

小児における肺炎および中耳炎の分離菌に対する tosufloxacin tosilate hydrate の  
*in vitro* および *in vivo* 抗菌活性

福田 淑子・杉浦 陽子・久田 晴美・大懸 直子  
伊東 優子・高畑 正裕・満山 順一

富山化学工業株式会社総合研究所\*

(平成 22 年 4 月 21 日受付・平成 22 年 8 月 23 日受理)

小児における肺炎および中耳炎の主要原因菌である *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* および *Moraxella catarrhalis* に対する tosufloxacin (TFLX) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性を検討し、以下の成績を得た。

1. 小児由来臨床分離 penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP), penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (PISP) および penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) に対する TFLX の MIC<sub>90</sub> はいずれも 0.25 μg/mL で, levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin および norfloxacin の 1/64~1/4, cefditoren, cefdinir および cefcapene (CFPN) の 1/64~1/2, clavulanic acid/amoxicillin (1:14) の 1/8~4 倍, azithromycin (AZM) の <1/512 であった。

2. 小児由来臨床分離 β-lactamase-negative ampicillin-susceptible (BLNAS) および β-lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) に対する TFLX の MIC<sub>90</sub> はともに 0.0078 μg/mL であり, 他のキノロン系薬の 1/8~同程度, β-ラクタム系薬の 1/2,048~1/16, AZM の 1/256 であった。

3. 小児由来臨床分離 *M. catarrhalis* に対する TFLX の MIC<sub>90</sub> は 0.0156 μg/mL で, 比較薬中最も低かった。

4. TFLX は PRSP に対し 1 MIC (0.125 μg/mL) 以上で, BLNAR に対し 2 MIC (0.0156 μg/mL) 以上で殺菌的作用を示した。

5. TFLX の 4~16 MIC 作用時における *S. pneumoniae* および *H. influenzae* の自然耐性菌出現頻度は, それぞれ, <9.3×10<sup>-10</sup> および <8.4×10<sup>-10</sup> で, LVFX と同様に低かった。

6. Sub-MIC 濃度の各薬物存在下で *S. pneumoniae* および *H. influenzae* を 7 回継代した時の TFLX の MIC 上昇は 1~2 倍で, LVFX と同程度であった。

7. *S. pneumoniae* および *H. influenzae* における TFLX の mutant prevention concentration は 0.4 および 0.07 μg/mL で, LVFX (1 および 0.1 μg/mL) と同程度若しくは低かった。

8. PRSP によるマウス肺炎モデルにおける TFLX 投与群の肺内生菌数は <4.22 Log<sub>10</sub> of CFU/g で, LVFX, AZM および CFPN 投与群より少なかった。

**Key words:** tosufloxacin, antimicrobial activity, animal model, child

*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* および *Moraxella catarrhalis* は小児における肺炎および中耳炎の主要原因菌である。近年, penicillin-intermediate および penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PISP および PRSP)<sup>1,2)</sup>, β-lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR)<sup>3,4)</sup>, β-lactamase 産生 *M. catarrhalis*<sup>5)</sup> などの薬剤耐性菌が臨床問題となっている。

新たに小児用製剤として開発された「オゼックス細粒小児用<sup>®</sup>15%」の活性本体である tosufloxacin (TFLX) は, 1990 年に経口薬として上市され, 呼吸器および泌尿器科領域をは

じめとする各科領域における感染症治療薬としてその有用性が報告されている<sup>6)</sup>。本薬は, グラム陽性菌, グラム陰性菌ならびにクラミジアにまで及ぶ幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性を有し, 各種新鮮臨床分離株に対して優れた抗菌活性を示す<sup>7,8)</sup>ことから, 重症化につながる可能性が高い肺炎等の抗菌薬治療における選択肢の一つとして使用されてきた。また, 2003 年 1 月から 2004 年 7 月に呼吸器感染症又は耳鼻科領域感染症患者より分離された *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* において, 1994 年若しくは 1998 年分離菌と比べ, TFLX に対する感受性の低下は認められていない

ことが報告されている<sup>9)</sup>。さらに、キノロン系薬は他系統抗菌薬と交差耐性を示さないことから、日本呼吸器学会の治療ガイドラインでは、成人領域において penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP) だけでなく penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) による細菌性肺炎の治療薬として推奨されている<sup>10)</sup>。

今回、TFLX の小児における肺炎および中耳炎の主要原因菌に対する *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性を明らかにするため、国内で小児より分離された、 $\beta$ -ラクタム薬耐性菌を含む新鮮臨床分離 *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対する MIC を、levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), norfloxacin (NFLX), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), cefdinir (CFDN), clavulanic acid/amoxicillin (CVA/AMPC) および azithromycin (AZM) とともに測定した。さらに、生育曲線に及ぼす影響、自然耐性菌出現頻度、試験管内耐性獲得、mutant prevention concentration (MPC) および *S. pneumoniae* によるマウス実験的肺炎モデルにおける治療効果について併せて検討したので報告する。

## I. 材料と方法

### 1. 使用菌株

新鮮臨床分離株に対する抗菌活性測定には、富山化学工業株式会社総合研究所保存の小児由来臨床分離の *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* を用いた。*S. pneumoniae* および *H. influenzae* は 2004~2006 年分離株それぞれ 107 株および 118 株を、*M. catarrhalis* は 2007 年分離株 97 株を用いた。*S. pneumoniae* 107 株中、咽頭粘液若しくは喀痰由来が 25 株、鼻腔若しくは鼻汁由来が 70 株、血液由来が 7 株、耳分泌液由来が 4 株、その他が 1 株であった。*H. influenzae* では、118 株中、咽頭粘液若しくは喀痰由来が 73 株、鼻腔若しくは鼻汁由来が 33 株、血液由来が 9 株、その他が 3 株であった。*M. catarrhalis* 97 株は肺炎および中耳炎患者からの分離株を使用した。なお、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* については、2007 年の Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) のガイドライン<sup>11)</sup> に従い、*S. pneumoniae* においては PCG の MIC が  $\leq 0.0625 \mu\text{g}/\text{mL}$  を PSSP,  $0.125 \sim 1 \mu\text{g}/\text{mL}$  を PISP,  $\geq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$  を PRSP とし、*H. influenzae* においては  $\beta$ -lactamase 非産生で ampicillin (ABPC) の MIC が  $\leq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$  を  $\beta$ -lactamase-negative ABPC-susceptible *H. influenzae* (BLNAS),  $\geq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$  を  $\beta$ -lactamase-negative ABPC-resistant *H. influenzae* (BLNAR),  $\beta$ -lactamase 産生で CVA/AMPC (1:2) の MIC (AMPC としての濃度) が  $\leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$  を  $\beta$ -lactamase-positive ABPC-resistant *H. influenzae* (BLPAR),  $\geq 8 \mu\text{g}/\text{mL}$  を  $\beta$ -lactamase-positive CVA/AMPC-resistant *H. influenzae* (BLPACR) とした。

