

## Rokitamycin の殺菌効果と postantibiotic effect に関する検討

宮本 潤子<sup>1)</sup>・古賀 宏延<sup>1)</sup>・朝野 和典<sup>1)</sup>・河野 茂<sup>1)</sup>  
原 耕平<sup>1)</sup>・青木 明子<sup>2)</sup>・西嶋 敏夫<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 長崎大学医学部第 2 内科\*

<sup>2)</sup> 旭化成工業株式会社ライフサイエンス総合研究所

(平成 8 年 7 月 2 日受付・平成 8 年 9 月 4 日受理)

臨床分離の *Staphylococcus aureus* 1 株, *Streptococcus pyogenes* 1 株, *Streptococcus pneumoniae* 3 株に対する rokitamycin (RKM) の殺菌作用と postantibiotic effect (PAE) に関して, clarithromycin (CAM), erythromycin (EM), および cefditoren (CDTR) を対照薬として比較検討した。RKM の抗菌力は *S. aureus* と *S. pyogenes* に対しては EM とほぼ同等で, ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* に対しては他の 3 薬剤よりも優れていた。殺菌作用の検討では, RKM は検討したすべての菌種に対してもっとも強い殺菌作用を示した。また, RKM の PAE は, *S. aureus* に対しては CAM や EM よりもやや短かったものの, *S. pneumoniae* ではほぼ同等, *S. pyogenes* では長く, CDTR と比べてもすべての菌種で長い PAE を示した。以上のように, RKM はニューマクロライド薬であるにもかかわらず, ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* を含むグラム陽性球菌に対する抗菌力に優れ, その作用は殺菌的で, しかも長い PAE を有することから, 臨床的にも呼吸器感染症の治療に対して有用性の高い薬剤であると思われる。

**Key words:** rokitamycin, グラム陽性球菌, 殺菌効果, postantibiotic effect

近年開発されたマクロライド薬 (MLs) は, グラム陽性球菌に対する抗菌力が強化されるとともに, 優れた体内動態が得られるようになったことから, 特にグラム陽性球菌が関与する呼吸器感染症などに対して臨床的な有用性がより期待できるようになった。しかし, MLs の抗菌作用は一般に静菌的であるとされてきたために, 臨床的には  $\beta$ -ラクタム薬やニューキノロン薬などの殺菌的に働く抗菌薬が使用される症例が多い。ところが, 第 3 世代セフェム薬の汎用によるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の蔓延や, 国内外でのペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) の増加<sup>1,2)</sup> などが社会的な問題となるに至って,  $\beta$ -ラクタム薬の過度の投与が再び見直されようとしている。

今回我々は, PRSP を含む各種グラム陽性球菌に対する rokitamycin (RKM) の殺菌作用と postantibiotic effect (PAE) に関して, clarithromycin (CAM), erythromycin (EM), および cefditoren (CDTR) を対照として比較検討した結果, RKM の *in vitro* における他の MLs とは異なった特徴が見い出されたので報告する。

## I. 材料と方法

### 1. 使用菌株

Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* J 13 (MSSA), *Streptococcus pyogenes* J 17, Penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae* NAS 213 (PSSP), Penicillin-intermediate resistant *Streptococcus pneumoniae* NAS 211 (PISP), および Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* NAS 208 (PRSP) の各臨床分離株, 計 5 株を使用した。

2. 使用薬剤

MLs 系の RKM (旭化成工業株式会社), CAM (大正製薬株式会社), EM (Sigma), セフェム系の CDTR (明治製薬株式会社), ペニシリン系の Penicillin G (PCG, 旭化成工業株式会社) の 5 薬剤を用いた。

### 3. 薬剤感受性測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は日本化学療法学会の標準法に従って, 寒天平板希釈法で測定した<sup>3)</sup>。MIC 測定用培地としては, *S. aureus* と *S. pyogenes* に対しては感性ディスク用寒天培地 (SDA: ニッスイ) を使用し, *S. pneumoniae* に対しては, 5% 馬血液を添加した SDA を用いた。

