

【原著・基礎】

Mycoplasma pneumoniae に対する moxifloxacin, 他のニューキノロン系薬
および clarithromycin の抗菌活性

濱本久美子・藤本 直幸・張 暉・荒井 澄夫

久留米大学医学部細菌学講座*

(平成 12 年 5 月 18 日受付・平成 12 年 6 月 19 日受理)

New quinolone 系抗菌薬のうち, 新しく Bayer 製薬会社で開発された moxifloxacin および sparfloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin および macrolide 系薬剤の clarithromycin の *Mycoplasma pneumoniae* に対する抗菌活性を検討した。マイコプラズマ感染症の患者の咽頭ぬぐい液から分離された *M. pneumoniae* 100 株の分離年度別の内訳は 1986 年以前に分離された 39 株, 1986~1990 年までに分離された 24 株および 1991~1995 年までの 37 株でありこれらの株についてその感受性を, それぞれの薬剤の minimum inhibitory concentration (MIC), および minimum bactericidal concentration (MBC) を指標として測定した。new quinolone 抗菌薬のうち実験に供された薬剤の MIC, MBC は, ともに moxifloxacin がもっとも低い濃度で抗 *M. pneumoniae* 活性を示した。その MIC₅₀ および MBC₅₀ はそれぞれ, 0.08 μg/mL, 0.08 μg/mL であった。以下, 抗 *M. pneumoniae* の活性は sparfloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, の順でありその MIC₅₀ は 0.15 μg/mL, 0.6 μg/mL, 2.5 μg/mL であり, MBC₅₀ は 0.3 μg/mL, 1.25 μg/mL, 2.5 μg/mL また clarithromycin では MIC₅₀, MBC₅₀ はそれぞれ 0.008 μg/mL, 0.015 μg/mL であった。このことから moxifloxacin では, 強い抗 *M. pneumoniae* 活性を有し今後, 臨床での有用性が期待される。

Key words: *Mycoplasma pneumoniae*, new quinolone clarithromycin, minimum inhibitory concentrations (MIC), minimum bactericidal concentrations (MBC)

New quinolone 系抗菌薬は, グラム陽性菌, およびグラム陰性菌に抗菌活性を有することが広く知られているが¹⁻³⁾, われわれはこのような new quinolone 系抗菌薬が *Mycoplasma pneumoniae* に対して強い抗菌力を有することを *in vitro*, *in vivo* で明らかにしてきた⁴⁻⁶⁾。ところで, moxifloxacin (Bay 12-8039) は quinolone 系抗菌薬の新しい合成薬剤で, グラム陽性菌, およびグラム陰性菌に強い抗菌活性を示すことが明らかになっている⁷⁻⁹⁾。

本研究では呼吸器感染症から分離同定された *M. pneumoniae* に対する moxifloxacin を含む数種の new quinolone 系抗生物質の抗菌活性を検討するため, これら薬剤の *M. pneumoniae* に対する minimum inhibitory concentrations (MIC), minimum bactericidal concentrations (MBC) を指標として, これら薬剤の抗 *M. pneumoniae* 活性を検討した。

I. 材料と方法

1. *M. pneumoniae*

当教室で呼吸器感染症の患者の咽頭ぬぐい液から分離同定された, *M. pneumoniae* 44 株, および国立感染症研究所の佐々木次雄博士から分与を受けた 56 株, 計 100 株を用いた。

2. 使用薬剤

Moxifloxacin (Bay 12-8039, バイエル薬品), sparflox-

acin (SPFX, 大日本製薬), levofloxacin (LVFX, 第一製薬), ciprofloxacin (CPFX, バイエル薬品), macrolide 系抗生物質である clarithromycin (CAM, 大正製薬) を用いた。

3. *M. pneumoniae* 用培地

PPLO 寒天 (Difco) 培地 21 g を蒸留水 700 mL に溶解し, 121°C, 15 分間滅菌後, 56°C, 30 分間非働化した馬血清 200 mL および 25% イーストエキストラクト 100 mL を加え, さらに 0.002% フェノールレッドおよび 0.5% ブドウ糖を添加した培地を用いた。