生育曲線に及ぼす影響は臨床分離 *S. pneumoniae* D-979 (PRSP) および *H. influenzae* I-1053 (BLNAR) を、自然耐性菌出現頻度、試験管内耐性獲得試験および mutant

prevention concentration (MPC) 測定には、*S. pneumoniae* ATCC 49619 および *H. influenzae* ATCC 49247 を用いた。

また、マウス実験的肺炎モデルにおける治療効果の検討には、*S. pneumoniae* D-979 (PRSP) を用いた。

### 2. 使用薬剤

Tosufloxacin tosilate hydrate (TFLX tosilate hydrate: 富山化学工業株式会社合成品), levofloxacin (LVFX: Chem-Impex International, Inc.), ciprofloxacin (CPFX: LKT Laboratories, Inc.), norfloxacin (NFLX: Sigma-Aldrich), cefditoren (CDTR: 明治製菓株式会社合成品), cefdinir (CFDN: アステラス製薬株式会社合成品), cefcapene (CFPN: 塩野義製薬株式会社合成品), amoxicillin (AMPC: 和光純薬工業株式会社), clavulanic acid (CVA: 和光純薬工業株式会社), azithromycin (AZM: LKT Laboratories, Inc.) を用いた。また、耐性確認用として、benzylpenicillin (PCG: 明治製菓株式会社) および ampicillin (ABPC: 明治製菓株式会社) を用いた。いずれの薬剤も純度あるいは含量が明らかかなものを使用し、濃度は活性本体の値として表記した。CVA/AMPC は 1:14 若しくは 1:2 の配合比となるよう混合し、いずれも AMPC 濃度として表記した。

### 3. 使用動物

日本エスエルシー株式会社より購入した 4.5 週齢の ICR 系雄性マウス (n=10) を用いた。なお、動物を用いた検討は富山化学工業株式会社の「実験動物使用・管理規定」に従って実施した。

### 4. 最小発育阻止濃度の測定

*S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対する TFLX および対照薬の最小発育阻止濃度 (MIC) は CLSI の微量液体希釈法<sup>11,12)</sup> に準じて測定した。*S. pneumoniae* では前培養培地に 5% 綿羊脱繊維血液 (日本バイオテスト研究所) 加 Mueller-Hinton agar (MHA: Becton, Dickinson and Company), 測定培地には 5% 馬溶血液 (日本バイオテスト研究所) 加 Mueller Hinton II broth cation adjusted (CAMHB: Becton, Dickinson and Company) を、*H. influenzae* では前培養培地に 5% Fildes Enrichment (Becton, Dickinson and Company) 加 Brain Heart infusion agar (BHIA: 栄研化学), 測定培地には Haemophilus Test Medium [HTM:  $15 \mu\text{g}/\text{mL}$   $\beta$ -NAD (Sigma-Aldrich),  $15 \mu\text{g}/\text{mL}$  ヘマチン (Alfa Aesar),  $5 \text{g}/\text{L}$  yeast extract (Becton, Dickinson and Company) 加 CAMHB] を、*M. catarrhalis* では前培養培地に MHA, 測定培地には CAMHB をそれぞれ用いた。

### 5. 生育曲線に及ぼす影響

*S. pneumoniae* D-979 (PRSP) および *H. influenzae* I-1053 (BLNAR) に 1/4, 1/2, 1, 2 および 4 MIC の TFLX, LVFX および CFPN を作用させ、経時的に生菌数を測定した。

Table 1. Antibacterial activity of tosufloxacin and reference agents against pediatric clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in 2004–2006

Strain	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )				
			Range			MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	107	TFLX	0.0625	–	0.25	0.125	0.25
		LVFX	0.5	–	2	1	1
		CPFX	0.5	–	4	1	2
		NFLX	4	–	32	8	8
		CDTR	0.0156	–	8	0.5	1
		CFDN	0.0625	–	32	2	8
		CFPN	0.0078	–	16	0.5	2
		CVA/AMPC <sup>d)</sup>	0.0078	–	8	0.25	2
AZM	0.0313	–	> 128	32	> 128		
Penicillin-susceptible <sup>a)</sup> <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PSSP)	30	TFLX	0.125	–	0.25	0.125	0.25
		LVFX	1	–	2	1	2
		CPFX	0.5	–	4	1	2
		NFLX	4	–	32	4	16
		CDTR	0.0156	–	1	0.125	0.5
		CFDN	0.0625	–	2	0.25	2
		CFPN	0.0078	–	4	0.25	1
		CVA/AMPC <sup>d)</sup>	0.0078	–	0.125	0.0313	0.0625
AZM	0.0313	–	> 128	8	> 128		
Penicillin-intermediate <sup>b)</sup> <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	44	TFLX	0.125	–	0.25	0.125	0.25
		LVFX	1	–	2	1	1
		CPFX	0.5	–	2	1	2
		NFLX	4	–	16	8	8
		CDTR	0.125	–	8	0.5	1
		CFDN	0.25	–	32	2	8
		CFPN	0.125	–	16	0.5	2
		CVA/AMPC <sup>d)</sup>	0.0625	–	2	0.25	1
AZM	0.0625	–	> 128	32	> 128		
Penicillin-resistant <sup>c)</sup> <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	33	TFLX	0.0625	–	0.25	0.125	0.25
		LVFX	0.5	–	2	1	1
		CPFX	0.5	–	4	1	2
		NFLX	4	–	16	8	8
		CDTR	0.125	–	4	1	2
		CFDN	0.25	–	16	8	16
		CFPN	0.25	–	4	1	2
		CVA/AMPC <sup>d)</sup>	0.0313	–	4	1	2
AZM	0.0625	–	> 128	32	> 128		

MIC: broth microdilution method

<sup>a)</sup> PCG MIC:  $\leq 0.0625 \mu\text{g/mL}$ , <sup>b)</sup> PCG MIC:  $0.125-1 \mu\text{g/mL}$ , <sup>c)</sup> PCG MIC:  $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ <sup>d)</sup> CVA/AMPC (1 : 14), equivalent to AMPC

