZMはCAMと同様にアルカリ側で抗菌力が良好となり、酸性側で抗菌力の低下を認めたが、RKMではpHによる大きな変化は認められなかった。馬血清添加による影響では、AZMはCAMと同様の傾向を示し、血清存在下において、抗菌力が良好となった。接種菌量の影響では、AZMは比較薬と同様に接種菌量の減少に伴い、若干抗菌力が良好となった。なお、Tableには示さなかったが、AZMの抗菌力は培地の種類によって影響をほとんど受けなかった。

4. 殺菌作用

殺菌作用について検討した結果をFig. 1~4に示す。

AZMはCAMと同様に*S. aureus* 209-P JC, *S. epidermidis* ATCC 14990に対して、8 MICで静菌的に作用した。また、RKMの1 MICで静菌的に作用したのに比べ、AZM, CAMの1 MICでは増殖を若干抑える程度であった。AZMは*S. pneumoniae* Type IIIに対し、1 MICで静菌的に働き8 MICで若干殺菌的に作用した。AZMは*E. coli* K-12に対して、CAM, RKMが静菌的な作用を示す1/8の濃度である $1.56 \mu\text{g/ml}$ で殺菌的に作用した。*K. pneumoniae* ATCC 29665に対してCAM, RKMを $12.5 \mu\text{g/ml}$ 作用させてもcontrolと同様の増殖を示したのに比べ、AZMは $12.5 \mu\text{g/ml}$ でその増殖を阻止した。*H. influenzae* ATCC 10211に対してはCAM, RKMが $6.25 \mu\text{g/ml}$ で静菌的にしか作用しなかったのに比べ、AZMは $1.56 \mu\text{g/ml}$ で殺菌的に作用した。

5. 形態学的変化像の観察

S. aureus 209-P JCにAZM $1.56 \mu\text{g/ml}$ (8 MIC)を6時間作用させた時の走査型電子顕微鏡(SEM)像および透過型電子顕微鏡(TEM)像をFig. 5に示す。

菌の膨化とともに表面に凹凸が観察され、顕著な細胞壁の肥厚が認められた。*E. coli* K-12に $1.56 \mu\text{g/ml}$ (1 MIC)のAZMを4時間作用させた場合、菌の伸長化および膨化が観察されたが、細胞膜等に顕著な変化は認められなかった(Fig. 6)。*K. pneumoniae* ATCC 29665にAZM $25 \mu\text{g/ml}$ (1 MIC)を6時間作用させると*E. coli*と同様、菌の膨化および伸長化が観察された(Fig. 7)。また、*H. in-*

Table 1. Antibacterial spectra of azithromycin and reference antibiotics against gram-positive bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	Azithromycin	Erythromycin	Clarithromycin	Josamycin	Rokitamycin	Amoxicillin	Cefaclor	Cefixime
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.20	0.20	0.10	0.39	0.39	0.20	1.56	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.39	0.20	0.10	1.56	1.56	0.20	1.56	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.20	0.20	0.10	0.78	1.56	0.78	12.5	25
<i>Staphylococcus aureus</i> Neuman	0.39	0.20	0.20	1.56	1.56	0.20	1.56	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	0.20	0.20	1.56	1.56	0.20	1.56	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 50774	0.39	0.39	0.20	1.56	1.56	0.10	0.78	6.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	0.39	0.20	1.56	1.56	0.39	3.13	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.025	0.025	0.025	0.20	0.20	0.025	0.20	0.20
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.10	0.05	0.05	0.20	0.20	0.013	0.10	0.10
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.10	0.10	0.05	0.39	0.20	0.025	0.20	0.20
Viridans group <i>streptococcus</i>	0.10	0.10	0.10	1.56	0.78	1.56	50	100
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.10	0.20	0.10	1.56	1.56	1.56	50	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	0.013	0.025	0.025	0.20	0.20	0.025	0.78	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type II	0.05	0.025	0.025	0.20	0.20	0.025	0.78	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	0.10	0.05	0.05	0.20	0.10	0.025	0.78	0.39
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.013	0.013	0.013	0.20	0.10	0.39	0.78	50
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	≤ 0.006	0.025	≤ 0.006	0.20	0.20	0.013	0.025	3.13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.20	0.10	0.05	0.39	0.78	0.025	0.10	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.20	0.10	0.05	0.39	0.78	0.025	0.10	3.13
<i>Bacillus anthracis</i>	0.39	0.39	0.10	0.78	0.78	0.025	0.78	100

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

Table 2. Antibacterial spectra of azithromycin and reference antibiotics against gram-negative bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	Azithromycin	Erythromycin	Clarithromycin	Josamycin	Rokitamycin	Amoxicillin	Cefaclor	Cefixime
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.10	0.78	0.78	3.13	1.56	0.10	0.10	≤ 0.006
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.10	0.78	0.78	1.56	1.56	0.10	0.78	≤ 0.006
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	3.13	50	50	>100	>100	12.5	1.56	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.39	6.25	12.5	100	50	0.78	0.39	≤ 0.006
<i>Escherichia coli</i> K-12	1.56	25	25	>100	>100	6.25	1.56	0.20
<i>Escherichia coli</i> KC-14	1.56	25	25	>100	100	3.13	0.78	0.10
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.78	12.5	25	>100	100	50	25	0.39
<i>Salmonella typhi</i> T-287	1.56	25	25	>100	100	0.39	0.39	0.013
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.78	25	12.5	50	25	0.39	0.39	0.013
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	25	12.5	>100	50	0.78	0.78	0.013
<i>Salmonella paratyphi</i> B	3.13	50	100	>100	>100	0.39	0.78	0.013
<i>Salmonella enteritidis</i>	1.56	50	50	>100	>100	0.78	0.78	0.013
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.39	6.25	6.25	>100	50	6.25	1.56	0.39
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.78	6.25	6.25	>100	50	6.25	25	>100
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.78	12.5	12.5	100	50	6.25	0.78	0.39
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.39	12.5	12.5	100	50	1.56	0.39	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	3.13	25	25	>100	>100	50	0.78	0.025
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	3.13	50	50	>100	100	0.78	0.39	0.013
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	6.25	100	100	>100	>100	>100	>100	1.56
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6.25	>100	>100	>100	>100	>100	>100	0.39
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	6.25	100	100	>100	>100	>100	>100	3.13
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	3.13	50	100	>100	>100	50	50	0.78
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	12.5	50	100	>100	>100	50	>100	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	25	>100	100	>100	>100	0.78	1.56	0.013
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	6.25	>100	50	>100	>100	50	12.5	0.013
<i>Morganella morganii</i> Kono	25	>100	100	>100	>100	>100	100	0.20
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	50	>100	>100	>100	>100	6.25	3.13	≤ 0.006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	6.25	50	25	>100	>100	>100	>100	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	12.5	25	25	>100	>100	>100	>100	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO-1	50	>100	50	>100	>100	>100	>100	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	50	>100	50	>100	>100	>100	>100	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1.56	12.5	25	>100	100	>100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> AC-54	1.56	25	25	>100	>100	>100	50	6.25
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	0.78	1.56	3.13	12.5	6.25	0.025	0.20	0.78
<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 25238	0.025	0.05	0.05	0.78	0.20	0.05	0.39	0.025

