

## 【原著・基礎】

注射用 pazufloxacin と ciprofloxacin のヒト血清中濃度シミュレーションモデルを用いた *Staphylococcus aureus* の耐性化に関する検討祖川 由美<sup>1)</sup>・四辻 彰<sup>2)</sup>・満山 順一<sup>1)</sup>・山口 恵三<sup>3)</sup><sup>1)</sup>富山化学工業株式会社総合研究所\*, <sup>2)</sup>同 医薬営業部医薬情報室,<sup>3)</sup>東邦大学医学部微生物学教室

(平成 15 年 4 月 23 日受付・平成 15 年 5 月 8 日受理)

ヒト常用量点滴静注時の血清中濃度シミュレーションモデルを用いて, *Staphylococcus aureus* トポイソメラーゼⅣ変異株の pazufloxacin (PZFX) および ciprofloxacin (CPFX) に対する耐性化の検討を行い, 以下の結果を得た。

1) PZFX 注射薬 [PZFX mesilate] 500 mg, CPFX 注射薬 [CPFX hydrochloride] 300 mg 点滴静注時の血清中濃度を再現したシミュレーションモデルにおいて, PZFX 注射薬は AUC/MIC および C<sub>max</sub>/MIC を反映し, CPFX 注射薬より強い殺菌効果を示した。

2) CPFX を用いたシミュレーションモデルにおいて, 開始 24 時間後の菌液のポピュレーション解析を行ったところ, 1~4 μg/mL と 10~40 μg/mL の濃度に, 耐性ポピュレーションが認められた。しかし, PZFX を用いたシミュレーションモデルにおいては, 開始 24 時間後の菌液では, 明らかな耐性ポピュレーションは認められなかった。

3) CPFX を用いたシミュレーションモデルにおいて, 開始 24 時間後の菌液より分離された株に対する CPFX の MIC は 2~32 倍に上昇し, MIC が 4 倍以上上昇した株すべてにおいて DNA ジャイレースに新たな変異が認められた。しかし, PZFX を用いた場合, シミュレーションモデル開始 24 時間後の菌液より分離された株に対する PZFX の MIC はシミュレーション開始前と同値であり, DNA ジャイレース, トポイソメラーゼⅣのいずれにも新たな変異は認められなかった。

**Key words:** 注射用ニューキノロン薬, シミュレーションモデル, 耐性化, pazufloxacin, ciprofloxacin

ニューキノロン系抗菌薬は, β-ラクタム薬やアミノグリコシド薬と比較して広い抗菌スペクトルと強い抗菌作用を有し, 経口投与においても良好な体液および組織移行性を示すことから, 臨床においても各科領域の感染症治療薬として使用され, 高い評価が得られている<sup>1)</sup>。また, キノロン薬の作用機序は細菌の DNA トポイソメラーゼ (トポイソメラーゼⅣ, DNA ジャイレース) 阻害に伴う DNA 合成阻害であり, 作用機序の異なる β-ラクタム薬やアミノグリコシド薬の耐性菌に対しても強い抗菌活性を有する<sup>1)</sup>。

欧米では, ニューキノロン薬は経口薬の他に注射薬としても ciprofloxacin (CPFX), ofloxacin, levofloxacin などが臨床的に使用されており, 経口投与不能な患者や重症ならびに慢性の疾患に対する高い有用性が報告されている<sup>2)</sup>。しかし, 本邦での注射用ニューキノロン薬開発は海外より遅れ, 2000 年に CPFX 注射薬が上市された。CPFX 注射薬は, 適応症が狭く, 中枢系に対する副作用などが懸念されることから<sup>3)</sup>, β-ラクタム薬と同等の安全性を有する注射用キノロン薬が望まれていた。

このような背景下, pazufloxacin (PZFX) 注射薬

[pazufloxacin mesilate] は, キノロン薬特有の副作用を軽減させ, 安全で使いやすい注射用キノロン薬として, 富山化学工業株式会社で創製, 富山化学工業株式会社と三菱ウェルファーマ株式会社で共同開発された。PZFX 注射薬は, 投与後高い血中濃度を示し, 短い半減期で血中より速やかに消失する体内動態の性質に加え<sup>4)</sup>, *in vitro* で *Staphylococcus aureus* を耐性化させにくい性質を有している<sup>5)</sup>。しかし, この性質は一定濃度の薬物を作用させた場合の結果であり, 生体内での薬物濃度推移を反映したものではない。そこで今回, われわれは, ヒト血清中濃度シミュレーションモデルを用い, PZFX 注射薬の *S. aureus* の耐性化について同系類薬である CPFX 注射薬と比較したので報告する。