Abbreviations: TFLX, tosufloxacin; LVFX, levofloxacin; CPFX, ciprofloxacin; NFLX, norfloxacin; CDTR, cefditoren; CFDN, cefdinir; CFPN, cefcapene; CVA/AMPC, clavulanic acid/amoxicillin; AZM, azithromycin

## 6. 自然耐性菌出現頻度

4, 8 および 16 MIC の TFLX および LVFX 存在下での *S. pneumoniae* ATCC 49619 および *H. influenzae* ATCC 49247 の自然耐性菌出現頻度を測定した。すなわち, 37°C で 20~21 時間培養した 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 上の *S. pneumoniae* 若しくは 5% 馬脱繊維血液 (日本バイオテスト研究所) 加 BHIA (チョコレート寒天培地) 上の *H. influenzae* の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し, それぞれ約  $10^9$  CFU/mL の菌液を調製した。この菌液および滅菌生理食塩液で適宜希釈した菌液 0.2 mL を, 4, 8 および 16 MIC の各薬物を含む 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 若しくは 5% 馬脱繊維血液加 BHIA (チョコレート寒天培

地) 平板上に塗布, 37°C, 43~45 時間培養後に出現したコロニー数から下式に基づき自然耐性菌出現頻度を算出した。

$$\text{自然耐性菌出現頻度} = \frac{\text{出現コロニー数 (CFU/mL)}}{\text{接種菌数 (CFU/mL)}}$$

## 7. 試験管内耐性獲得

*S. pneumoniae* ATCC 49619 および *H. influenzae* ATCC 49247 に対する TFLX および LVFX の MIC を微量液体希釈法<sup>13,14)</sup> で測定した。肉眼的に薬物非含有ウェルと同程度の生育を示した最高薬物濃度の培養液を継代用菌液とした。この菌液を滅菌生理食塩液で適宜希釈することにより約  $10^7$  CFU/mL の接種菌液とし, MIC 測定用マイク

ロプレートに接種，35℃で一夜培養後にMICを判定した。同様の操作を7回繰り返し，7代継代までの各薬物のMIC上昇の程度を調べた。

#### 8. MPC

*S. pneumoniae* ATCC 49619 および *H. influenzae* ATCC 49247 を用い，TFLX および LVFX の MPC を測定した。*S. pneumoniae* の場合，37℃で一夜培養した5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 上の菌体に滅菌生理食塩液を加え，採取した菌液を遠心(1,750×g, 3,000 rpm, 4℃, 20 分間)し，上清除去後， $7.6 \times 10^{10}$  CFU/mL の接種菌液を作製した。*H. influenzae* の場合，37℃で一夜培養した5% Fildes Enrichment 加 BHIA 平板上の菌体をかきとり滅菌生理食塩液に懸濁し， $8.4 \times 10^{10}$  CFU/mL の接種菌液を作製した。薬物を含む5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 若しくは5% Fildes Enrichment 加 BHIA 平板上にそれぞれの接種菌液の0.15 mL を接種し，37℃で72時間培養後，コロニーが出現しない最小濃度を MPC とした。

#### 9. マウス実験の肺炎モデルに対する治療効果

37℃で一夜培養した5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 上の *S. pneumoniae* D-979 (PRSP) の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し，この菌液を Brain Heart infusion broth (BHIB: 栄研化学) に1% 接種，37℃で6時間振盪培養した。培養後の菌液を遠心分離(2,300×g, 3,500 rpm, 10 分間, 4℃)し，得られた沈渣を1/10 容の新鮮 BHIB にて再懸濁した液を接種用菌液とした。5% ケタミン液(ケタラル筋注用 500 mg, 第一三共プロファーマ株式会社):2% キシラジン液(セラクター 2% 注射液, バイエル薬品株式会社):滅菌生理食塩液の混液(2:1:3)の筋肉内投与により麻酔したマウスに，菌液 20 μL を経鼻接種することで感染を惹起した( $6.44 \times 10^7$  CFU/mouse)。感染18時間後より0.5% メチルセルロース溶液(和光純薬工業株式会社)に懸濁した5 mg/kg の TFLX, LVFX, AZM および CFPN を4時間間隔で1日3回，2日間経口投与した。なお，投与量は各薬剤の臨床用量<sup>15-18)</sup>に近く，各薬剤投与による肺内生菌数への影響を比較できるように設定した。最終投与の19時間後に，各投与群におけるマウスの生死を観察し，死亡率を求めた。また，ジエチルエーテル麻酔下で放血安楽死させた後，摘出した肺をホモジナイズし，適宜希釈後，5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 平板に塗抹，一夜培養後に出現したコロニーを計数することにより肺内生菌数 ( $\text{Log}_{10}$  of CFU/g of lung:  $\text{Log}_{10}$  of CFU/g) を求めた。各投与群間の肺内生菌数は，SAS release 8.2 (株式会社 SAS インスティテュートジャパン)を用い，Dunnnett の多重検定により比較した。なお，有意水準は両側5%とした。TFLX 投与群で肺内生菌数が検出限界以下であった個体には，検出限界値である  $2.0 \text{ Log}_{10}$  of CFU/g を当てはめた。

## II. 結 果

### 1. 小児由来新鮮臨床分離 *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対する抗菌活性

小児由来新鮮臨床分離株に対する TFLX および対照薬の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> 若しくは MIC を Tables 1~3 に示す。

#### 1) *S. pneumoniae*

小児由来新鮮臨床分離 *S. pneumoniae* 107 株に対する TFLX の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> は，それぞれ 0.0625~0.25 μg/mL, 0.125 μg/mL および 0.25 μg/mL で，その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/32~1/4, CDTR, CFDN および CFPN の 1/32~1/4, CVA/AMPC (1:14) の 1/8, AZM の <1/512 であった (Table 1)。

#### (1) Penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP)

PSSP 30 株に対する TFLX の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> は，それぞれ 0.125~0.25 μg/mL, 0.125 μg/mL および 0.25 μg/mL で，その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/64~1/8, CDTR, CFDN および CFPN の 1/8~1/2, AZM の <1/512 で，CVA/AMPC (1:14) の4倍であった (Table 1)。

#### (2) Penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (PISP)

PISP 44 株に対する TFLX の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> は，それぞれ 0.125~0.25 μg/mL, 0.125 μg/mL および 0.25 μg/mL で，その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/32~1/4, CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1:14) の 1/32~1/4, AZM の <1/512 であった (Table 1)。

#### (3) Penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP)

PRSP 33 株に対する TFLX の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> は，それぞれ 0.0625~0.25 μg/mL, 0.125 μg/mL および 0.25 μg/mL で，その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/32~1/4, CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1:14) の 1/64~1/8, AZM の <1/512 であった (Table 1)。