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

Table 3. Antibacterial spectra of azithromycin and reference antibiotics against gram-positive bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	Azithromycin	Erythromycin	Clarithromycin	Josamycin	Rokitamycin	Amoxicillin	Cefaclor	Cefixime
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.20	0.39	0.20	0.78	0.78	0.39	3.13	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.78	0.39	0.39	1.56	1.56	0.20	3.13	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.78	0.39	0.39	1.56	1.56	0.78	12.5	25
<i>Staphylococcus aureus</i> Neuman	0.78	0.39	0.39	1.56	1.56	0.39	6.25	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.78	0.39	0.39	1.56	0.78	0.20	1.56	25
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 50774	0.78	0.39	0.39	3.13	1.56	0.20	1.56	12.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	0.39	0.39	3.13	1.56	0.78	6.25	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.10	0.025	0.05	0.39	0.20	0.025	0.78	0.20
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.10	0.05	0.05	0.20	0.20	0.013	0.10	0.10
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.10	0.10	0.10	0.39	0.20	0.025	0.20	0.20
Viridans group <i>streptococcus</i>	0.20	0.10	0.20	1.56	1.56	3.13	50	>100
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.20	0.20	0.20	1.56	1.56	1.56	50	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	0.05	0.025	0.05	0.20	0.20	0.025	0.78	0.20
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type II	0.05	0.025	0.05	0.20	0.20	0.025	0.78	0.20
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	0.10	0.05	0.05	0.20	0.20	0.025	0.78	0.20
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.05	0.025	0.025	0.20	0.20	0.39	0.20	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	≤ 0.006	0.025	≤ 0.006	0.20	0.20	0.013	0.05	3.13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.10	0.05	0.78	0.78	0.20	0.20	>100
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.39	0.10	0.05	0.78	0.78	0.39	0.10	>100
<i>Bacillus anthracis</i>	0.78	0.78	0.20	0.78	0.78	0.05	0.78	>100

Inoculum size: 10^8 CFU/ml

Table 4. Antibacterial spectra of azithromycin and reference antibiotics against gram-negative bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	Azithromycin	Erythromycin	Clarithromycin	Josamycin	Rokitamycin	Amoxicillin	Cefaclor	Cefixime
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.10	0.78	0.78	3.13	1.56	0.10	0.10	≤ 0.006
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.20	0.78	0.78	1.56	3.13	0.78	12.5	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	3.13	50	50	>100	>100	12.5	25	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.78	6.25	25	>100	50	1.56	1.56	0.013
<i>Escherichia coli</i> K-12	1.56	25	25	>100	>100	6.25	6.25	0.39
<i>Escherichia coli</i> KC-14	1.56	25	25	>100	100	3.13	3.13	0.20
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	6.25	25	50	>100	>100	>100	>100	50
<i>Salmonella typhi</i> T-287	1.56	25	50	>100	>100	0.39	0.78	0.025
<i>Salmonella typhi</i> O-901	1.56	25	50	>100	>100	0.78	1.56	0.013
<i>Salmonella paratyphi</i> A	3.13	25	50	>100	>100	0.78	1.56	0.10
<i>Salmonella paratyphi</i> B	3.13	100	100	>100	>100	0.78	1.56	0.025
<i>Salmonella enteritidis</i>	3.13	50	50	>100	>100	0.78	1.56	0.10
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.78	6.25	12.5	100	50	6.25	1.56	0.39
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	1.56	12.5	25	>100	50	100	50	>100
<i>Shigella boydii</i> EW-28	1.56	12.5	25	100	50	6.25	1.56	0.78
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	25	25	>100	50	3.13	1.56	0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	25	25	>100	>100	>100	>100	0.78	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	6.25	100	100	>100	>100	0.78	0.78	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	12.5	>100	100	>100	>100	>100	>100	6.25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6.25	>100	>100	>100	>100	>100	>100	3.13
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	12.5	>100	100	>100	>100	>100	>100	6.25
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	6.25	50	100	>100	>100	100	>100	1.56
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	12.5	>100	100	>100	>100	50	>100	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	50	>100	>100	>100	>100	0.78	3.13	0.025
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	12.5	>100	100	>100	>100	>100	>100	0.025
<i>Morganella morganii</i> Kono	50	>100	100	>100	>100	>100	>100	50
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	50	>100	>100	>100	>100	25	100	≤ 0.006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	25	>100	100	>100	>100	>100	>100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	50	>100	100	>100	>100	>100	>100	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO-1	100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1.56	12.5	25	>100	100	>100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> AC-54	1.56	25	25	>100	>100	>100	>100	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	0.78	3.13	3.13	25	12.5	0.39	1.56	0.025
<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 25238	0.025	0.10	0.05	0.78	0.20	0.05	0.78	0.05

Inoculum size: 10^8 CFU/ml

fluenzae ATCC 10211では、AZM 0.78 μ g/mlを4時間作用させることで、やはり菌は伸長化した(Fig. 8)。

す。

S. aureus Smithに対する治療効果(ED₅₀値)は、AZMで7.96mg/kgでありCAMの6.15mg/kgとほぼ同等で、EMの39.8mg/kg, JMの87.9mg/kg, RKMの122mg/kgよりも

6. マウス腹腔内感染モデルに対する治療効果
マウス腹腔内感染症に対する治療効果を Table 7に示

Table 5-1. Antibacterial activities of azithromycin and reference antibiotics against clinical isolates