4. 液体培地希釈法による MIC および MBC の測定
もっともデータの再現性の高い液体培地中での薬剤希釈法を用いた^{6,10,11)}。

すなわち, *M. pneumoniae* (10⁴CFU/mL) の浮遊液 25 μL に, 各種薬剤の 2 段階希釈液 75 μL 混合し, 96 穴マイクロタイタープレート (IWAKI, Microplate, Chiba) 中で, 7 日間培養し, その 10 μL をマイコプラズマ寒天培地に接種し, 36°C で 6 日間培養後, コロニーの数を 40 倍の顕微鏡下で算出した。コントロール(薬剤非添加)に比し, 99% のコロニーの減少を認めた薬剤の最大希釈濃度を MIC とし, また 99.9% のコロニーの減少を認めた薬剤の最大希釈濃度を MBC とした。被検株の 50% 以上の菌株の発育を阻止する最小濃度を,

*福岡県久留米市旭町 67

その薬剤のMIC₅₀値, MBC₅₀値とし, 90%以上の菌株の発育を阻止する最小濃度をMIC₉₀, MBC₉₀とした。

II. 結 果

1. *M. pneumoniae* 100株のMIC値

Table 1に各種薬剤の*M. pneumoniae* 100株に対するMIC値を示した。Moxifloxacin, SPFX, LVFX, CPFXのMIC₅₀はそれぞれ0.08 μg/mL, 0.15 μg/mL, 0.6 μg/mL, 2.5 μg/mLであり, またCAMのMIC₅₀は0.008 μg/mLであった。また, MIC₉₀はそれぞれ0.15 μg/mL, 0.6 μg/mL, 1.25 μg/mL, 2.5 μg/mL, 0.03 μg/mLであった。

2. *M. pneumoniae* 100株のMBC値

Table 1に各種薬剤の*M. pneumoniae* 100株に対するMBC値を示した。

Moxifloxacin, SPFX, LVFX, CPFX, CAMのMBC₅₀はそれぞれ0.08 μg/mL, 0.3 μg/mL, 1.25 μg/mL, 2.5 μg/mL, 0.015 μg/mLであった。

そのMBC₉₀は, それぞれ0.15 μg/mL, 1.25 μg/mL, 2.5 μg/mL, 2.5 μg/mL, 0.06 μg/mLであった。

以上のことから, 今回実験に供されたnew quinolone剤ではmoxifloxacinがもっとも強い抗*M. pneumoniae*活性を示し, 以下SPFX, LVFX, CPFXの順であった。しかし, CAMはこれらnew quinolone系薬剤より1/5~1/10低いMIC, MBC値を示した。

3. 分離年度別による*M. pneumoniae*感受性の比較

前述のごとく, 1986年以前に分離された39株, 1986~1990年に分離された24株および, 1991~1995年度に分離された37株のMIC, MBCの推移を比較した。Fig. 1に示すごとく, MICとMBCの比(MIC/MBC)が4倍以上認められた株はmoxifloxacinでは1986~1990年, 1991~1995年に分離された株のうちそれぞれ1株であったが, そのMIC, MBCはいずれも0.08 μg/mL, 0.3 μg/mLと低い値であった。SPFXでは1986年以前に分離された2株, 1986~1990年分離された1株および1991~1995年度分離された5株にMIC/MBCの比が4倍以上のものが認められた。そのMBC値は0.6~2.5 μg/mLの範囲内であり比較的低い値を示した。同様にLVFXでは1986~1990年の分離株に2株1991~1995年間の分離株に1株認められた。そのMBCの値は2.5

~20 μg/mLであった。CPFEXでは1986年以前に分離された1株で10 μg/mLを示したものが認められた。Clarithromycinでは1986~1990年間の分離株で1株, 1991~1995年度分離株で3株認められた。そのMBCの値は0.03~0.06 μg/mLであった。

III. 考 察

Moxifloxacin (Bay 12-8039)はグラム陽性菌, グラム陰性菌に抗菌活性を示す, 新しいmethoxyquinolone製剤である。その抗菌活性はSPFX, LVFXやCPFEXより強い⁷⁻⁹⁾。

今回のmoxifloxacin抗菌活性の実験成績では既存のSPFX, LVFX, CPFEXに比し, 強い*M. pneumoniae*活性を示した。また, MIC, MBCの比の開きも少なく本剤が殺菌的に作用していることを示した。