### 4. 殺菌作用の検討

液体培地としては, *S. aureus* には感性測定用ブイヨン (STB, ニッスイ), *S. pyogenes* には 5% 馬血清含有 STB, *S. pneumoniae* には 5% 馬血清含有 Brain Heart Infusion broth (BHIB, Difco) を使用した。寒天平板より滅菌綿棒で掻き取った菌株を各液体培地 1 ml に懸濁し, 200 ml 液体培地に  $5 \times 10^8$  CFU/ml 程度になるよう接種した。この菌液を 10 ml ずつ分注し, 1 時間培養した後, 薬剤をそれぞれ最終濃

度が 2, 5, 10 MIC になるように添加し, 薬剤非添加のコントロールとともに 37°C で振盪培養した。以後, 1, 2, 4, 6, 8 時間後に培養菌液 0.2 ml を経時的に採取して生菌数を定量した。

### 5. PAE の検討

使用した液体培地と菌数定量用寒天培地は, *S. aureus* にはそれぞれ Muller Hinton Broth (Difco) と Muller Hinton Agar (Difco), *S. pyogenes* には BHIB と血液寒天培地 (BBL), *S. pneumoniae* には 5% 馬血清含有 BHIB と血液寒天培地を用いた。

寒天平板上の単一型コロニー 4~5 個の先端に触れ, 約 50 ml の液体培地にそれぞれ摂取し, 37°C で一晩振盪培養した。翌朝, 新鮮な培地に再び接種し, 約  $10^4 \sim 10^6$  CFU/ml の菌液を作製後, さらに 37°C で 2 時間振盪培養した。その後,  $10^7$  CFU/ml (*S. pneumoniae* では  $10^8$  CFU/ml) 程度に増殖した菌液を滅菌試験管に 9 ml ずつ分注し, 同じ液体培地に溶解した 20 および 50 MIC の濃度の各薬液を 1 ml ずつ添加して最終濃度が 2 および 5 MIC になるように調製し, コントロールとともに 37°C で 2 時間培養した。培養後, 薬剤を含まない新鮮な培地を添加することにより薬剤濃度を 100 倍に希釈し, その溶液 10 ml をさらに 37°C で培養を続けながら 1 時間ごとに生菌数を測定した。PAE の算出は希釈法による薬剤除去後の生菌数が 10 倍になるまでの時間を, コントロールの生菌数が 10 倍になるまでの時間と比較し, その遅延時間を PAE とした。

## II. 結 果

### 1. MIC

使用した 5 菌株に対する RKM, CAM, EM, CDTR および PCG の MIC を Table 1 に示した。

*S. aureus* と *S. pyogenes* に対する PKM の抗菌力は EM とほぼ同等で, CAM や CDTR よりも 2~8 倍劣っていた。一方, PSSP, PISP, PRSP に対する RKM の MIC はいずれの菌株に対しても  $0.20 \mu\text{g/ml}$  と良好であったのに対し, CAM, EM, CDTR の MIC は PCG に対する耐性化が高度になるほど MIC 値が上昇した。これを RKM の MIC と比較すると, PSSP に対するこれら 3 薬剤の MIC は RKM より 4~16 倍優

れていたが, PISP に対してはほぼ同等か 2 倍劣り, PRSP に対してはいずれの薬剤も 4 倍劣っていた。

### 2. 殺菌作用

各菌株に対する殺菌作用の検討結果を Figs. 1~5 に示した。

*S. aureus* に対しては, RKM はいずれの濃度においても殺菌的に作用したのに対し, 他の 3 薬剤はいずれの濃度でも静菌的に作用した (Fig. 1)。

*S. pyogenes* に対しては, 2 MIC で殺菌的に作用したのは RKM のみで, 他は静菌的であった。一方, 5 と 10 MIC では RKM と CDTR が殺菌的に作用し, しかも RKM は CDTR より強い殺菌作用を示した。CAM と EM はいずれの濃度においても静菌的に作用した (Fig. 2)。