#### 2) *H. influenzae*

小児由来新鮮臨床分離 *H. influenzae* 118 株に対する TFLX の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> は，それぞれ 0.002~0.125 μg/mL, 0.0039 μg/mL および 0.0078 μg/mL で，その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/8~1/2, CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1:14) の 1/1,024~1/32, AZM の 1/256 であった (Table 2)。

#### (1) $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-susceptible *H. influenzae* (BLNAS)

BLNAS 47 株に対する TFLX の MIC range, MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> は，それぞれ 0.0039~0.125 μg/mL, 0.0039 μg/mL および 0.0078 μg/mL で，その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/8~1/2, CDTR, CFDN,

Table 2. Antibacterial activity of tosufloxacin and reference agents against pediatric clinical isolates of *Haemophilus influenzae* in 2004–2006

Strain	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )				
			Range			MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Haemophilus influenzae</i>	118	TFLX	0.002	–	0.125	0.0039	0.0078
		LVFX	0.0078	–	0.125	0.0156	0.0156
		CPFX	0.0039	–	0.125	0.0078	0.0156
		NFLX	0.0313	–	2	0.0313	0.0625
		CDTR	0.0039	–	0.5	0.125	0.25
		CFDN	0.0625	–	16	2	8
		CFPN	0.0039	–	4	1	4
		CVA/AMPC <sup>e)</sup>	0.25	–	32	4	8
		AZM	0.25	–	4	1	2
$\beta$ -lactamase-negative, ampicillin-susceptible <sup>a)</sup> <i>Haemophilus influenzae</i> (BLNAS)	47	TFLX	0.0039	–	0.125	0.0039	0.0078
		LVFX	0.0078	–	0.125	0.0156	0.0156
		CPFX	0.0039	–	0.0625	0.0078	0.0156
		NFLX	0.0313	–	0.25	0.0313	0.0625
		CDTR	0.0039	–	0.25	0.0156	0.125
		CFDN	0.0625	–	8	0.25	2
		CFPN	0.0039	–	2	0.0156	1
		CVA/AMPC <sup>e)</sup>	0.25	–	2	0.5	2
		AZM	0.5	–	4	1	2
$\beta$ -lactamase-negative, ampicillin-resistant <sup>b)</sup> <i>Haemophilus influenzae</i> (BLNAR)	57	TFLX	0.002	–	0.0156	0.0078	0.0078
		LVFX	0.0078	–	0.0313	0.0156	0.0156
		CPFX	0.0039	–	0.0313	0.0078	0.0078
		NFLX	0.0313	–	0.0625	0.0625	0.0625
		CDTR	0.0625	–	0.5	0.125	0.25
		CFDN	1	–	16	4	16
		CFPN	0.5	–	4	2	4
		CVA/AMPC <sup>e)</sup>	2	–	32	8	16
		AZM	0.25	–	4	1	2
$\beta$ -lactamase-positive, ampicillin-resistant <sup>c)</sup> <i>Haemophilus influenzae</i> (BLPAR)	8	TFLX	0.0039	–	0.125	—	—
		LVFX	0.0156	–	0.125	—	—
		CPFX	0.0078	–	0.125	—	—
		NFLX	0.0313	–	2	—	—
		CDTR	0.0039	–	0.125	—	—
		CFDN	0.125	–	8	—	—
		CFPN	0.0078	–	1	—	—
		CVA/AMPC <sup>e)</sup>	1	–	2	—	—
AZM	0.25	–	1	—	—		
$\beta$ -lactamase-positive, amoxicillin/clavulanic acid-resistant <sup>d)</sup> <i>Haemophilus influenzae</i> (BLPACR)	6	TFLX	0.0039	–	0.0156	—	—
		LVFX	0.0156	–	0.0313	—	—
		CPFX	0.0039	–	0.0156	—	—
		NFLX	0.0313	–	0.0625	—	—
		CDTR	0.0625	–	0.25	—	—
		CFDN	2	–	8	—	—
		CFPN	1	–	2	—	—
		CVA/AMPC <sup>e)</sup>	4	–	16	—	—
AZM	0.5	–	2	—	—		

MIC: broth microdilution method

<sup>a)</sup> ABPC MIC:  $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ , <sup>b)</sup> ABPC MIC:  $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ , <sup>c)</sup> CVA/AMPC MIC:  $\leq 2/4 \mu\text{g/mL}$ <sup>d)</sup> CVA/AMPC MIC:  $\geq 4/8 \mu\text{g/mL}$ , <sup>e)</sup> CVA/AMPC (1 : 14), equivalent to AMPC

Abbreviations: See Table 1 footnote.

CFPN および CVA/AMPC (1 : 14) の 1/256~1/16, AZM の 1/256 であった (Table 2)。

(2)  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR)

BLNAR 57 株に対する TFLX の MIC range は 0.002~0.0156  $\mu\text{g/mL}$ , MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> はともに 0.0078  $\mu\text{g/}$

mL で, その MIC<sub>90</sub> は LVFX および他のキノロン系薬の 1/8~同程度, CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1 : 14) の 1/2,048~1/32, AZM の 1/256 であった (Table 2)。