Organism	Antibiotics	MIC (μ g/ml)		
		Range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> n=42	Azithromycin	0.025 ~ >100	0.10	>100
	Erythromycin	0.025 ~ >100	0.20	>100
	Clarithromycin	0.025 ~ >100	0.10	>100
	Josamycin	0.10 ~ >100	1.56	>100
	Rokitamycin	0.20 ~ >100	0.78	>100
	Amoxicillin	0.10 ~ 50	0.78	12.5
	Cefaclor	6.25 ~ >100	12.5	50
	Cefixime	6.25 ~ >100	12.5	50
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> n=39	Azithromycin	0.10 ~ >100	>100	>100
	Erythromycin	0.10 ~ >100	>100	>100
	Clarithromycin	0.10 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	0.10 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	0.20 ~ >100	>100	>100
	Amoxicillin	1.56 ~ 100	25	100
	Cefaclor	12.5 ~ >100	>100	>100
	Cefixime	50 ~ >100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> n=35	Azithromycin	0.025 ~ >100	0.20	>100
	Erythromycin	0.025 ~ >100	0.20	>100
	Clarithromycin	0.025 ~ >100	0.10	>100
	Josamycin	0.05 ~ >100	0.78	>100
	Rokitamycin	0.10 ~ >100	0.39	>100
	Amoxicillin	\leq 0.006 ~ 12.5	0.20	6.25
	Cefaclor	0.025 ~ 50	0.78	12.5
	Cefixime	1.56 ~ >100	6.25	100
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus epidermidis</i> n=23	Azithromycin	0.10 ~ >100	0.20	>100
	Erythromycin	0.05 ~ >100	0.20	>100
	Clarithromycin	0.05 ~ >100	0.10	>100
	Josamycin	0.39 ~ >100	0.78	>100
	Rokitamycin	0.20 ~ >100	0.39	>100
	Amoxicillin	1.56 ~ 50	12.5	25
	Cefaclor	6.25 ~ >100	25	100
	Cefixime	50 ~ >100	>100	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> n=34	Azithromycin	0.05 ~ >100	0.10	>100
	Erythromycin	0.025 ~ >100	0.05	>100
	Clarithromycin	0.025 ~ >100	0.05	100
	Josamycin	0.10 ~ >100	0.20	>100
	Rokitamycin	0.10 ~ 50	0.20	50
	Amoxicillin	0.013 ~ 0.10	0.025	0.025
	Cefaclor	0.10 ~ 0.39	0.20	0.20
	Cefixime	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
<i>Streptococcus pneumoniae</i> n=34	Azithromycin	0.013 ~ >100	0.05	>100
	Erythromycin	0.013 ~ >100	0.05	>100
	Clarithromycin	0.013 ~ >100	0.05	100
	Josamycin	0.025 ~ >100	0.20	100
	Rokitamycin	0.05 ~ >100	0.20	25
	Amoxicillin	0.025 ~ 3.13	0.05	0.20
	Cefaclor	0.39 ~ 50	0.78	3.13
	Cefixime	0.20 ~ 50	0.39	1.56

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

優れていた。*S. pyogenes* C-203に対しては、AZMのED₅₀は5.90mg/kgを示し、比較薬より3~31倍良好であった。*S. pneumoniae* Type IIIに対しては、AZMのED₅₀値は8.31mg/kgで、CAMの1/3、EMの1/8、JMの1/13の値と、

比較薬より約3~13倍良好な値を示した。

7. マウス実験的皮下膿瘍に対する治療効果
S. aureus 0238によるマウス実験的皮下膿瘍に対する治療効果をFig. 9に示す。

Table 5-2. Antibacterial activities of azithromycin and reference antibiotics against clinical isolates

Organism	Antibiotics	MIC (μg/ml)		
		Range	50%	90%
<i>Enterococcus faecalis</i> n=30	Azithromycin	0.20 ~ >100	>100	>100
	Erythromycin	0.10 ~ >100	>100	>100
	Clarithromycin	0.10 ~ >100	100	>100
	Josamycin	1.56 ~ >100	50	>100
	Rokitamycin	0.39 ~ >100	3.13	>100
	Amoxicillin	0.20 ~ 0.39	0.20	0.39
	Cefaclor	25 ~ 100	50	50
	Cefixime	0.20 ~ >100	25	>100
<i>Enterococcus faecium</i> n=28	Azithromycin	0.10 ~ >100	1.56	>100
	Erythromycin	0.05 ~ >100	0.78	>100
	Clarithromycin	0.05 ~ >100	0.78	>100
	Josamycin	0.78 ~ >100	1.56	100
	Rokitamycin	0.39 ~ >100	1.56	12.5
	Amoxicillin	0.05 ~ 12.5	0.78	1.56
	Cefaclor	3.13 ~ >100	25	100
	Cefixime	12.5 ~ >100	>100	>100
<i>Enterococcus avium</i> n=26	Azithromycin	0.05 ~ >100	0.78	>100
	Erythromycin	0.05 ~ >100	0.78	>100
	Clarithromycin	0.013 ~ >100	0.39	>100
	Josamycin	0.39 ~ >100	1.56	>100
	Rokitamycin	0.39 ~ >100	0.78	50
	Amoxicillin	0.39 ~ 6.25	0.78	25
	Cefaclor	3.13 ~ >100	6.25	>100
	Cefixime	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> n=49	Azithromycin	0.78 ~ 6.25	3.13	3.13
	Erythromycin	12.5 ~ 100	50	100
	Clarithromycin	6.25 ~ 100	50	100
	Josamycin	>100	>100	>100
	Rokitamycin	50 ~ >100	>100	>100
	Amoxicillin	0.78 ~ >100	6.25	>100
	Cefaclor	0.39 ~ >100	1.56	100
	Cefixime	0.025 ~ 100	0.20	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=40	Azithromycin	1.56 ~ 25	6.25	12.5
	Erythromycin	6.25 ~ >100	100	>100
	Clarithromycin	6.25 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	25 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	25 ~ >100	>100	>100
	Amoxicillin	6.25 ~ >100	>100	>100
	Cefaclor	0.20 ~ 6.25	1.56	3.13
	Cefixime	0.025 ~ 1.56	0.10	0.78
<i>Citrobacter freundii</i> n=34	Azithromycin	1.56 ~ 25	12.5	12.5
	Erythromycin	12.5 ~ >100	100	>100
	Clarithromycin	12.5 ~ >100	>100	>100
	Josamycin	100 ~ >100	>100	>100
	Rokitamycin	100 ~ >100	>100	>100
	Amoxicillin	6.25 ~ >100	>100	>100
	Cefaclor	0.78 ~ >100	100	>100
	Cefixime	0.025 ~ >100	3.13	>100