PSSP に対しては, EM の 2 MIC が静菌的作用を示した以外はすべての薬剤が殺菌的に作用し, 特に RKM はもっとも強い殺菌作用を示した (Fig. 3)。

PISP に対しては, RKM がもっとも強い殺菌作用を示し, いずれの濃度においても薬剤添加 1~4 時間後には生菌数が定量限界以下に低下した。また, CAM と EM も 5 および 10 MIC では CDTR と同程度の殺菌作用を示した (Fig. 4)。

PRSP に対しても, RKM はもっとも強い殺菌作用を示し, 2~4 時間後には生菌数が定量限界以下に低下した。他の 3 薬剤は同程度の殺菌作用を示したが, CDTR では薬剤添加 8 時間後には再増殖が認められた (Fig. 5)。

### 3. PAE

5 菌株に対する RKM, CAM, EM および CDTR の PAE を Table 2 に示した。2 MIC と 5 MIC の濃度を比較すると, いずれの薬剤においても 5 MIC の方が 0.3~3 時間 PAE が延長した。また, 薬剤間の比較では, RKM と EM の PAE がそれぞれ 0.7~5.8 時間, 0.4~5.7 時間と同程度でもっとも長く, CAM は 0.2~4.9 時間とやや短く, CDTR では 0.3~2.6 時間ともっとも短かった。さらに, 菌種別の比較では, *S. pneumoniae* に対する PAE はいずれの MLs でもっとも長く, 次いで *S. aureus*, *S. pyogenes* の順であった。RKM

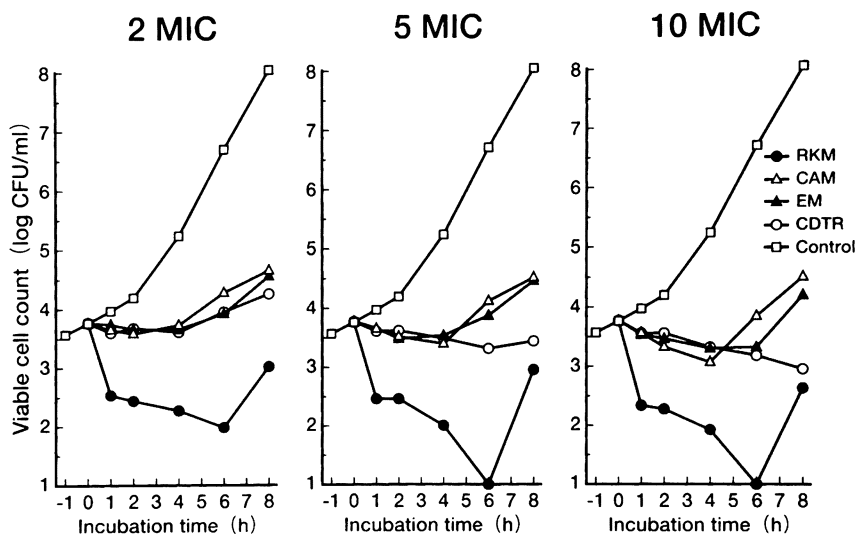
Table 1. MICs of rokitamycin and other antibiotics against tested strains

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	RKM	CAM	EM	CDTR	PCG
<i>S. aureus</i> J 13	0.78	0.20	0.78	0.39	0.78
<i>S. pyogenes</i> J 17	0.05	0.0125	0.025	0.0063	—
<i>S. pneumoniae</i> NAS 213 (PSSP)	0.20	0.025	0.05	0.0125	0.05
<i>S. pneumoniae</i> NAS 211 (PISP)	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20
<i>S. pneumoniae</i> NAS 208 (PRSP)	0.20	0.78	0.78	0.78	12.5