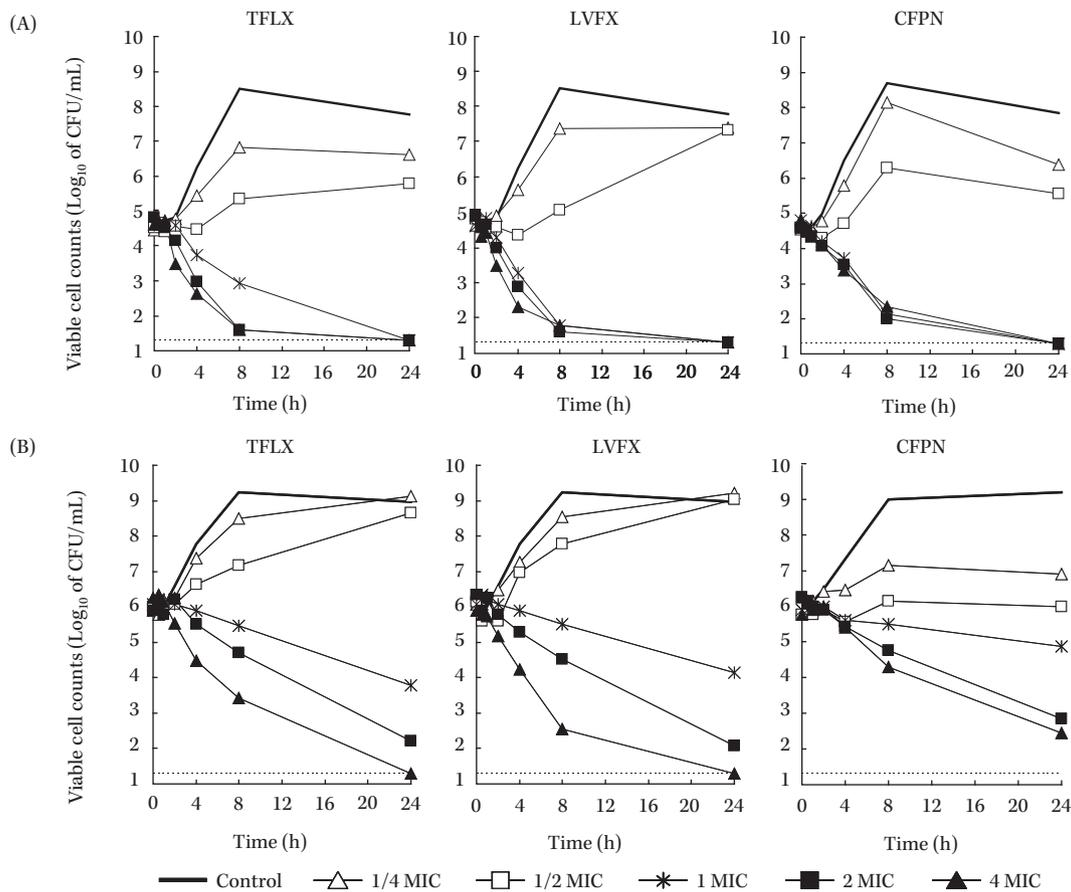
Table 3. Antibacterial activity of tosofloxacin and reference agents against pediatric clinical isolates of *Moraxella catarrhalis* in 2007

Strain	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )				
			Range			MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	97	TFLX	0.0039	–	0.0625	0.0156	0.0156
		LVFX	0.0078	–	1	0.0313	0.0625
		CPFX	0.0078	–	0.5	0.0313	0.0313
		NFLX	0.0625	–	2	0.125	0.25
		CDTR	0.0156	–	1	0.5	0.5
		CFDN	0.0625	–	1	0.25	0.5
		CFPN	0.0156	–	1	0.5	1
CVA/AMPC <sup>a)</sup>	0.0156	–	0.5	0.25	0.5		

MIC: broth microdilution method

<sup>a)</sup> CVA/AMPC (1 : 14), equivalent to AMPC

Abbreviations: See Table 1 footnote.

Fig. 1. Effect of tosofloxacin on growth curve of (A) *Streptococcus pneumoniae* D-979, (B) *Haemophilus influenzae* I-1053.

Dotted line: detection limit.

Abbreviations: See Table 1 footnote.

(3)  $\beta$ -lactamase-positive ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLPAR)

BLPAR 8株に対する TFLX の MIC range は 0.0039~0.125  $\mu\text{g/mL}$  であった (Table 2)。個々の株に対する TFLX の MIC は LVFX および他のキノロン系薬の 1/

16~同程度, CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1 : 14) の 1/2,048~16 倍, AZM の 1/256~1/2 であった。

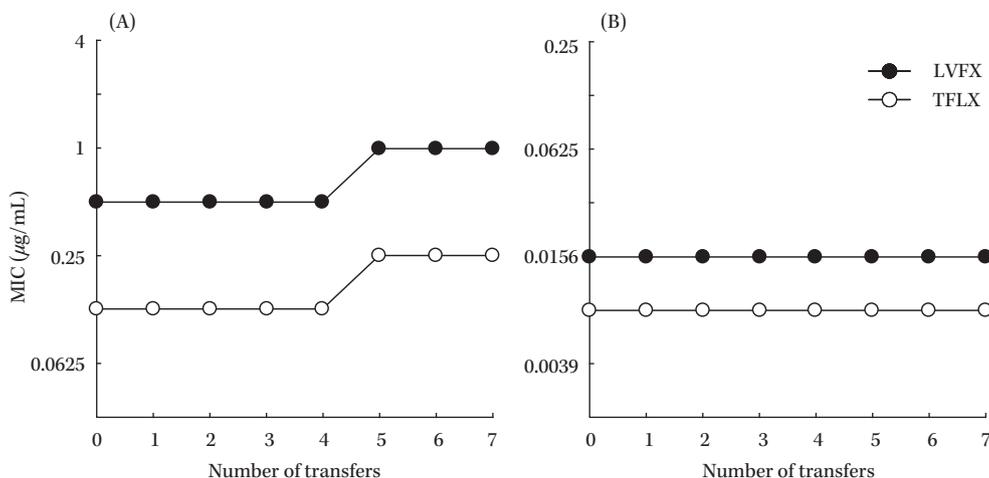


Fig. 2. Development of resistance in (A) *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, (B) *Haemophilus influenzae* ATCC 49247 against TFLX by serial passage.

Abbreviations: See Table 1 footnote.

Table 4. MIC and MPC of tosufloxacin and reference agents against *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 and *Haemophilus influenzae* ATCC 49247

Strain	MIC (µg/mL)/MPC (µg/mL)	
	TFLX	LVFX
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	0.07/0.4	0.5/1
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	0.003/0.07	0.008/0.1

Inoculum size: MIC;  $10^6$  CFU/mL

MPC; *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619:  $1.14 \times 10^{10}$  CFU/plate

*Haemophilus influenzae* ATCC 49247:  $1.26 \times 10^{10}$  CFU/plate

Abbreviations: See Table 1 footnote.

