

## Sitafloxacin の細菌学的評価

神田 裕子<sup>1)</sup>・黒坂 勇一<sup>1)</sup>・藤川香津子<sup>1)</sup>・千葉めぐみ<sup>1)</sup>・山近伸一郎<sup>1)</sup>・奥村 亮<sup>1)</sup>  
檜本 佳典<sup>1)</sup>・魚山 里織<sup>1)</sup>・星野 一樹<sup>1)</sup>・田中眞由美<sup>2)</sup>・大谷 剛<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 第一三共株式会社生物医学第四研究所\*

<sup>2)</sup> 同 プロジェクト推進部

(平成 19 年 11 月 5 日受付・平成 20 年 1 月 8 日受理)

新規キノロン系抗菌薬 sitafloxacin(STFX)は、各種細菌の臨床分離株を用いた感受性試験において、既存キノロン系抗菌薬耐性菌を含むグラム陽性菌ならびに陰性菌、さらには *Mycoplasma pneumoniae* および *Chlamydiaceae* などに対して、levofloxacin, ciprofloxacin (CPFX), moxifloxacin および tosofloxacin と比較して、最も高い抗菌活性を示した。特に、呼吸器感染症主要原因菌である *Streptococcus pneumoniae* および尿路感染症主要原因菌である *Escherichia coli* に対して、それぞれ 0.06 および 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の MIC<sub>90</sub> を示し、対照キノロン系抗菌薬と比較してそれぞれ 4~64 倍および 16~32 倍以上強い抗菌力を有していた。これらを含む主要菌種によるマウス敗血症モデルにおいて、STFX は、高い *in vitro* 抗菌活性を反映した強い感染防御効果を示した。また、本薬は、*Pseudomonas aeruginosa* に対して CPFX を上回る抗菌活性を示し、ラットを用いた複雑性尿路感染症モデルにおいても、CPFX より高い治療効果を示した。作用機作解析の結果では、STFX は、*S. pneumoniae* ならびに *E. coli* 由来の DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV の野生型ならびにキノロン耐性決定領域の 1 あるいは 2 カ所にアミノ酸置換を有する変異型酵素に対し、対照キノロン系抗菌薬と比較して高い阻害活性を示した。本薬の一変異型酵素に対する阻害活性は、対照キノロン系抗菌薬の野生型標的酵素に対する阻害活性と同等であった。

*in vitro* シミュレーションシステムを用いたヒト常用量 (50 mg 1 日 2 回) および最高用量 (100 mg 1 日 2 回) 経口投与時の血清中濃度推移での殺菌効果の検討では、STFX は *Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* および *Moraxella catarrhalis* に対して優れた殺菌効果を示した。特に、*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* に対しては、ヒト常用量投与モデルで、MIC<sub>90</sub> 値に相当する MIC を示す菌株に対しても強い殺菌効果を示した。さらに、キノロン系抗菌薬の薬効発現に関与する主要な薬物動態パラメータである AUC に着目し、ヒトと同程度の血中 AUC をマウスにて再現した結果、STFX はペニシリン耐性 *S. pneumoniae* によるマウス肺炎モデルにおいて高い治療効果を示した。

**Key words:** sitafloxacin, antibacterial activity

1980 年代に norfloxacin, ofloxacin が登場して以降のキノロン系抗菌薬は、それまでのキノロン系抗菌薬に比較し、抗菌スペクトルの拡大や体内動態の改善により、その適応疾患も拡大され、各種感染症治療に不可欠な存在になっている。しかし、その一方で、キノロン系抗菌薬の使用頻度や使用量の増加に伴い、近年キノロン耐性菌の出現が問題となっている。

特に尿路感染症では、主要原因菌である *Escherichia coli* において、キノロン系抗菌薬耐性菌が年々増加しており<sup>1)</sup>、2004 年の国内臨床分離株における ciprofloxacin (CPFX) 耐性率は 18%~28% に達したと報告されている<sup>2~4)</sup>。また、キノロン系以外の抗菌薬では、 $\beta$ -ラクタム系抗菌薬に耐性を示す基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生株の増加が問題になってい