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

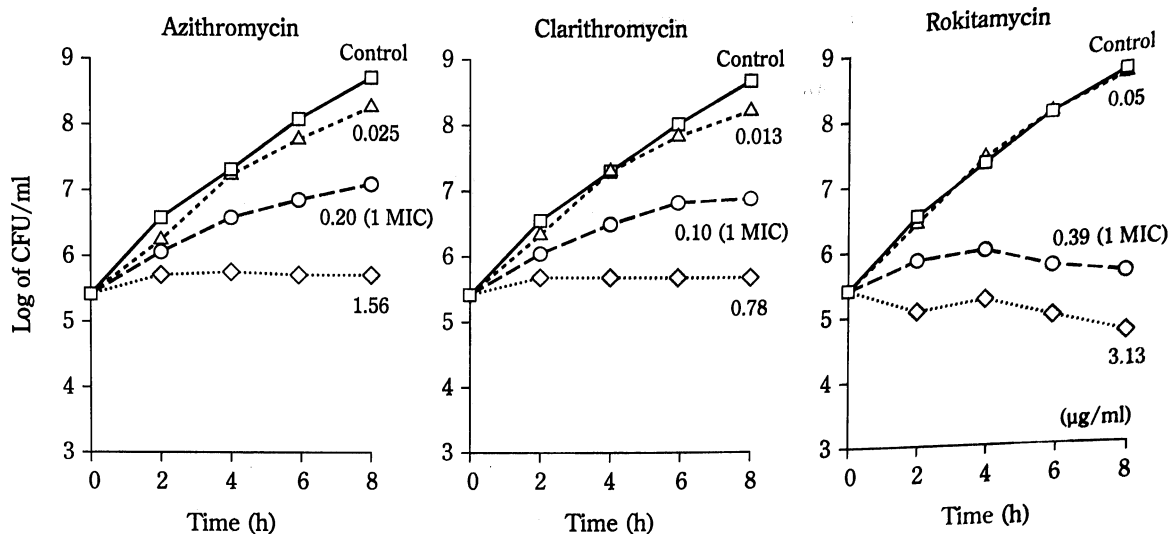


Fig. 1. Effects of azithromycin, clarithromycin and rokitamycin on the viability of *Staphylococcus aureus* 209P-JC.

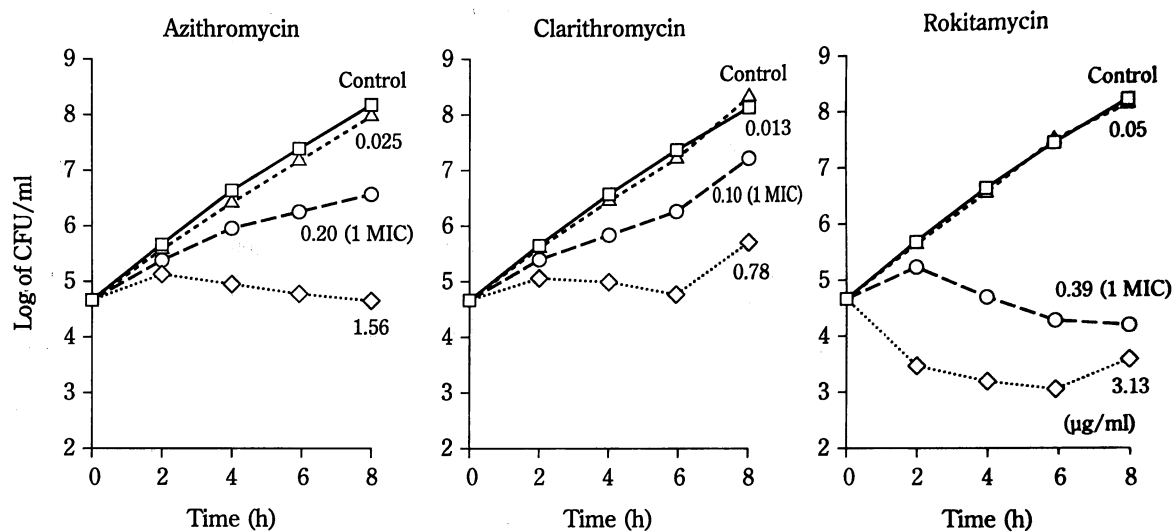


Fig. 2. Effects of azithromycin, clarithromycin and rokitamycin on the viability of *Staphylococcus epidermidis* ATCC14990.

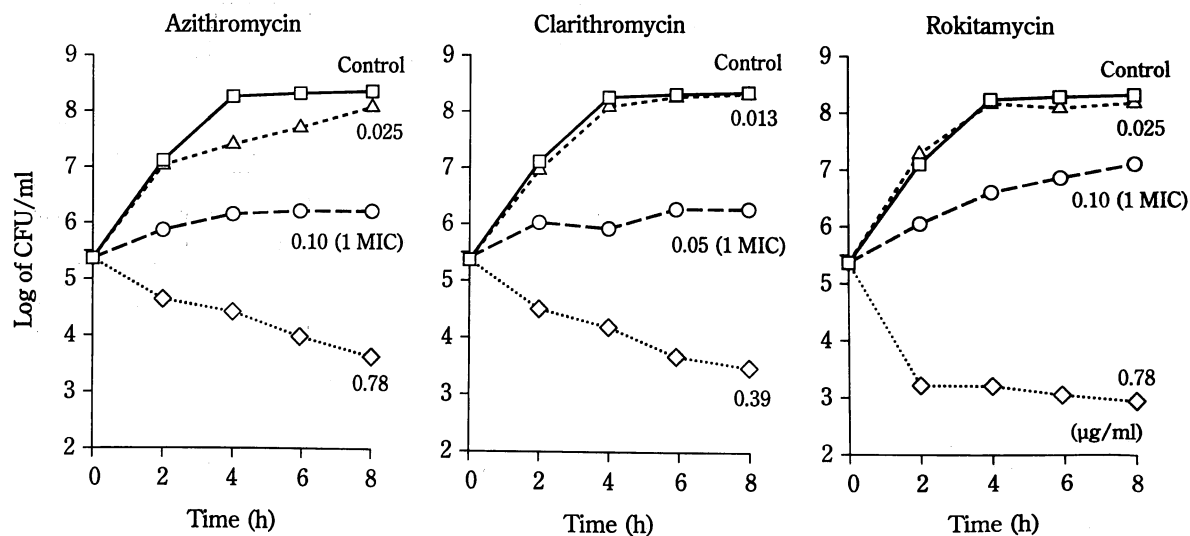


Fig. 3. Effects of azithromycin, clarithromycin and rokitamycin on the viability of *Streptococcus pneumoniae* type III.