## I. 実験材料および方法

### 1. 使用菌株

菌株は, DNA トポイソメラーゼⅣ (トポⅣ) 変異株である *S. aureus* CR-3 (*gria* Ser<sup>80</sup>→Phe)<sup>6)</sup>を用いた。この株は, キノロン感受性株である *S. aureus* SA 113<sup>7)</sup> に CPFX を作用させて得た株である。なお, 日本化学療法学会標準法に準じて微量液体希釈法<sup>8)</sup>により測定し

\*富山県富山市下奥井 2-4-1

た *S. aureus* CR-3 に対する両薬剤の MIC は、PZFX で  $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、CPFX で  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  である。

## 2. 使用薬剤

PZFX および CPFX は富山化学工業株式会社総合研究所合成品を用いた。両薬剤は  $0.1 \text{ mol}/\text{L}$  NaOH で溶解し、培養液で所定の濃度に希釈して用いた。

## 3. 試験方法

### 1) 血清中濃度シミュレーションシステム

#### (1) シミュレーションモデルの設定

血清中濃度シミュレーションは、オートシミュレーションシステム (PASS-400, 大日本精機) を用いて行った。本実験では、ヒト常用量点滴静注時のモデルとして、PZFX 注射薬  $500 \text{ mg}$  を 1 日 1 回または 1 日 2 回 (12 時間間隔) 30 分間で点滴静注した場合ならびに CPFX 注射薬  $300 \text{ mg}$  を 1 日 1 回または 1 日 2 回 (12 時間間隔) 1 時間で点滴静注した場合の血清中濃度推移を設定した。各モデルの設定には、ヒト第 I 相臨床試験単回投与時の結果から算出された薬動学的パラメータを使用した<sup>4,9)</sup>。

#### (2) 殺菌作用の検討

$37^\circ\text{C}$  で一夜培養した Mueller-Hinton agar (MHA) 平板上の *S. aureus* CR-3 を最終菌量が  $10^7 \text{ CFU}/\text{mL}$  相当となるように Mueller-Hinton broth (MHB) に懸濁し、シミュレーションモデル開始時の菌液とした。シミュレーション開始 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 12.5, 13, 14, 16, 20 および 24 時間後にサンプリングし、適宜希釈後、その一定量を MHA 平板上に塗布した。 $37^\circ\text{C}$  で一夜培養後、寒天平板上のコロニー数を測定し系外に排出される菌数を補正して生菌数を算出した。

### 2) 薬剤感受性変化の検討

#### (1) 薬剤感受性測定

日本化学療法学会の MIC 測定法に準じ、微量液体希釈法により MIC を測定した<sup>8)</sup>。なお感受性測定用培地には、MHB にカルシウムイオンおよびマグネシウムイオンを添加したカチオン調整培地を使用した。

#### (2) ポピュレーション解析

シミュレーション開始 24 時間後の菌液を適宜希釈後、薬剤非含有 MHA 平板および PZFX  $0.05 \sim 100 \mu\text{g}/\text{mL}$  あるいは CPFX  $0.1 \sim 100 \mu\text{g}/\text{mL}$  を含有した MHA 平板に塗布した。 $37^\circ\text{C}$  で 72 時間培養後、寒天平板上のコロニー数を測定した。各薬剤濃度において、薬剤作用時の菌数 (log 値) から薬剤非作用時の菌数 (log 値) を減じ、分離頻度とした。なお、菌量が  $10^8 \text{ CFU}/\text{mL}$  に達しない菌液については、 $37^\circ\text{C}$  で一夜培養し、試験に供した。シミュレーション開始前の菌株についても同様の試験を行った。