Inoculum size:  $10^8$  CFU/ml

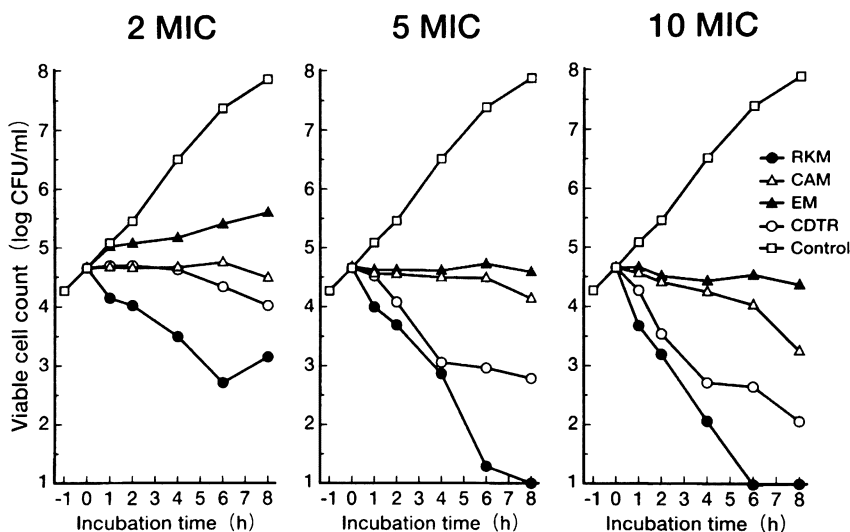
RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin,

CDTR: cefditoren, PCG: penicillin G



RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin, CDTR: cefditoren

Fig. 1. Bactericidal effects of rokitamycin and other antibiotics against *Staphylococcus aureus* J 13.



RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin, CDTR: cefditoren

Fig. 2. Bactericidal effects of rokitamycin and other antibiotics against *Streptococcus pyogenes* J 17.

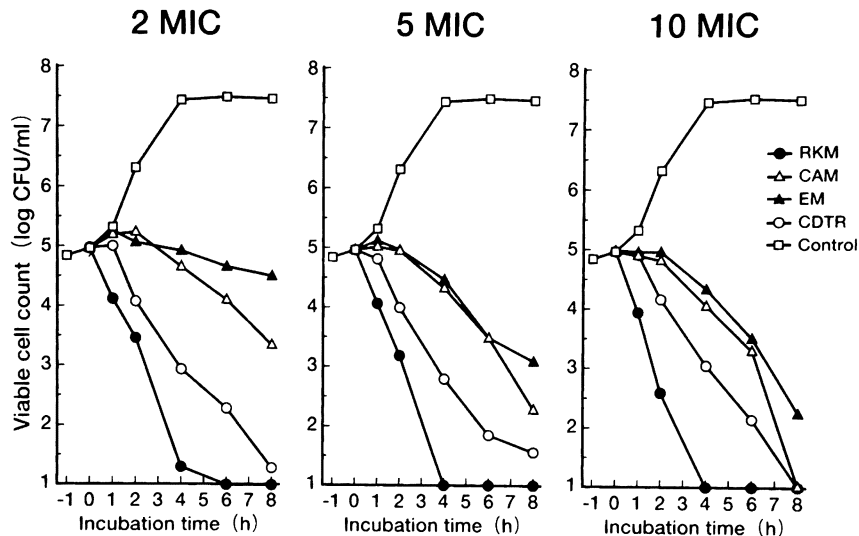
の各菌種に対する PAE を他の MLs と比較すると, *S. aureus* に対しては CAM や EM よりもやや短かったが, *S. pyogenes* では 0.3~2.4 時間長く, *S. pneumoniae* ではほぼ同等であった。

### III. 考 察

MLs は, 多くのグラム陽性球菌, レジオネラ, 嫌気性菌, あるいは  $\beta$ -ラクタム薬が無効のマイコプラズマやクラミジアなどに抗菌力を有することから, 広く急性呼吸器感染症の治療に用いられる薬剤である。さらに近年では, びまん性汎細気管支炎などの慢性気道感染症に対する少量長期投与の有効性も報告されている。しかし, MLs の優れた抗菌力にもかかわらず, その作用は静菌的とされてきたために, 臨床的には  $\beta$ -ラクタム薬などが第 1 選択薬として投与される症例が多い。