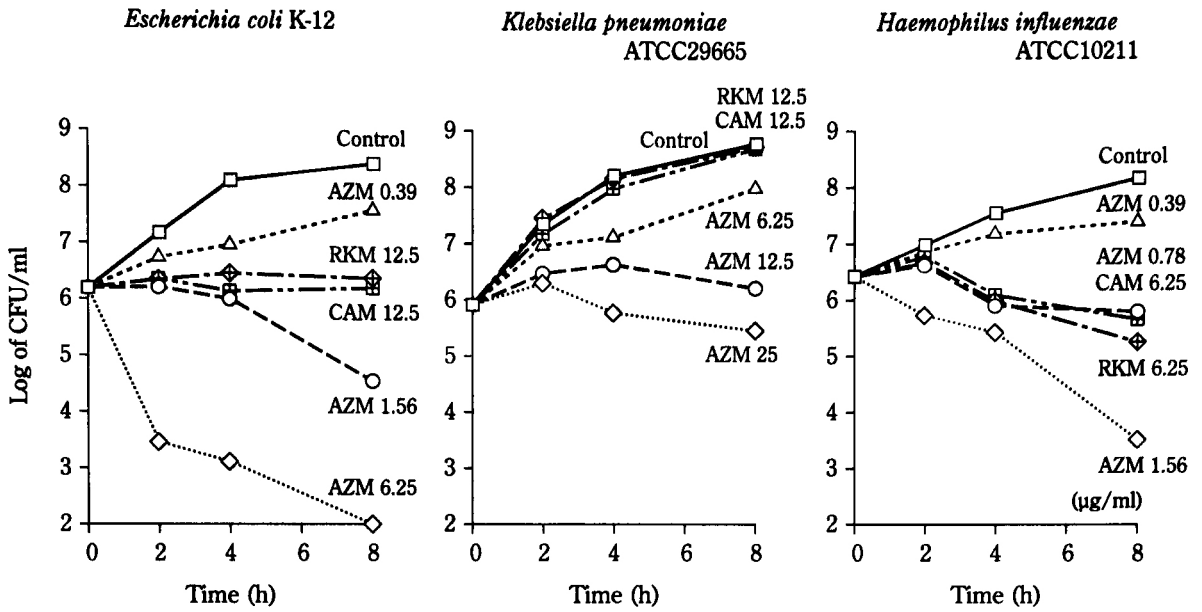


Fig. 4. Effects of azithromycin, clarithromycin and rokitamycin on the viability of gram-negative organism. AZM; azithromycin, CAM; clarithromycin, RKM; rokitamycin

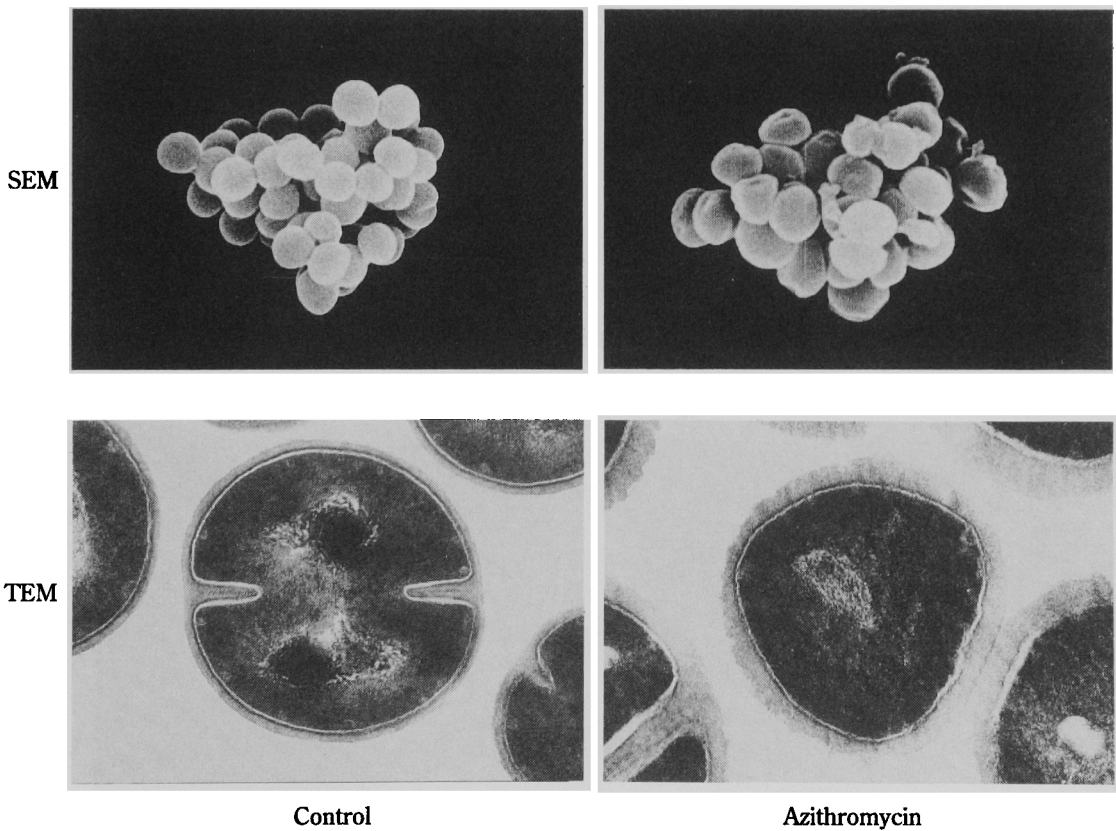


Fig. 5. Scanning and transmission electron micrographs of *Staphylococcus aureus* 209P-JC exposed to 1.56 μg/ml of azithromycin for 6 h.