#### (3) DNA ジャイレースおよびトポIVの quinolone-resistance-determining region (QRDR) 部位の塩基配列解析

ポピュレーション解析時に薬剤含有寒天平板上で分離された菌の *gyrA* および *grlA* の QRDR 部位を Premix Taq (Ex Taq Version) (TaKaRa PR 003) および TaKaRa PCR Thermal Cycler TP 2000 (TaKaRa) を用いて、polymerase chain reaction 法により増幅し、DSQ-1000 DNA シークエンサー (島津製作所) を用いて塩基配列を解析した。使用プライマーは以下のとおりである。

*gyrA*: 5'-TACCTCAATCAAGAATAAATGAACG-3' (塩基 2161-2185) および 5'-CCACGTAGTCCATAGCGCCATCCATA-3' (塩基 2661-2686)。

*grlA*: 5'-CACTTGAAGATGTTTTAGGTGATCGC-3' (塩基 2401-2426) および 5'-CCATATAGACG-

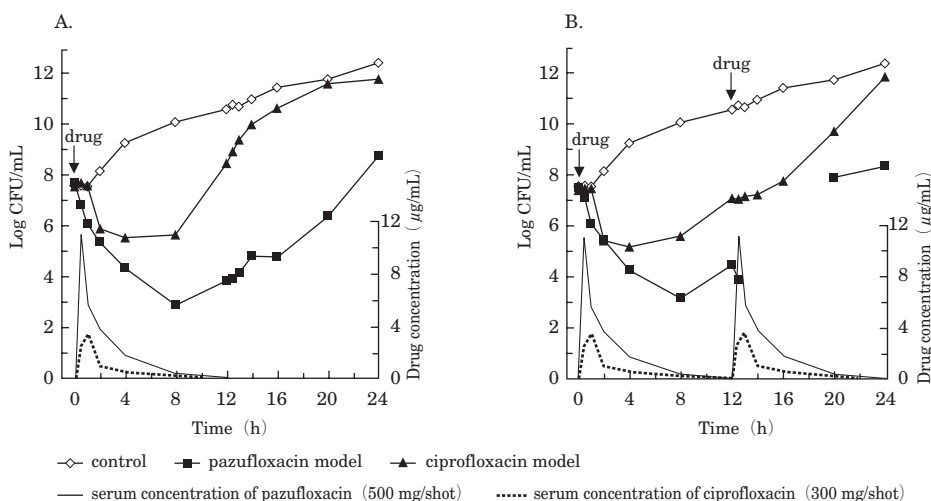


Fig. 1. Simulated serum concentration and bactericidal activity of pazufloxacin and ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* CR-3 in a simulation model.

A: 1 shot d.i., B: 2 shot d.i., every 12 h

TCCAATGCGCTGTC-3' (塩基 2883-2907)。

## II. 結 果

### 1. シミュレーションモデルにおける殺菌

各薬剤の1回投与および2回投与時のシミュレーションモデルにおける生菌数変化を Fig. 1 に示す。薬剤無添加での生菌数はシミュレーション開始後から4時間後まで急激に、その後は緩やかに増加した。

CPFX モデルにおいて、シミュレーション開始後殺菌効果が認められ、生菌数は2時間後では接種時より約 1.5 log CFU/mL 減少した。2~8時間後の生菌数はほぼ一定であり、その後再増殖した。2回投与モデルにおいては、2回目の投与による明確な生菌数の減少は認められず、24時間後まで生菌数は増加した。

PZFX モデルにおいて、シミュレーション開始後殺菌効果が認められ、生菌数は8時間後では接種時より約 5 log CFU/mL 減少した。しかし、その後再増殖が認められた。2回投与モデルでは、2回目投与後1, 2, 4時間の生菌数は検出限界以下であったが、その後再増殖が認められた。

### 2. シミュレーション開始24時間後の菌液のポピュレーション解析

各シミュレーション開始前および24時間後の菌液を用いて、ポピュレーション解析を行った (Fig. 2)。

シミュレーション開始前は、CPFX 0.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上でコロニーの分離頻度は濃度依存的に減少し、6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上ではコロニーは検出されなかった。

CPFX 1回投与モデルの場合、CPFX 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  まではコロニーの分離頻度が減少したが、1~4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  および7~30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でコロニーの分離頻度はプラトーとなり、コロニーが検出されなくなる濃度は40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  に上昇した。CPFX 2回投与モデルの場合、この傾向はさ