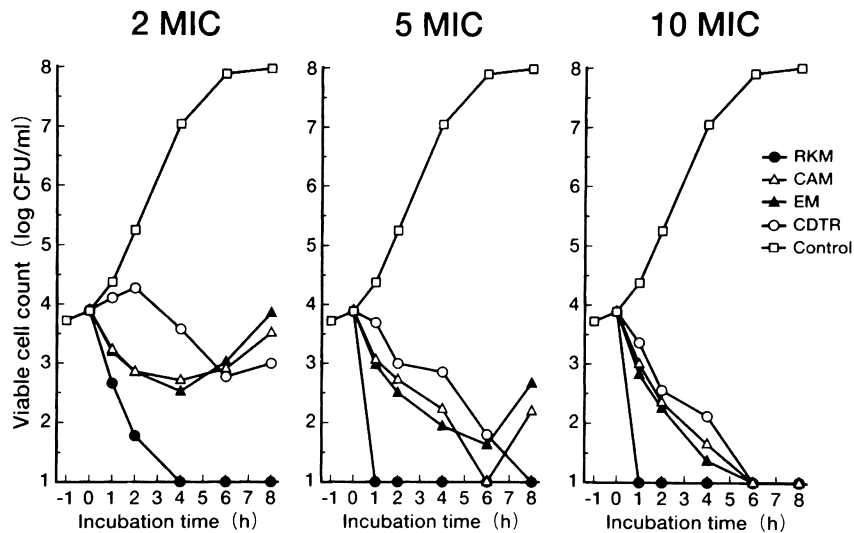
ところが, 昨今の抗菌薬の乱用によって考えられる MRSA や PRSP などの薬剤耐性菌の蔓延が問題となり, MLs が再び呼吸器あるいは耳鼻科領域感染症に対して使用される機会が増えつつある。一方, *S. pneumoniae* の耐性化はペニシリン系薬に対してのみならず, EM にも耐性を示す株が分離されてきたことから<sup>1)</sup>, MLs のなかでもその選択を慎重にせざるを得ない状況にあると言えよう。

今回検討した RKM は, 16 員環 MLs に属するニューマクロライド薬で, MLs 耐性の *S. aureus* にも一部抗菌力を示すことが報告されている<sup>4)</sup>。また, EM および他の 16 員環 MLs の MIC が 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の *S. pneumoniae* に対して, RKM は 1.56~12.5  $\mu\text{g/ml}$  の優れた MIC を示すことが報告されている<sup>5)</sup>。出口ら



RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin, CDTR: cefditoren

Fig. 3. Bactericidal effects of rokitamycin and other antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* NAS 213 (PSSP).



RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin, CDTR: cefditoren

Fig. 4. Bactericidal effects of rokitamycin and other antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* NAS 211 (PISP).

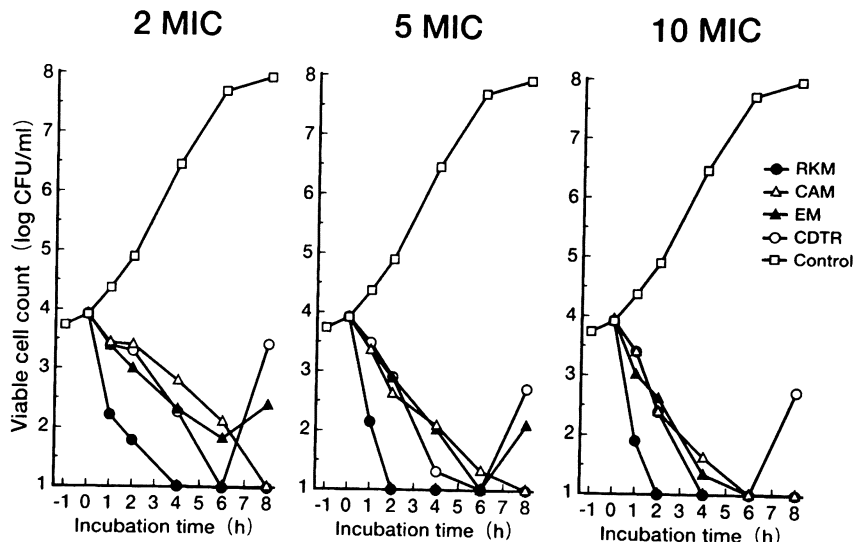
Table 2. PAE(h) of rokitamycin and other antibiotics against tested strains