SEM; scanning electron microscope, TEM; transmission electron microscope

投与量6.25mg/kgにおいてAZMはEMおよびOFLXよりも有意差をもって効果的であった($p < 0.01$)。また、その時の治療効果はEM(25mg/kg), CCL(6.25mg/kg)およびOFLX(12.5 mg/kg)より優れていた。AZM(25mg/kg)では、CAM(25mg/kg)と同様に皮下膿瘍形成は全く認められず、EM、CCLおよびOFLXより優れていた($p < 0.01$)。

Ⅲ. 総括および考察

AZMはグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し、幅広い抗菌スペクトルを有しており、特に、EM、CAM、JMおよびRKMと比べてグラム陰性菌に対する抗菌力が大幅に改善されていた。また、臨床分離株に対する既存のマクロライド剤および β -ラクタム系経口剤との抗菌力の比較では、*E. faecalis*を除く好気性グラム陽性菌に対するAZMの抗菌力は、全ての菌種の一部に耐性株の存在が認められるため MIC_{90} は $> 100 \mu\text{g/ml}$ であったが、 MIC_{50} ではCAMにやや劣るもののEMとほぼ同等でJM、RKM、CCL、CFIXより優れていた。MRSAおよび*E. faeca-*

*lis*に対する抗菌活性は、他の対照薬と同様弱かった。グラム陰性菌に対しては、既存のマクロライド剤が抗菌力を示す*H. influenzae*、*M. catarrhalis*、*N. gonorrhoeae*に対して、その MIC_{90} はそれぞれ0.78, 0.05, $0.10 \mu\text{g/ml}$ であり、EMおよびCAMよりも2~4倍優れていた。そして、AZMは*Pseudomonas*属、一部の腸内細菌を除いたグラム陰性菌に対して、マクロライド剤として初めて抗菌力を示し、本剤の持つ抗菌力の特徴が確認できた。

AZMの殺菌作用は、グラム陽性菌に対しては比較薬と同様静菌的であり、グラム陰性菌に対してはその増殖に比較薬が影響をほとんど示さなかった濃度においても殺菌的に働き、その作用は濃度依存的であった。一般的に、マクロライド剤のグラム陰性桿菌に対する抗菌活性は、著しく低いことが知られているが⁹⁾、それはマクロライド系抗生物質の高い疎水性に基づいた外膜の透過障害のためである¹⁰⁾。しかしながら、AZMがグラム陰性菌に抗菌力を示すのは、既存のマクロライドと比較して何らかの理由で、外膜を透過し易いためであると推察さ

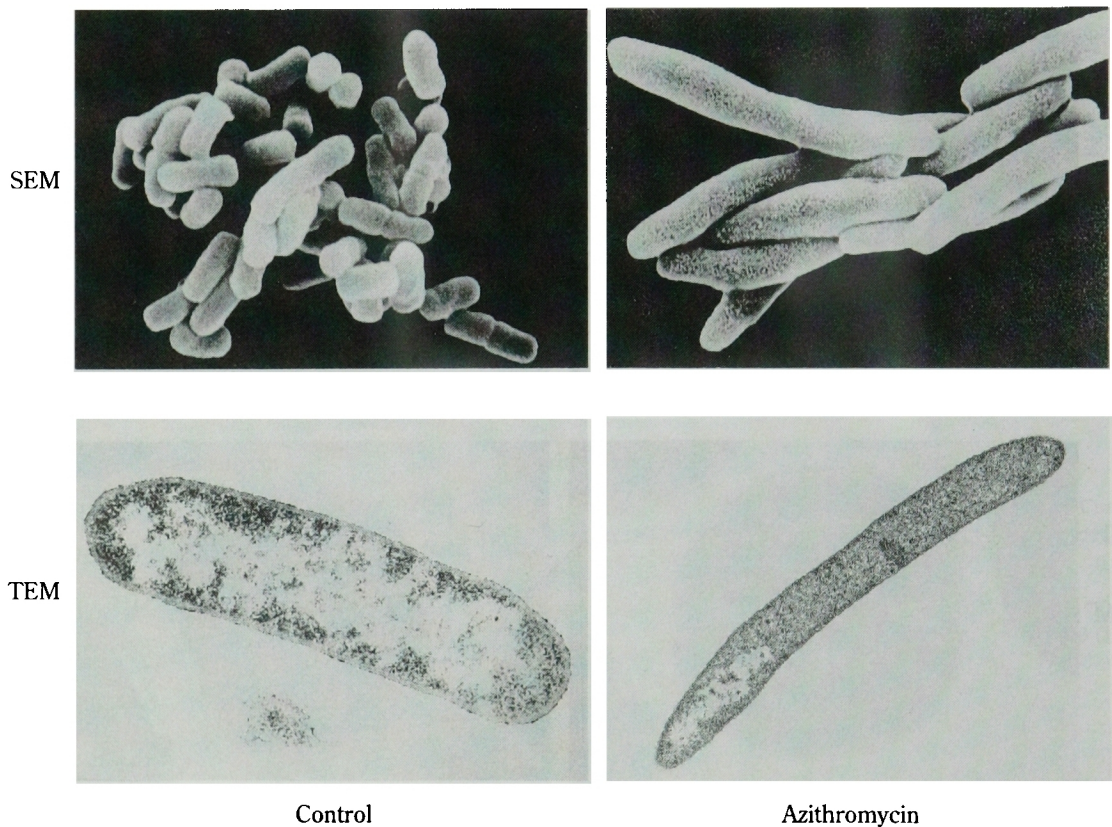


Fig. 6. Scanning and transmission electron micrographs of *Escherichia coli* K-12 exposed to $1.56 \mu\text{g/ml}$ of azithromycin for 4 h.
SEM; scanning electron microscope, TEM; transmission electron microscope

れる。

*S. aureus*にAZMを作用させたときのTEM像において、細胞壁の顕著な肥厚が観察された。この現象はCAM等

で報告¹¹⁾されており、蛋白合成が阻害された結果自己溶解酵素(Autolysin)が活性化されないために起こったものと考えられる¹¹⁾。またグラム陰性菌ではAZMの処理