らに顕著となり、CPFX 1~4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  および10~30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  のコロニー数は1回投与の場合より約 2.5 log 多く、コロニーが検出されなくなる濃度は60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  に上昇した。

一方 PZFX の場合、シミュレーション開始前では、コロニーの分離頻度は PZFX の濃度に依存して減少し、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上ではコロニーは検出されなかった。

PZFX 1回および2回投与モデルの場合、PZFX 0.1~1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でシミュレーション開始前と比較してコロニーの分離頻度のわずかな増加が認められたが、コロニーが検出されなくなる薬剤濃度は同値であった。また、この濃度域で観察されたコロニーは生育の遅い微小コロニー形成株であった。

ポピュレーション解析の結果、ポピュレーションが変化していた濃度域より無作為に4コロニー抽出し、*gyrA*, *griA* の QRDR 部位塩基配列を決定するとともに、PZFX, CPFX に対する MIC を測定した (Table 1)。CPFX モデルでは、1回投与の場合、0.6 および 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2回投与の場合、5 および 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  含有平板上のコロニーを、PZFX モデルでは1回投与の場合、0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2回投与の場合、0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  含有平板上のコロニーを用いた。

CPFX モデルの場合、1回投与 0.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  分離株では、4株中1株に新たなアミノ酸変異 *gyrA* Ser<sup>85</sup>→Pro が認められ、CPFX の MIC は 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であり、シミュレーション開始前 (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の4倍の値を示した。1回投与 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  分離株では4株すべてに、アミノ酸変異 *gyrA* Ser<sup>84</sup>→Leu が認められ、CPFX の MIC は 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

同様に、2回投与 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  分離株では、4株中2株にアミノ酸変異 *gyrA* Ser<sup>84</sup>→Leu が認められ、残り2株

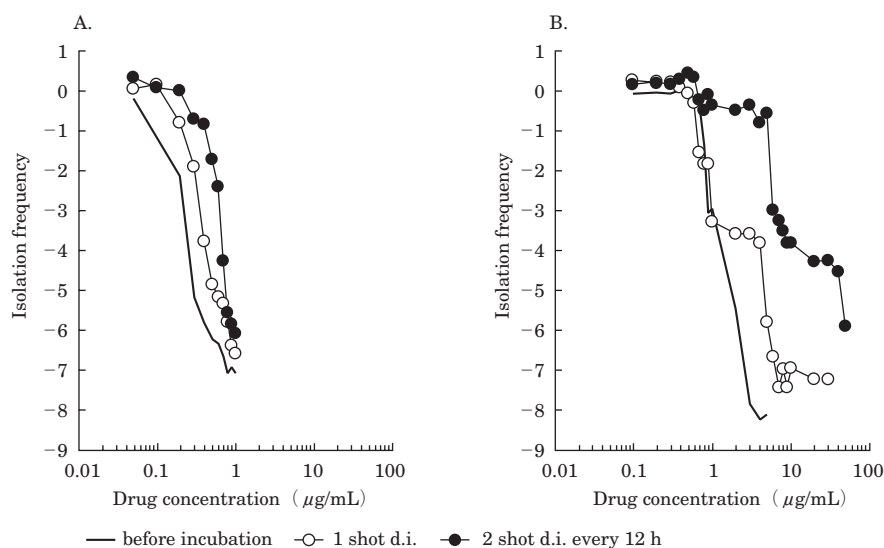


Fig. 2. Population analysis using culture broth of *Staphylococcus aureus* CR-3 before and after the pazufloxacin (A) or ciprofloxacin (B) simulation model.

Table 1. Profiles of isolates from culture broth of pazufloxacin or ciprofloxacin in a simulation model