(4)  $\beta$ -lactamase-positive amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae* (BLPACR)

BLPACR 6株に対する TFLX の MIC range は  $0.0039 \sim 0.0156 \mu\text{g/mL}$  であった (Table 2)。個々の株に対する TFLX の MIC は LVFX および他のキノロン系薬の  $1/8 \sim$  同程度, CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1:14) の  $1/2,048 \sim 1/8$ , AZM の  $1/512 \sim 1/64$  であった。

### 3) *M. catarrhalis*

*M. catarrhalis* 97株に対する TFLX の MIC range は  $0.0039 \sim 0.0625 \mu\text{g/mL}$ ,  $\text{MIC}_{50}$  および  $\text{MIC}_{90}$  はともに  $0.0156 \mu\text{g/mL}$  で, その  $\text{MIC}_{90}$  は LVFX および他のキノロン系薬の  $1/16 \sim 1/2$ , CDTR, CFDN, CFPN および CVA/AMPC (1:14) の  $1/64 \sim 1/32$  であった (Table 3)。

### 2. 生育曲線に及ぼす影響

*S. pneumoniae* および *H. influenzae* の生育曲線に及ぼす TFLX および対照薬の影響を Fig. 1 に示す。

TFLX は *S. pneumoniae* D-979 (PRSP) に対して, LVFX および CFPN と同様に  $1 \sim 4$  MIC で濃度依存的な強い殺菌効果を示した。また, *H. influenzae* I-1053 (BLNAR) に対して, LVFX および CFPN と同様に 2 MIC ( $0.0156$

$\mu\text{g/mL}$ ) 以上で殺菌的作用を示し, その程度は CFPN より強かった。

### 3. 自然耐性菌出現頻度

*S. pneumoniae* ATCC 49619 に対する TFLX および LVFX の MIC はそれぞれ,  $0.1$  および  $0.78 \mu\text{g/mL}$  で, 本菌株における  $4, 8$  および  $16$  MIC 濃度での TFLX の自然耐性菌出現頻度は, いずれも  $< 9.3 \times 10^{-10}$  であり, LVFX と同様に検出限界以下であった。また, *H. influenzae* ATCC 49247 に対する TFLX および LVFX の MIC はそれぞれ,  $0.00625$  および  $0.0125 \mu\text{g/mL}$  で, 本菌株における  $4, 8$  および  $16$  MIC 濃度での TFLX の自然耐性菌出現頻度は, いずれも  $< 8.4 \times 10^{-10}$  であり, LVFX と同様に検出限界以下であった。

### 4. 試験管内耐性獲得

7回継代後の菌に対する TFLX の MIC は, *S. pneumoniae* ATCC 49619 では 2倍の上昇, *H. influenzae* ATCC 49247 では同等であり, LVFX の  $1 \sim 2$  倍と同程度であった (Fig. 2)。

### 5. MPC

*S. pneumoniae* ATCC 49619 および *H. influenzae* ATCC 49247 における TFLX の MPC はそれぞれ,  $0.4$  および  $0.07 \mu\text{g/mL}$  で, LVFX ( $1$  および  $0.1 \mu\text{g/mL}$ ) と同程度

Table 5. Therapeutic effect of tosylloxacin and other agents on experimental pneumonia caused by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* D-979 in mice

Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	Mortality (%)	Viable cell counts in lung ( $\text{Log}_{10}$ of CFU/g)
Control	—	10	$8.39 \pm 0.696$ ***
TFLX	0.0625	0	$< 4.22 \pm 1.77$
LVFX	0.5	0	$7.73 \pm 1.85$ **
AZM	$> 128$	30	$7.75 \pm 0.725$ *
CFPN	1	0	$8.02 \pm 0.884$ ***

Animal: 4.5-week-old male ICR strain mice, 10 mice/group

Infection: *Streptococcus pneumoniae* D-979 ( $6.44 \times 10^7$  CFU/mouse), transnasal infection

Administration: Oral administration (5 mg/kg) from 18h after infection, three times (4 hr intervals) a day for 2 days

Viable cell counts in lung: Mean  $\pm$  Standard deviation

MICs were determined by the broth microdilution method.

\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$  vs. TFLX by Dunnett test

Abbreviations: See Table 1 footnote.

若しくは低かった (Table 4)。

#### 6. マウス実験の肺炎モデルに対する治療効果

*S. pneumoniae* D-979 (PRSP) によるマウス肺炎モデルに対する TFLX および対照薬投与群の肺内生菌数を Table 5 に示す。

Control (無治療) 群および AZM 投与群では、それぞれ 10% および 30% が死亡したが、TFLX, LVFX および CFPN 投与群では全例が生じた。TFLX 投与群の肺内生菌数は  $< 4.22 \text{ Log}_{10}$  of CFU/g であり、LVFX, AZM, CFPN 投与群および control 群に比べて有意に少なかった (それぞれ  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$  および  $p < 0.001$ )。一方、LVFX, AZM および CFPN 投与群はいずれも control 群と比べ、有意な差は認められなかった。

### III. 考 察

今回、われわれは、小児における肺炎および中耳炎の主要原因菌である *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対する TFLX の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性について検討した。TFLX は PISP, PRSP および BLNAR 等の薬剤耐性菌<sup>1-5, 19)</sup>を含むこれら原因菌に対し、他のキノロン系薬、 $\beta$ -ラクタム系薬およびマクロライド系薬に比べ、強い *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性を示した。

CLSI の 2008 年のガイドライン<sup>20)</sup>では、*S. pneumoniae* を髄膜炎原因菌と非髄膜炎原因菌とに区別し、PCG に対するブレイクポイントが設定されており、非髄膜炎では、PCG の MIC が  $2 \mu\text{g/mL}$  以下を PSSP,  $4 \mu\text{g/mL}$  を PISP,  $8 \mu\text{g/mL}$  以上を PRSP としている。しかし、この基準で PSSP とされる株でも、すでに PBP 遺伝子に変異を有しており、ペニシリンだけでなく、他の  $\beta$ -ラクタム系薬に耐性を示すことが報告されている<sup>1, 2, 21-23)</sup>。さらに、これらの株の多くは、マクロライド系薬にも高率で耐性を示す<sup>24, 25)</sup>ことが報告されており、多剤耐性が臨床的な

問題となっている。特に日本ではマクロライド耐性菌が多く、臨床分離 *S. pneumoniae* の 80.0% が、さらには PCG の MIC が  $2 \mu\text{g/mL}$  以上の株の 92.7% がマクロライド系薬に耐性を示すことが報告されている<sup>24)</sup>。

*H. influenzae* では、経口抗菌薬の投与にもかかわらず症状が改善しない遷延例や、感染を繰り返す反復例など、急性中耳炎の難治化が問題となっており、その要因の一つとして本菌を含む原因菌の薬剤耐性が考えられている<sup>3)</sup>。特に BLNAR は年々増加傾向にあり<sup>4)</sup>、ABPC だけでなく、他の  $\beta$ -ラクタム系薬に対しても感受性が低下している<sup>26)</sup>。また、*M. catarrhalis* では、ほぼ 100% が  $\beta$ -lactamase 産生菌との報告がある<sup>5)</sup>。

今回の検討では、幅広く薬剤低感受性菌の動向を探るため、2007 年までの CLSI の基準<sup>11)</sup>に従い、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* の耐性分類を行った。