他方, Blondeau¹²⁾やFelmingham¹³⁾らは, *M. pneumoniae*のmoxifloxacinに対するMIC₅₀およびMIC₉₀の値を報告しているがその値は今回われわれが示したものと, ほぼ同じ値であった。

すでにわれわれや他の研究者はnew quinolone系抗菌剤が*M. pneumoniae*に対して殺菌的に作用することを明らかにしているが^{4-6, 14)}, new quinolone剤はmacrolideやtetracycline系抗生剤と異なる作用を有するため, macrolide系薬剤に対して耐性の*M. pneumoniae*にも有効に作用し, さらに*M. pneumoniae*感染に伴う混合感染にも有効に作用することが期待される。実際われわれはerythromycin耐性の*M. pneumoniae* 19株を誘導しnew quinolone薬剤に対する感受性を調べた⁴⁾。その結果erythromycin耐性*M. pneumoniae*もnew quinolone製剤に対して感受性を示した。また, new quinolone剤は肺組織や気管支腔内への移行がよいことから*M. pneumoniae*感染症に対しても有用性が高いと考えられる。

ところで以前より*M. pneumoniae*の感染症にmacrolideやtetracycline系抗生物質が広く用いられ, これらの薬剤の投与により, 臨床症状の軽減や, 咽頭からの菌の消失など, マイコプラズマ感染症に有効に作用することが報告されている¹⁵⁾。しかし, erythromycinやjosamycinに対する耐性菌の出現が報告され¹⁶⁾, またMIC値とMBC値との間に大きな差が認められ^{4, 5)}, 静

Table 1. Anti-*Mycoplasma pneumoniae* activity of new quinolones and clarithromycin

Drug	MIC			MBC		
	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	range	MBC ₅₀	MBC ₉₀
Moxifloxacin	0.04-0.3*	0.08	0.15	0.04-0.3	0.08	0.15
Sparfloxacin	0.08-2.5	0.15	0.6	0.08-2.5	0.3	1.25
Levofloxacin	0.6-5	0.6	1.25	0.6-20	1.25	2.5
Ciprofloxacin	0.6-10	2.5	2.5	0.6-20	2.5	2.5
Clarithromycin	0.008-0.5	0.008	0.03	0.008-1.0	0.015	0.06