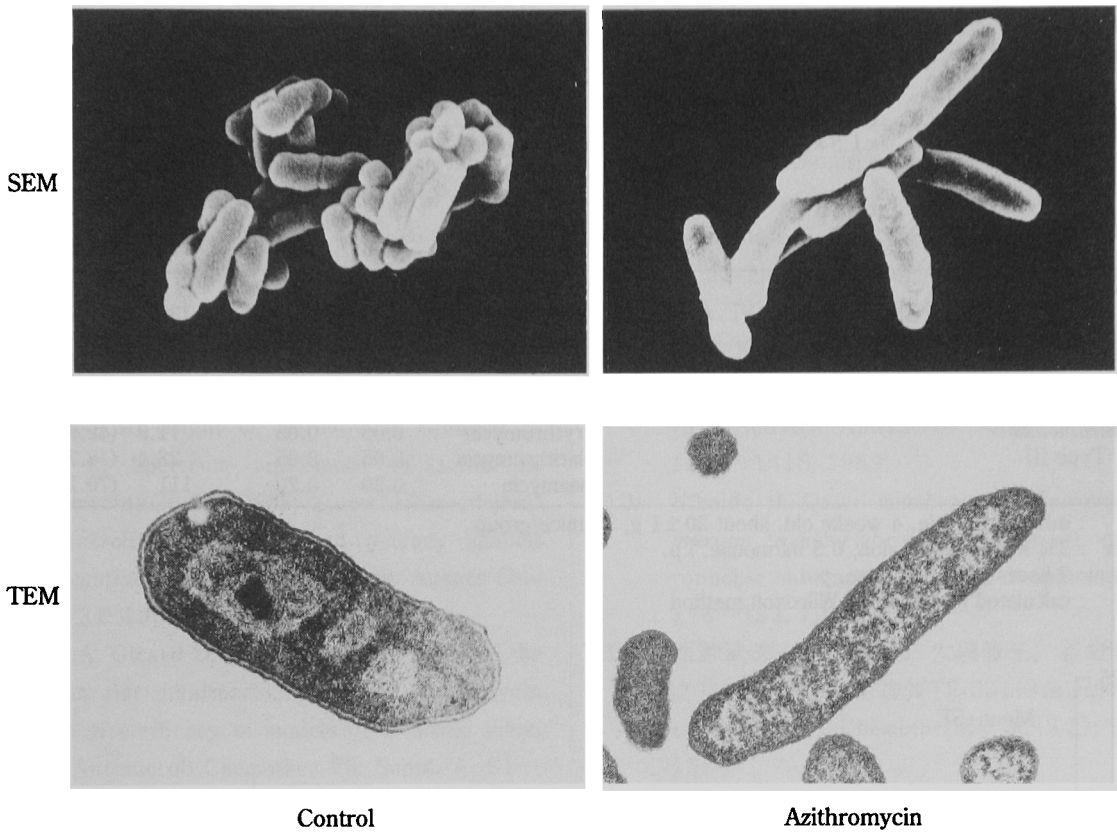


Fig. 7. Scanning and transmission electron micrographs of *Klebsiella pneumoniae* ATCC29665 exposed to 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of azithromycin for 4 h.

SEM; scanning electron microscope, TEM; transmission electron microscope

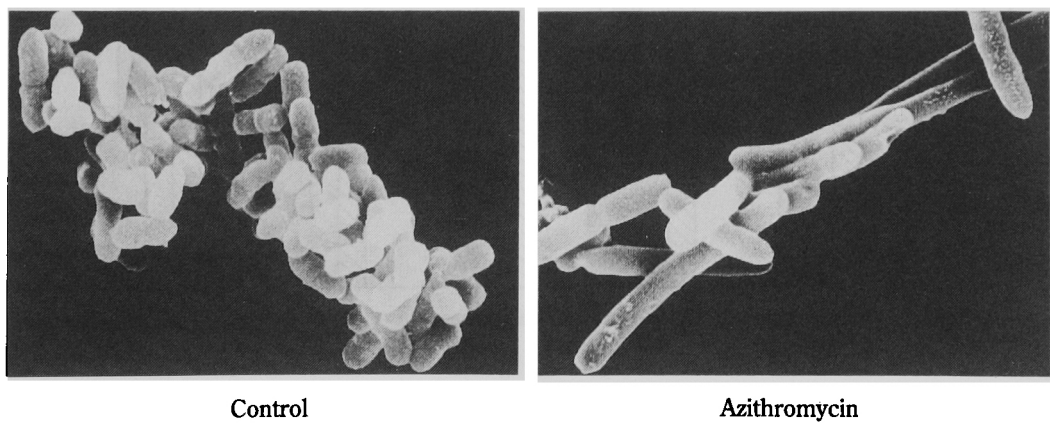


Fig. 8. Scanning electron micrographs of *Haemophilus influenzae* ATCC10211 exposed to 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of azithromycin for 4 h.

で菌体の伸長化および膨化が観察された。この現象は蛋白合成阻害により細胞分裂に必要な酵素が産生されないために起こったと考えられるが、詳細については明らか

ではない。今後の検討が必要であろう。

マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果の検討ではAZMの *S. pyogenes* および *S. pneumoniae* に対する抗菌力

Table 7. Protective effects of azithromycin and reference antibiotics against experimental systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Mucin	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (95% confidence limits) (mg/kg)
				10 ⁸	10 ⁶	
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	1.5 × 10 ⁶	+	Azithromycin	0.78	0.39	7.96 (5.25 ~ 12.1)
			Erythromycin	0.39	0.20	39.8 (24.3 ~ 65.2)
			Clarithromycin	0.39	0.10	6.15 (3.72 ~ 10.2)
			Josamycin	1.56	1.56	87.9 (54.5 ~ 142)
			Rokitamycin	1.56	1.56	122 (81.4 ~ 183)
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	4.0 × 10 ³	-	Azithromycin	0.10	0.10	5.90 (3.32 ~ 10.5)
			Erythromycin	0.05	0.05	139 (79.9 ~ 241)
			Clarithromycin	0.05	0.05	16.9 (10.5 ~ 27.3)
			Josamycin	0.20	0.20	183 (114 ~ 294)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	2.4 × 10 ³	-	Azithromycin	0.10	0.10	8.31 (5.78 ~ 12.1)
			Erythromycin	0.05	0.05	71.9 (42.5 ~ 114)
			Clarithromycin	0.05	0.05	28.4 (18.7 ~ 41.8)
			Josamycin	0.20	0.20	111 (70.1 ~ 169)

Mice : ddY strain male, 4 weeks old, about 20 ± 1 g, 10 mice/group
 Infection : 3% mucin suspension, 0.5 ml/mouse, i.p.
 Treatment: 2 hours after challenge, p.o.
 ED₅₀ : calculated by Litchfield-Wilcoxon method