小児由来の PISP, PRSP, BLNAR および *M. catarrhalis* に対する TFLX の MIC<sub>90</sub> はそれぞれ、0.25, 0.25, 0.0078 および  $0.0156 \mu\text{g/mL}$  で、いずれも他のキノロン系薬、 $\beta$ -ラクタム系薬およびマクロライド系薬に比べ強い抗菌活性を示した。これらの成績は、成人由来株での結果<sup>7)</sup>と一致していた。

一般に、キノロン系薬の治療効果の指標は free AUC/MIC であり、良好な臨床効果には、*S. pneumoniae* では 30 以上、グラム陰性菌では 100 以上であることが望まれる<sup>27, 28)</sup>。*S. pneumoniae* による community-acquired pneumonia (CAP) での LVFX および gatifloxacin (GFLX) の臨床試験では、free AUC/MIC が 34 以上で、細菌学的効果は 100% であった<sup>29)</sup>ことが報告されている。「オゼックス細粒小児用<sup>®</sup>15%」を TFLX として 4 mg/kg 投与時の free AUC/MIC が 30 および 100 となるターゲット MIC 値は、それぞれ  $0.316 \mu\text{g/mL}$  および  $0.0949 \mu\text{g/mL}$  であった。今回の検討において、小児由来新鮮臨床分離

*S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対する TFLX の MIC<sub>90</sub> はいずれもターゲット MIC 値を下回っており、これらを原因菌とする肺炎および中耳炎において良好な臨床効果を示すことが期待された。

近年、DNA ジャイレース若しくはトポイソメラーゼ IV に変異を有するキノロン耐性株が臨床の場より分離され、その増加が懸念されている<sup>30)</sup>が、試験管内耐性獲得試験および自然耐性菌出現頻度の結果より、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* の TFLX に対する耐性化の程度は類薬である LVFX と同程度で低かった。また、最近では、有効性だけでなく耐性菌抑制の観点からも pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) の概念が提唱され、その指標の一つとして MPC が挙げられており、各種 PK パラメータとの関連性が議論されている。*S. pneumoniae* ATCC 49619 および *H. influenzae* ATCC 49247 における TFLX の MPC はそれぞれ、0.4 および 0.07 μg/mL で、LVFX と同程度若しくは低かった。

Homma ら<sup>31)</sup>は、*S. pneumoniae* を用いた *in vitro* pharmacokinetic model (IVPM) の検討より、キノロン系薬の耐性化抑制の指標は free AUC/MPC および free C<sub>max</sub>/MPC であり、それぞれ 13.4 および 1.2 以上の場合に耐性化が認められなかったことを報告している。小児臨床試験において、TFLX として本薬剤 4 mg/kg、1 日 2 回投与時の 1 日 AUC (15.16 μg·h/mL) および C<sub>max</sub> (0.96 μg/mL) より算出した 1 日 free AUC および free C<sub>max</sub> は 9.49 μg·h/mL および 0.60 μg/mL (TFLX の血清蛋白結合率: 37.4%<sup>32)</sup>) であり、*S. pneumoniae* における free AUC/MPC および free C<sub>max</sub>/MPC はそれぞれ、23.7 および 1.50 と、前述の報告<sup>31)</sup>で耐性菌を出現させないとする値より大きかった。グラム陰性菌では、*Escherichia coli* の IVPM の検討において free AUC/MPC が 22 以上の場合に耐性化が認められなかったことが報告されている<sup>33)</sup>。今回の試験においても、*H. influenzae* における本薬剤投与時の free AUC/MPC は 136 であり、この値を大きく超えていた。これらのことから、本薬剤使用による耐性菌出現の可能性は低いと考えられた。しかし、本薬剤による治療の機会が増えることに伴い、小児におけるキノロン耐性菌の増加が危惧されることから、継続的な感受性変化を確認するとともに、PK-PD を考慮した適性使用が重要であると考えられた。

TFLX は *in vivo* においても、*in vitro* の抗菌活性および良好な体内動態<sup>32)</sup>を反映し、PRSP によるマウス肺炎モデルにおいて、LVFX、AZM および CFPN に比べ強い治療効果を示しており、PRSP に対する治療薬としての有用性が示唆された。

以上、TFLX は PRSP や BLNAR 等の耐性菌を含む *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対し、*in vitro* ならびに *in vivo* で強い抗菌活性を示すことから、小児における肺炎および中耳炎に対する有用性が期

待された。

## 文 献

- 1) 賀来満夫, 金光敬二, 國島広之, 井上松久, 小松真由美, 北川美穂: 肺炎球菌およびインフルエンザ菌における薬剤耐性の検討—開業医および大学病院臨床分離株での比較—. 化学療法領域 2007; 23: 1318-25
- 2) Felmingham D, Reinert R R, Hirakata Y, Rodloff A: Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from PROTEKT surveillance study, and comparative *in vitro* activity of the ketolide, telithromycin. J Antimicrob Chemother 2002; 50 (Suppl 1): 25-37
- 3) Nariai A: Prevalence of β-lactamase-nonproducing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus influenzae* type b strains obtained from children with lower respiratory tract infections. J Infect Chemother 2007; 13: 396-9
- 4) 山中 昇, 保富宗城: 難治化する急性中耳炎—難治化の要因とその対策—. 感染症誌 2003; 77: 595-605
- 5) 岸本寿男: 肺炎の治療—市中肺炎. 臨床と研究 2001; 78: 1025-30
- 6) 島田 馨: Tosufloxacin tosilate. Jpn J Antibiot 1990; 43: 583-602
- 7) 高畑正裕, 福田淑子, 二口直子, 杉浦陽子, 久田晴美, 水永真吾, 他: Garenoxacin の *in vitro* 抗菌活性. 日化学療法誌 2007; 55 (S-1): 1-20
- 8) Miyashita N, Niki Y, Kishimoto T, Nakajima M, Matsushima T: *In vitro* and *in vivo* activities of AM-1155, a new fluoroquinolone, against *Chlamydia* spp. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 1331-4
- 9) Hasegawa M, Sato Y, Kanayama A, Matsuzaki K, Muraoka H, Amano A, et al: Antibacterial activity of tosufloxacin against major organisms detected from patients with respiratory or otorhinological infections: comparison with the results obtained from organisms isolated about 10 years ago. J Infect Chemother 2006; 12: 152-6
- 10) 日本呼吸器学会呼吸器感染症に関するガイドライン作成委員会 編: 「呼吸器感染症に関するガイドライン」成人市中肺炎診療ガイドライン, 日本呼吸器学会, 東京, 2003
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth Informational Supplement. M100-S17, Wayne, PA, 2007
- 12) Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard—Seventh Edition. M7-A7, Wayne, PA, 2006
- 13) 日本化学療法学会: 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会報告 (1989年). Chemotherapy 1990; 38: 102-5
- 14) 日本化学療法学会: 抗菌薬感受性測定法検討委員会報告 (1992年). Chemotherapy 1993; 41: 183-9
- 15) 「オゼックス細粒小児用 15%」添付文書, 大正富山医薬品, 2010年3月改訂 (第2版)
- 16) 「クラビット錠/クラビット細粒」添付文書, 第一三共, 2010年4月改訂 (第15版)
- 17) 「フロモックス小児用細粒 100 mg」添付文書, 塩野義製薬, 2009年8月改訂 (第15版)