| Strain or origin of isolates <sup>a)</sup>    | Isolation concentration (μg/mL) | Number of isolates | MIC (μg/mL) <sup>b)</sup> |      | Amino acid change      |                        |
|-----------------------------------------------|---------------------------------|--------------------|---------------------------|------|------------------------|------------------------|
|                                               |                                 |                    | PZFX                      | CPFX | <i>gyrA</i>            | <i>griA</i>            |
| CR-3 (Parent)                                 | —                               | —                  | 0.5                       | 2    | none                   | Ser <sup>80</sup> →Phe |
| PZFX 500 mg 1 shot d. i.                      | 0.1                             | 4                  | 0.5                       | 2    | none                   | Ser <sup>80</sup> →Phe |
| PZFX 500 mg 2 shot d. i. q 12 h <sup>c)</sup> | 0.2                             | 4                  | 0.5                       | 2    | none                   | Ser <sup>80</sup> →Phe |
| CPFX 300 mg 1 shot d. i.                      | 0.6                             | 3                  | 0.5                       | 4    | none                   | Ser <sup>80</sup> →Phe |
|                                               | 0.6                             | 1                  | 2                         | 8    | Ser <sup>85</sup> →Pro | Ser <sup>80</sup> →Phe |
| CPFX 300 mg 1 shot d. i.                      | 4                               | 4                  | 16                        | 16   | Ser <sup>84</sup> →Leu | Ser <sup>80</sup> →Phe |
| CPFX 300 mg 2 shot d. i. q 12 h <sup>c)</sup> | 5                               | 2                  | 32                        | 16   | Ser <sup>84</sup> →Leu | Ser <sup>80</sup> →Phe |
|                                               | 5                               | 2                  | 16                        | 16   | Glu <sup>88</sup> →Lys | Ser <sup>80</sup> →Phe |
| CPFX 300 mg 2 shot d. i. q 12 h <sup>c)</sup> | 40                              | 4                  | 32                        | 64   | Ser <sup>84</sup> →Leu | Ser <sup>80</sup> →Phe |

PZFX: pazufloxacin, CPFX: ciprofloxacin

<sup>a)</sup>Four strains were used for MIC determination and QRDR sequences.

<sup>b)</sup>MICs were determined by microdilution.

<sup>c)</sup>q 12 h, every 12 h.

には *gyrA* Glu<sup>88</sup>→Lys が認められた。CPFX の MIC はいずれの株も 16 μg/mL であった。2 回投与 40 μg/mL 分離株では 4 株すべてに、アミノ酸変異 *gyrA* Ser<sup>84</sup>→Leu が認められ、CPFX の MIC は 64 μg/mL であった。

CPFX モデル開始 24 時間後の菌液より分離された株については、CPFX 4 μg/mL 以上の濃度で分離されたすべての株で、薬剤感受性の低下と新たなアミノ酸変異の獲得が認められた。

一方、PZFX モデルの場合、1 回投与 0.1 μg/mL 分離株および 2 回投与 0.2 μg/mL 分離株の PZFX に対する MIC はいずれも 0.5 μg/mL であり、シミュレーション開始前と同値であった。また、これらの株の *gyrA* および *griA* の QRDR 部位には、新たな変異は認められなかった。

### III. 考 察

*S. aureus* のキノロン耐性化の歴史は比較的浅く、1986 年に Foster ら<sup>10)</sup>が *in vitro* で norfloxacin 耐性株を、また臨床からは 1989 年に Shalit ら<sup>11)</sup>が ofloxacin と CPFX に耐性の株を分離した報告が最初である。以後、*S. aureus* のキノロン耐性化は急激に進行し、今日では MRSA については臨床分離株の 80~90% が、キノロン薬に耐性を示すことが報告されている<sup>12,13)</sup>。

キノロン薬の標的酵素はトポIVならびに DNA ジャイレースであるが、*S. aureus* に対する従来のキノロン薬の第一標的酵素はトポIVであることが知られている<sup>14)</sup>。*S. aureus* では、トポIVが変異することにより、MIC は 2~8 倍上昇し<sup>15)</sup>、さらに DNA ジャイレースの変異が加わることで、元株の 32~64 倍以上に MIC が上昇した高度耐性株が選択されることが報告されている<sup>15)</sup>。トポIVならびに DNA ジャイレースの両酵素が変異した高度耐性株の MIC は、通常の投与量での生体内到達濃度を越えており、既存のキノロン薬での治療は困難であることから、今後はトポIV変異株のさらなる高度耐性化を抑

制することが重要であると考えられる。そこで今回、われわれは *S. aureus* のトポIV変異株を用い、新規注射用キノロン薬である PZFX 注射薬の殺菌作用ならびに耐性菌の選択頻度を、ヒト常用量点滴静注時における血清中濃度を再現したシミュレーションモデルを用いて検討し、類薬である CPFX 注射薬と比較した。