*μg

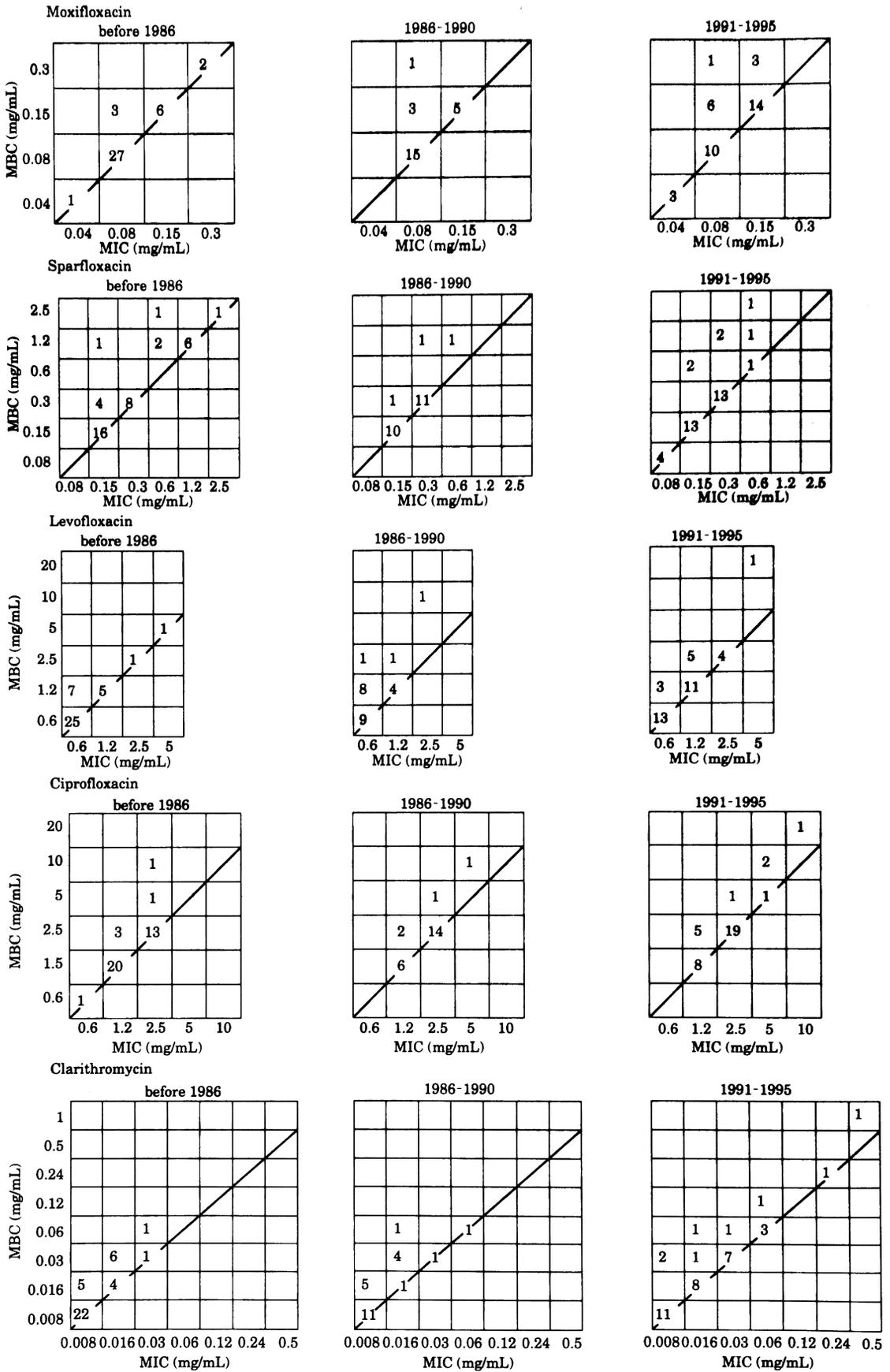


Fig. 1. MICs and MBCs of drugs for individual strains.

菌的に作用していることが明らかにされている。一方、一般の細菌に対して殺菌的に作用する β -lactam系抗生物質は*M. pneumoniae*に対してはまったく抗菌活性を示さないことから、new quinolone系薬剤は*M. pneumoniae*に殺菌的に作用する抗菌薬剤として、位置づけられよう。化学療法におけるMBCの意義については、種々の報告がある。細菌性心内膜炎や細菌性髄膜炎における化学療法にはMICとともにMBC値によりその投与薬剤を選択することが重要であり、またTuomanenは増殖の遅い細菌感染症では化学療法のMBC値がその臨床効果に密接に反映していることを報告している¹⁷⁾。これらの報告は薬剤の抗mycoplasma効果を検討する場合MICとともにMBCの測定が重要であることを示唆している。

今回の報告に見られるようにmoxifloxacinはnew quinolone薬剤のうちもっとも強い抗*M. pneumoniae*活性を保存するといってもよい。今後は本剤の抗*M. pneumoniae*活性を動物感染実験系や、実際の臨床の場でその効果を検討する必要がある。

文 献

- 1) Barry A L, Fuchs P C, Brown S D: In vitro activities of five fluoroquinolone compounds against strains of *Streptococcus pneumoniae* with resistance to other antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 2431~2433, 1996
- 2) Hyatt J M, Nix D E, Stratton C W, et al.: In vitro pharmacodynamics of piperacillin, piperacillin-tazobactam, and ciprofloxacin alone and in combination against *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 1711~1716, 1995
- 3) Azoulay-Dupuis E, Bedos J P, Vallee E, et al.: Antipneumococcal activity of ciprofloxacin, ofloxacin and temafloxacin in an experimental mouse pneumonia model at various stages of the disease. *J. Infect. Dis.* 163: 319~324, 1991
- 4) Gohara Y, Arai S, Akashi A, et al.: In vitro and in vivo activities of Q-35, a new fluoroquinolone, against *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 1826~1830, 1993
- 5) Arai S, Gohara Y, Kuwano K, et al.: Antimycoplasmal activities of new quinolones, tetracyclines, and macrolides against *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 1322~1324, 1992
- 6) Arai S, Gohara Y, Akashi A, et al.: Effects of new

quinolones on *Mycoplasma pneumoniae* infected hamsters. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 287~292, 1993