- 18) 「ジスロマック細粒小児用 10%」添付文書, ファイザー, 2010 年 6 月改訂 (第 2 版)
- 19) 西村忠郎, 鈴木賢二, 小田 恂, 小林俊光, 夜陣絃治, 山中 昇, 他: 第 3 回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランス結果報告。日耳鼻感染症研究会誌 2004; 22: 12-23
- 20) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth Informational Supplement. M100-S18, Wayne, PA, 2008
- 21) 宮下修行, 深野浩史, 松島敏春: 市中肺炎の診断。薬局 2004; 55: 11-9
- 22) 朝野和典: 耐性菌抑制のためのキノロン薬, テリスロマイシンの投与適応。治療 2005; 87 (Suppl 1): 1283-6
- 23) Ubukata K: Problems associated with high prevalence of multidrug-resistant bacteria in patients with community-acquired infections. J Infect Chemother 2003; 9: 285-91
- 24) 山口恵三, 古谷信彦, 岩田守弘, 渡邊直樹, 上原信之, 保嶋 実, 他: 呼吸器および尿路由来の臨床分離株に対する gatifloxacin の抗菌力(2004 年度)。日化療会誌 2005; 53: 627-40
- 25) Farrell D J, Couturier C, Hryniewicz W: Distribution and antibacterial susceptibility of macrolide resistance genotypes in *Streptococcus pneumoniae*: PROTEKT Year 5 (2003-2004). Int J Antimicrob Agents 2008; 31: 245-9
- 26) 鈴木賢二, 黒野祐一, 小林俊光, 西村忠郎, 馬場駿吉, 原淵保明, 他: 第 4 回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランス結果報告。日耳鼻感染症研究会誌 2008; 26: 15-26
- 27) Craig W A: Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. Clin Infect Dis 1998; 26: 1-12
- 28) Craig W A: Does the dose matter? Clin Infect Dis 2001; 33 (Suppl 3): S233-7
- 29) Ambrose P G, Grasela D M, Grasela T H, Passarell J, Mayer H B, Pierce P F: Pharmacodynamics of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired respiratory tract infections. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 2793-7
- 30) Canton R, Morosini M, Enright M C, Morrissey I: Worldwide incidence, molecular epidemiology and mutations implicated in fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae*: data from the global PROTEKT surveillance programme. J Antimicrob Chemother 2003; 52: 944-52
- 31) Homma T, Hori T, Sugimori G, Yamano Y: Pharmacodynamic assessment based on mutant prevention concentrations of fluoroquinolones to prevent the emergence of resistant mutants of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 3810-5
- 32) 保田 隆, 渡辺泰雄, 南新三郎, 熊野克彦, 高木伸一, 恒田礼子, 他: 新ピリドン酸系抗菌剤 T-3262 の各種動物における吸収・分布・代謝及び排泄。Chemotherapy 1988; 36 (S-9): 149-57
- 33) Olofsson S K, Marcusson L L, Lindgren P K, Hughes D, Cars O: Selection of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* in an in vitro kinetic model: relation between drug exposure and mutant prevention concentration. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 1116-21

*In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of tosufloxacin tosylate hydrate against major causative bacteria of pneumonia and otitis media in pediatric patients

Yoshiko Fukuda, Yoko Sugiura, Harumi Hisada, Naoko Oogake,  
Yuko Ito, Masahiro Takahata and Junichi Mitsuyama

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., 2-4-1 Shimookui, Toyama, Japan

We evaluated the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of tosufloxacin(TFLX) against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*, pediatric major pneumonia and otitis media pathogens. Results are as follows:

1. MIC<sub>90</sub>s of TFLX against pediatric clinical isolates of penicillin-susceptible *S. pneumoniae*(PSSP), penicillin-intermediate *S. pneumoniae*(PISP), and penicillin-resistant *S. pneumoniae*(PRSP) were 0.25 μg/mL each, which were 1/64 to 1/4 than those of levofloxacin(LVFX), ciprofloxacin, and norfloxacin, 1/64 to 1/2 than those of cefditoren, cefdinir, and cefcapene(CFPN), 1/8 to 4 times than that of clavulanic acid/amoxicillin, and <1/512 than that of azithromycin(AZM).

2. MIC<sub>90</sub>s of TFLX against pediatric clinical isolates of β-lactamase-negative ampicillin-susceptible (BLNAS) and β-lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae*(BLNAR) were 0.0078 μg/mL, which were 1/8 than or equal to those of other quinolones, 1/2,048 to 1/16 than those of β-lactams, and 1/256 than that of AZM.

3. MIC<sub>90</sub> of TFLX against pediatric clinical isolates of *M. catarrhalis* was 0.0156 μg/mL, lowest among those of other quinolones and β-lactams.

4. TFLX showed bactericidal activity against PRSP and BLNAR at 1 and 2 times MIC or more, respectively.

5. The frequency of spontaneous mutant of *S. pneumoniae* and *H. influenzae* caused by TFLX were <9.3 × 10<sup>-10</sup> and <8.4 × 10<sup>-10</sup> at 4 to 16 times MIC, respectively, similar to LVFX.

6. The susceptibility of *S. pneumoniae* and *H. influenzae* to TFLX was decreased by 1/2 and equal after 7-time repeated subcultures at sub-MIC in the presence of TFLX, similar to that of LVFX.

7. Mutant prevention concentrations of TFLX against *S. pneumoniae* and *H. influenzae* were 0.4 and 0.07 μg/mL, respectively, similar to or lower than for LVFX.

8. Viable bacterial cells counts in lung in mice with pneumonia caused by PRSP in the TFLX-treated group was <4.22 Log<sub>10</sub> of CFU/g, less than in LVFX, AZM, or CFPN-treated groups.