Organism	× 2 MIC				× 5 MIC			
	RKM	CAM	EM	CDTR	RKM	CAM	EM	CDTR
<i>S. aureus</i> J 13	1.4	1.9	3.4	0.4	2.2	3.5	4.8	0.8
<i>S. pyogenes</i> J 17	0.7	0.2	0.4	0.9	3.4	1.0	1.3	1.2
<i>S. pneumoniae</i> NAS 213 (PSSP)	4.4	3.6	4.2	1.2	5.4	4.9	5.7	2.6
<i>S. pneumoniae</i> NAS 211 (PISP)	2.8	3.8	1.8	0.3	5.8	4.8	3.8	1.8
<i>S. pneumoniae</i> NAS 208 (PRSP)	3.8	3.7	3.7	1.2	4.4	4.9	4.6	2.3

RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin, CDTR: cefditoren

の報告でも、PSSP 57 株、PISP と PRSP 31 株に対する EM の MIC<sub>50</sub> はそれぞれ 0.05 μg/ml, 6.25 μg/ml で、ペニシリン耐性株ほど EM 耐性化がみられたのに対し、RKM の MIC<sub>50</sub> はいずれも 0.2 μg/ml で耐性化は認めら

れていない<sup>6)</sup>。今回の我々の検討でも各 1 株ずつではあるが、EM と CAM は PSSP には抗菌力を示したものの、PISP や PRSP では高い MIC が認められた。一方、RKM はいずれの菌株に対しても 0.2 μg/ml の優れた抗



RKM: rokitamycin, CAM: clarithromycin, EM: erythromycin, CDTR: cefditoren

Fig. 5. Bactericidal effects of rokitamycin and other antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* NAS 208 (PRSP).

菌力を示した。

MLsの抗菌作用に関しては、すでにRKMが他のMLsよりも殺菌的に作用するとの報告が散見されるが<sup>4,7-9)</sup>、 $\beta$ -ラクタム薬と比較した成績は少ない。今回の殺菌効果の検討では、RKMがすべての菌株に対して濃度依存的な殺菌作用を示し、さらにその作用が $\beta$ -ラクタム薬であるCDTRより強かったことは極めて興味深い知見である。RKMが殺菌作用を示す理由については、菌体内への取り込み量が他MLsに比して多いこと<sup>10)</sup>、膜障害作用を有すること<sup>11)</sup>などが考えられているが、今後さらに詳細な検討が必要と思われる。

また、MLsはグラム陽性球菌に対して、 $\beta$ -ラクタム薬よりも長いPAEを有するとされている<sup>12)</sup>。今回の検討でも、RKMとEMのPAEはほぼ同程度で、CAMよりやや長く、CDTRよりも明らかに長かった。特に、RKMと他のMLsのPAEを比較すると、*S. aureus*に対してはCAMやEMよりもやや短く、*S. pneumoniae*ではほぼ同等で、*S. pyogenes*では長い傾向がみられた。

以上のように、RKMはニューマクロライド薬であるにもかかわらず、PRSPを含むグラム陽性球菌に対する抗菌力が優れていること、しかもその作用は殺菌的であること、さらに $\beta$ -ラクタム薬よりも長いPAEを有することなどから、臨床的にも呼吸器感染症の治療に対して $\beta$ -ラクタム薬と同等あるいはそれ以上の有用性が期待できる薬剤であると思われる。