- 7) Dalhoff A, Petersen U, Endermann R: In vitro activity of BAY 12-8039, a new 8-methoxyquinolone. *Chemother.* 42: 410~425, 1996
- 8) Angela B B, Kari C K, Gary V D: In vitro activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 1594~1597, 1997
- 9) Boswell F J, Andrews J M, Wise R: Pharmacodynamic properties of BAY 12-8039 on gram-positive and gram-negative organisms as demonstrated by studies of time-kill kinetics and postantibiotic effect. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 1377~1379, 1997
- 10) Taylor P C, Schoenknecht F D, Sherris J C, et al.: Determination of minimum bactericidal concentrations of oxacillin for *Staphylococcus aureus*: influence and significance of technical factors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 23: 142~150, 1983
- 11) Pearson R D, Steigbigel R T, Davis H T, et al.: Method for reliable determination of minimal lethal antibiotic concentrations. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18: 699~708, 1980
- 12) Blondeau J M: A review of the comparative in-vitro activities of 12 antimicrobial agents, with a focus on five new 'respiratory quinolones'. *J. Antimicrob. Chemoth.* 43: suppl B, 1~11, 1999
- 13) Felmingham D, Robbins M J, Leakey A, et al.: In vitro activity of moxifloxacin (BAY 12-8039), a novel 8-methoxyquinolone, compared with ofloxacin and other antibiotics. *Moxifloxacin in practice.* 1: 27~37, 1999
- 14) Cassell G H, Waites K B, Pate M S, et al.: Comparative susceptibility of *Mycoplasma pneumoniae* to erythromycin, ciprofloxacin, and lomefloxacin. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 12: 433~435, 1989
- 15) Wenzel R P, Hendley J O, Dodd W K, et al.: Comparison of josamycin and erythromycin in the therapy of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10: 899~901, 1976
- 16) Niitsu Y, Hasegawa S, Suetaka T, et al.: Resistance of *Mycoplasma pneumoniae* to erythromycin and other antibiotics. *J. Pediatr.* 76: 438~443, 1970
- 17) Tuomanen E: Phenotypic to levauce: the search for β -lactam antibiotics that kill nongrowing bacteria. *Rev. Infect. Dis.* 8 (suppl.3): s 279~s 291, 1986

Anti *Mycoplasma pneumoniae* activities of new quinolones, including moxifloxacin,
a new compound of new quinolones and clarithromycin

Kumiko Hamamoto, Naoyuki Fujimoto, Ye Zhang
and Sumio Arai

Department of Bacteriology, Kurume University School of Medicine, 67 Asahimachi, Kurume,
Fukuoka 830-0011, Japan

We tested 100 strains of *Mycoplasma pneumoniae* for susceptibility to moxifloxacin, a new quinolone compound, using sparfloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, and clarithromycin as references. Among the 100 strains of *M. pneumoniae* isolated from throat swabs of patients with respiratory infectious disease, 39 strains were isolated prior to 1986, 24 strains between 1986–1990, and 37 strains between 1991–1995. The susceptibility of these strains to the above antimicrobial agents was determined by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Of the new quinolones, moxifloxacin was the most active against these organisms, with MIC₅₀ of the drug 0.08 µg/mL and MBC₅₀ 0.08 µg/mL. The MIC₅₀s of sparfloxacin, levofloxacin, and ciprofloxacin were 0.15 µg/mL, 0.6 µg/mL, and 2.5 µg/mL. The MBC₅₀s of these drugs were 0.3 µg/mL, 1.25 µg/mL, and 2.5 µg/mL. The MIC₅₀ of clarithromycin was 0.008 µg/mL, and the MBC₅₀ was 0.015 µg/mL. These results indicate that moxifloxacin possesses a high potentiality of anti-*M. pneumoniae* activity and is a promising antibiotic in the treatment of mycoplasmal infections.