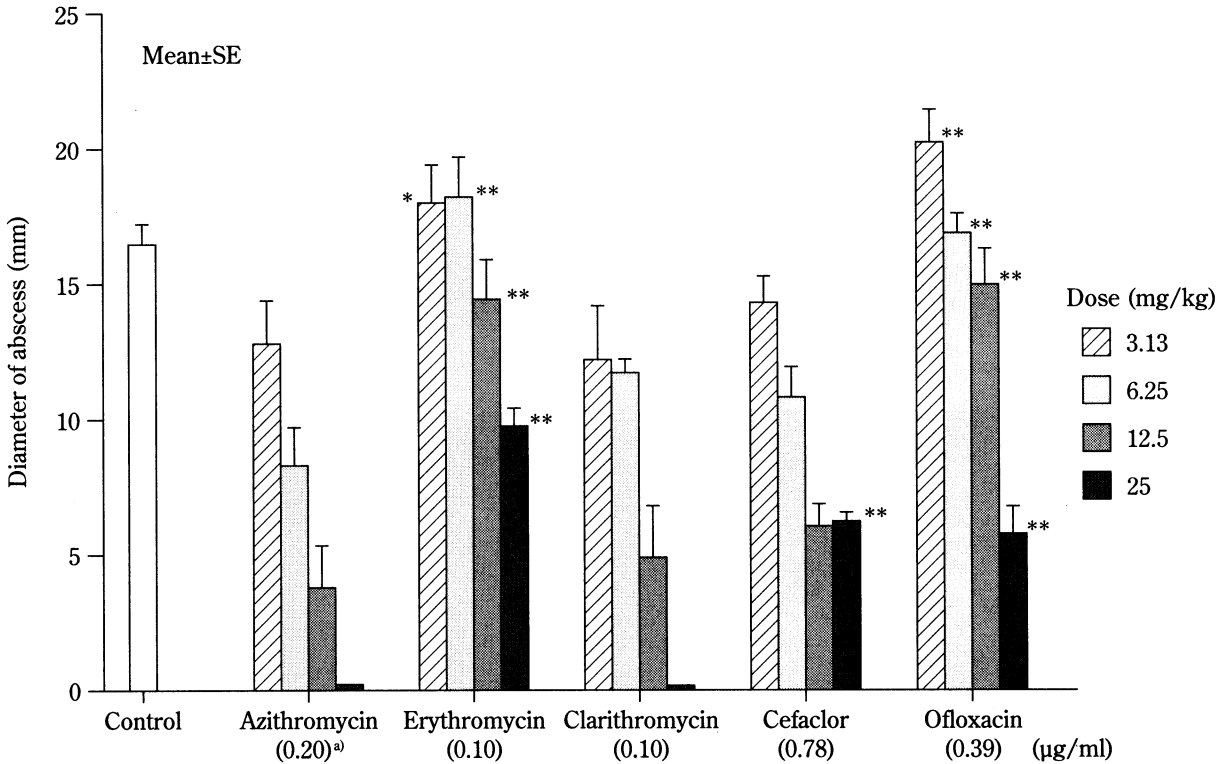


Fig. 9. Protective effects of azithromycin and reference antibiotics on experimental subcutaneous abscess formation caused by *Staphylococcus aureus* 0238 in mice. Mice were subcutaneously infected with *S. aureus* (3.7×10^7 CFU/ml). Azithromycin was administered orally, once, immediately after challenge. Mice were sacrificed 2 days post-challenge, and subcutaneous abscess diameter was measured. Each value indicates mean ± SE for five mice, significantly different from the value for azithromycin, ** (p < 0.01), * (p < 0.05), a) : MIC ($\mu\text{g/ml}$)

は、CAM, EMに劣っていたにもかかわらず、CAMの1～3倍、EMの5～25倍優れていた。これはAZMの良好な体内動態⁹⁾、酸への安定性¹²⁾等が*in vivo*における治療効果に反映されたものと考えられる。

以上AZMは対照マクロライドとは異なる多くの優れた特長を備えていることから、本剤の良好な臨床効果が期待できると考えられる。

文 献

- 1) Bright G M, Nagel A A, Bordner J, Desai K A, Dibrino J N, Nowakowska J: Synthesis *in vitro* and *in vivo* activity of novel 9-deoxy-9a-aza-9a-homoerythromycin A derivatives; a new class of macrolide antibiotics, the azalides. *J Antibiotics* 41: 1029～1047, 1988
- 2) 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
- 3) Girard A, Girard D, Retsema J: Correlation of the extravascular pharmacokinetics of azithromycin with *in vivo* efficacy in models of localized infection. *J Antimicrob Chemother* 25: Suppl. A, 61～71, 1990
- 4) Gladue R P, Snider M E: Intracellular Accumulation of azithromycin by culture human fibroblast. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 1056～1060, 1990
- 5) Kirst H A, Sides G D: New Directions for Macrolides Antibiotics: Pharmacokinetics and clinical efficacy. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 1419～1422, 1989
- 6) 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
- 7) Luft J H: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J Biophys Biochem Cytol* 9: 409～414, 1961
- 8) Reynolds E S: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque strain in electro microscopy. *J Cell Biol* 17: 208～212, 1963
- 9) Kirst H A, Sides G O: New direction for macrolides antibiotics: Structural Modifications and *In vitro* Activity. *Antimicrob. Agent Chemother* 33: 1413～1418, 1989
- 10) Nikaido H: Outer membrane of *Salmonella typhimurium* transmembrane diffusion of some hydrophobic substances. *Biochem Biophys Acta* 433: 118～132, 1976
- 11) 西野武志, 石田信生, 大槻雅子, 谷野輝夫：マクロライド系抗生物質TE-031の*in vitro*および*in vivo*抗菌作用。 *Chemotherapy* 36(S-3): 95～110, 1988
- 12) Fiese E F, Steffen S H: Comparison of the acid stability of azithromycin and erythromycin A. *J Antimicrob Chemother* 25 (Suppl. A): 39～47, 1990

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of azithromycin,
a new macrolide antibiotic

Takeshi Nishino, Akira Komoto and Masako Otsuki
Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University
5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku Kyoto 607, Japan

The *in vitro* and *in vivo* activities of azithromycin (AZM), a new macrolide antibiotic, were evaluated in comparison with those of erythromycin (EM), clarithromycin (CAM), josamycin (JM), rokitamycin (RKM), amoxicillin (AMPC), cefixime (CFIX), and cefaclor (CCL). In addition, ofloxacin (OFLX) was used as a comparative drug in a partial experiment.

AZM had a broad and potent antibacterial spectrum against Gram-positive and Gram-negative bacteria, including *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., and *Acinetobacter calcoaceticus*.

AZM showed bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, and concentration-dependent bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *H. influenzae*.

Morphological observation with a scanning electron microscope and transmission electron microscope demonstrated that AZM produced the remarkable thickness of the cell wall of *S. aureus* and the elongation cells of *E. coli*, *K. pneumoniae* and *H. influenzae*.

Therapeutic efficacy of AZM against systemic infection in mice was superior to those of EM, JM, and RKM against *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* and *S. pneumoniae*. Although AZM was slightly inferior to CAM against *S. aureus*, it was superior to CAM against *S. pyogenes* and *S. pneumoniae* with ED₅₀ about 3 fold lower than those of CAM. AZM showed good protective activity against abscess formation induced by *S. aureus* in mice. It was superior to those of EM, OFLX and CCL, and similar to that of CAM.