ヒト常用量の 1 回ならびに 2 回投与時の血清中濃度を再現し、CPFX 注射薬と PZFX 注射薬の殺菌効果を比較したところ、いずれの条件においても PZFX 注射薬は CPFX 注射薬より強い殺菌効果を示した。使用した株に対する PZFX および CPFX の MIC はそれぞれ 0.5 および 2 μg/mL であること、また PZFX 注射薬は投与後に CPFX 注射薬の約 3 倍の C<sub>max</sub> および AUC を示す<sup>4,9)</sup>ことから、*in vitro* の抗菌活性に加え、投与初期の高い血清中濃度ならびに AUC の大きさが殺菌効果に反映したと考えられた。

各モデルの 24 時間後の菌液のポピュレーションを解析したところ、CPFX モデルにおいて、ポピュレーションに変化が見られ、1~4 μg/mL と 10~40 μg/mL に耐性ポピュレーションが出現した。シミュレーション開始 24 時間後の菌液から分離された株について *gyrA* および *griA* の QRDR 部位の塩基配列を決定したところ、多数の株が *gyrA* Ser<sup>84</sup>→Leu のアミノ酸変異を獲得していた。一部の株では、同じアミノ酸変異を獲得しているにもかかわらず、異なる MIC 値を示す株が存在した。これらの株の *gyrB* および *griB* の QRDR 部位塩基配列を調べたところ、いずれの株についても変異は認められなかった(データ未提示)ことから、これらの株の MIC の違いは標的酵素の変異によるものではなく、膜透過性の低下、薬剤排出の亢進などの影響が考えられた。一方、PZFX モデルでは、ポピュレーションはやや高濃度側にシフトしたが、その変化は CPFX モデルに比べてわずかであり、高濃度側のポピュレーションの多くを

占めていたのは微小コロニー形成株であった。また、シミュレーション開始 24 時間後の菌液から分離された株について *gyrA* および *grlA* の QRDR 部位の塩基配列を決定したが、新たな変異は認められなかった。

PZFX は、トポIVおよび DNA ジャイレースの両酵素を同程度に阻害する dual target の薬物であることが報告されており、このような薬剤は、他のキノロン薬と比較して耐性化を起しにくいと考えられている<sup>16)</sup>。また、これまでにわれわれは、*S. aureus* SA 113 に 1 MIC の各種キノロン薬を作用させ、24 時間後に再増殖した菌の耐性化について検討したところ、CPFX では 1 回の作用でトポIVに変異が生じ、さらにこの株に CPFX を作用させると DNA ジャイレースにも変異が生じるのに対し、PZFX 作用時には生育が遅く、トポIV、DNA ジャイレースのいずれにも変異がない微小コロニー形成株が出現することを報告している<sup>6)</sup>。

今回の血清中濃度シミュレーションモデルを用いた検討においても、一定濃度作用時と同様に PZFX 注射薬と CPFX 注射薬では *S. aureus* トポIV変異株の耐性化には大きな差が認められ、また PZFX シミュレーション終了時には微小コロニー形成株の出現が認められた。しかし、PZFX 注射薬は CPFX 注射薬と異なる体内動態を示すことから、体内動態の違いも耐性化の程度に関与する可能性も考えられる。体内動態と耐性化の関連については、今後詳細な検討を行ってきたい。

以上、PZFX 注射薬はヒト血清中濃度シミュレーションモデルにおいて、*S. aureus* トポIV変異株に対して CPFX 注射薬より強い殺菌効果を示し、さらに高度耐性菌を出現させなかったことから、耐性菌出現抑制を考慮した抗菌化学療法において有用な選択肢となり得ると期待される。