#### 文 献

1) 紺野昌俊, 他: ペニシリン耐性肺炎球菌研究会; 全国

各地で分離された肺炎球菌の疫学的研究。感染症学雑誌 68: 1338~1351, 1994

- 2) Appelbaum P C: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: An overview. *Clinical Infectious Diseases* 15: 77~83, 1992
- 3) 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
- 4) 鳥屋 実, 井上松久, 三橋 進: TMS-19-Qの細菌学的検討。 *Chemotherapy* 32 (S-6): 1~11, 1984
- 5) 出口浩一, 他: 新鮮臨床分離株のMacrolides耐性に関する検討。 *Jap. J. Antibiotics* 43: 2133~2141, 1990
- 6) 出口浩一: 耐性肺炎球菌感染症の治療法/その2。 *臨床科学* 31: 1428~1431, 1995
- 7) 諸星俊郎, 西野武志, 谷野輝雄: 新しいマクロライド系抗生物質 TMS-19-Qに関する細菌学的研究。 *Chemotherapy* 32 (S-6): 12~25, 1984
- 6) 小野武夫, 沼田和生, 井上松久, 三橋 進: 新マクロライド系抗生物質 TE-031に関する細菌学的検討。 *Chemotherapy* 36 (S-3): 1~34, 1988
- 9) 村岡宏昭, 小川正俊, 宮崎修一, 辻 明良, 金子康子, 五島 瑳智子: RU 28965の細菌学的評価。 *Chemotherapy* 36 (S-4): 18~34, 1988
- 10) 横井山繁行, 嵯峨井均, 鳥屋 実, 諸星俊郎, 山路真也, 早野和夫, 五島 瑳智子, 辻 明良, 小川正俊: 新マクロライド系抗生物質 TMS-19-Qの細菌学的検討。 *Chemotherapy* 32 (S-6): 26~36, 1988
- 11) 上野一恵, 武藤吉徳, 渡辺邦友: Rokitamycinの嫌気性菌に対する作用。 *化学療法の領域* 10: 1354~1362, 1994
- 12) William A C, Steven C E: Killing and regrowth of bacteria in vitro. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 74: 63~70, 1991

## Evaluation of bactericidal activity and postantibiotic effect of rokitamycin

Junko Miyamoto<sup>1)</sup>, Hironobu Koga<sup>1)</sup>, Kazunori Tomono<sup>1)</sup>, Shigeru Kohno<sup>1)</sup>,  
Kohei Hara<sup>1)</sup>, Akiko Aoki<sup>2)</sup> and Toshio Nishijima<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine,  
1-7-1 Sakamoto, Nagasaki, Japan

<sup>2)</sup>Chemical Research Institute for Life Science Research, Asahi Chemical Industry Co., Ltd.

Rokitamycin (RKM) was investigated in terms of bactericidal activity and PAE against clinically isolated bacteria consisting of one strain of *Staphylococcus aureus*, one strain of *Streptococcus pyogenes* and three strains of *Streptococcus pneumoniae* in comparison with reference antibiotics, clarithromycin (CAM), erythromycin (EM) and cefditoren (CDTR). RKM exhibited an antibacterial potency which was almost the same as that of EM against *S. aureus* and *S. pyogenes*, and superior to the other three antibiotics against penicillin-resistant *S. pneumoniae*. According to our investigation of bactericidal activity, RKM showed the strongest activity against the three kinds of bacteria tested. In addition, RKM showed PAE, which was somewhat shorter than those of CAM and EM against *S. aureus*, but almost as long against *S. pneumoniae* and longer against *S. pyogenes*, and longer than that of CDTR against all the strains of bacteria tested. In conclusion, RKM is evaluable as a highly useful antibiotic for the treatment of respiratory tract infections because of its excellent antibacterial potency against gram-positive bacteria including penicillin-resistant *S. pneumoniae* together, with its strong bactericidal activity and relatively long PAE among members of the new macrolide antibiotic family.