なお、この論文の要旨は第 49 回日本化学療法学会東日本支部総会において発表し、座長推薦を受けたものである。

#### 文 献

- 1) Vincent T A: The quinolones (Third edition), Academic Press, 2000
- 2) Hooper D C: Quinolone antimicrobial agents (Second edition), American Society for Microbiology, Washinton, D.C., 1993
- 3) Domagala J M: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J Antimicrob Chemother* 33: 685~706, 1994
- 4) 中島光好, 梅村和夫, 小菅和仁, 他: Pazufloxacin 注射薬の臨床第 I 相試験. *日化療会誌* 47 (S-1): 141~175, 1999
- 5) 満山順一, 高畑正裕, 山城芳子, 他: Pazufloxacin 注射薬の細菌学的検討. *日化療会誌* 47 (S-1): 37~64, 1999
- 6) Mitsuyama J, Yamada H, Maehana J, et al.: Characteristics of quinolone-induced small colony variants in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 39: 697~705, 1997
- 7) Iordanescu S, Surdeanu M: Two restriction and modification systems in *Staphylococcus aureus* NCTC 8325. *Journal of General Microbiology* 96: 277~281, 1976
- 8) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法改定委員会: 微量液体希釈法による MIC 測定法 (微量液体希釈法)—日本化学療法学会標準法—. *Chemotherapy* 38: 102~105, 1990
- 9) 東 純一, 山本 勇, 瀬戸米蔵, 他: Ciprofloxacin 注射剤 (BAY q 3939) の薬物動態の検討. *基礎と臨床* 31: 2701~2725, 1997
- 10) Foster J K, Lentino J R, Strodman R, et al.: Comparison of *in vitro* activity of quinolone antibiotics and vancomycin against gentamicin- and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by time-kill kinetic studies. *Antimicrob Agents Chemother* 30: 823~827, 1986
- 11) Shalit I, Berger S A, Gorea A, et al.: Widespread quinolone resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a general hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 593~594, 1989
- 12) 山口恵三, 大野 章, 榎谷聡子, 他: 日本国内 24 施設から分離された臨床分離 4,993 菌株のフルオロキノロン系抗菌薬を中心とした各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *Jpn J Antibiot* 52: 75~92, 1999
- 13) 藤上良寛, 桑原正雄, 室木邦生, 他: 広島市内 8 施設より分離された臨床分離株のニューキノロン剤を中心とした主要経口抗菌薬に対する薬剤感受性成績. *Jpn J Antibiot* 53: 409~421, 2000
- 14) Drlica K, Zhao X: DNA gyrase, topoisomerase IV, and 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev* 61: 377~392, 1997
- 15) Tanaka M, Wang T, Onodera Y, et al.: Mechanism of quinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Infect Chemother* 6: 131~139, 2000
- 16) Takei M, Fukuda H, Kishii R, et al.: Target preference of 15 quinolones against *Staphylococcus aureus*, based on antibacterial activities and target inhibition. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 3544~3547, 2001

Development of quinolone resistance in *Staphylococcus aureus* using a model simulating the serum level after drip infusion of injectable quinolone, pazufloxacin mesilate, or ciprofloxacin hydrochloride

Yoshimi Sogawa<sup>1)</sup>, Akira Yotsuji<sup>2)</sup>, Junichi Mitsuyama<sup>1)</sup>  
and Keizo Yamaguchi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., 2-4-1, Shimookui, Toyama 930-8508, Japan

<sup>2)</sup>Sales Information Department, Toyama Chemical Co., Ltd.

<sup>3)</sup>Department of Microbiology, Toho University School of Medicine

We studied the development of resistance to pazufloxacin (PZFX) and ciprofolxacin (CPFX) in *Staphylococcus aureus* using a model simulating the serum level after drip infusion of PZFX mesilate and CPFX hydrochloride in humans, obtaining the following results:

- 1) In the model simulating the serum level after drip infusion of PZFX mesilate (500 mg) or CPFX hydrochloride (300 mg), PZFX mesilate showed greater bactericidal activity, reflected AUC/MIC and  $C_{max}/MIC$ .
- 2) From the population analysis using culture broth after the CPFX simulation model, CPFX-resistant subpopulations were detected at concentrations of 1–4  $\mu g/mL$  and 10–40  $\mu g/mL$ . No obvious PZFX-resistant subpopulations were detected in the PZFX simulation model.
- 3) MICs of CPFX against isolates from culture broth after the CPFX simulation model increased 4- to 32-fold and additional amino acid changes were seen in DNA gyrase in isolates with MICs increased over 4-fold. No differences were in seen MICs between isolates from culture broth after the PZFX simulation model and the parent strain and no additional amino acid changes were seen in either DNA gyrase or topoisomerase IV.