るが、これらの株の一部はキノロン系抗菌薬にも耐性を示すことが報告されている<sup>5,6)</sup>。

一方、呼吸器感染症においては、 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性 *Haemophilus influenzae* (BLNAR)、ペニシリンあるいはマクロライド系抗菌薬耐性 *Streptococcus pneumoniae* の増加<sup>3)</sup> など、1 次選択薬に対する耐性化が深刻な状況にある。そのなかで、ニューキノロン系抗菌薬である levofloxacin (LVFX) は、上市以来 10 年以上にわたりこれらの呼吸器感染症主要原因菌に対する強い抗菌力を維持している<sup>1,4)</sup>。しかしながら、キノロン系抗菌薬の処方機会が多い高齢者由来の *S. pneumoniae* では、耐性化が進行しているとの報告がある<sup>7)</sup>。

*S. pneumoniae* におけるキノロン系抗菌薬耐性は、標的酵素

である DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV での段階的耐性変異の蓄積により、高度耐性化することが知られている<sup>8,9)</sup>。第 1 段階の変異を獲得した株の比率が、LVFX の MIC が 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の菌株のなかで 30~71%<sup>10-12)</sup>、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の菌株のなかで 6~25%<sup>11,12)</sup>との報告もあることから、将来における高度耐性菌の増加につながる可能性が危惧されている。このような背景を受けて、呼吸器感染症の主要原因菌である *S. pneumoniae* に対する抗菌活性を高めた、レスピラトリーキノロンと位置付けられる薬剤の開発が主流となっている。これらのレスピラトリーキノロンは、*S. pneumoniae* に対する活性は優れているものの、グラム陰性菌に対する活性は LVFX と同等、もしくはそれ以下であることが特徴である。

Sitafloxacin (STFX) は、グラム陽性菌だけでなくグラム陰性菌に対する抗菌活性の向上を指向して開発された新規キノロン系抗菌薬である。今回、本薬の抗菌力の特徴を明らかにするため、*in vitro* および *in vivo* における細菌学的評価を実施し、既存キノロン系抗菌薬である LVFX, CPFX, moxifloxacin (MFLX) および tosufloxacin (TFLX) と比較した。

## I. 材料と方法

### 1. 使用薬剤

STFX および LVFX (第一製薬株式会社 (現 第一三共株式会社) 合成品)、CPFEX および MFLX (バイエル薬品株式会社合成品もしくは市販錠からの抽出品)、TFLX (富山化学工業株式会社合成品もしくは市販錠からの抽出品)を用いた。また、各種薬剤耐性菌の確認に、oxacillin (MPIPC : Sigma-Aldrich)、ceftazidime (CAZ : Sigma-Aldrich)、imipenem (IPM : 萬有製薬株式会社)、ampicillin (ABPC : Sigma-Aldrich) および penicillin G (PCG : Sigma-Aldrich) を用いた。いずれの薬剤も純度あるいは含量が明らかなものを使用し、濃度は活性本体の値として表示した。

### 2. 使用菌株

メチシリン感受性 *Staphylococcus aureus* (MSSA)、メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA)、メチシリン感受性コアグララーゼ陰性 staphylococci (MSCNS)、メチシリン耐性コアグララーゼ陰性 staphylococci (MRCNS)、ペニシリン感受性 *S. pneumoniae* (PSSP)、ペニシリン中等度耐性 *S. pneumoniae* (PISP)、ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (PRSP)、*Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, アンピシリン感受性 *H. influenzae*, BLNAR,  $\beta$ -ラクタマーゼ産生アンピシリン耐性 *H. influenzae* (BLPAR), *Moraxella catarrhalis*, *Citrobacter* spp. (*C. freundii*, *C. koseri*, *C. braakii* および *Citrobacter* sp. を含む), *Enterobacter* spp. (*E. cloacae* および *E. aerogenes* を含む), *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Acinetobacter* spp. (*A. calcoaceticus* および *A. lwofii* を含む), 呼吸器感染症 (RTI) 由来 *Pseudomonas aeruginosa* および尿路感染症 (UTI) 由来 *P. aeruginosa* につい

ては、2004 年に臨床分離された菌株<sup>9)</sup>を供試した。*Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus avium*, *Klebsiella oxytoca*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Legionella pneumophila*, *Pep-  
tostreptococcus* spp. (*P. micros*, *P. magnus*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius*, *P. prevotii*, *P. indolicus* および *Pep-  
tostreptococcus* sp. を含む), *Bacteroides fragilis*, *Porphyromonas* spp. (*P. asaccharolytica*, *P. gingivalis* および *Porphyromonas* sp. を含む), *Prevotella* spp. (*P. intermedia*, *P. oralis*, *P. melaninogenica*, *P. oris*, *P. disiens*, *P. buccae* および *Prevotella* sp. を含む), *Fusobacterium* spp. (*F. nucleatum*, *F. varium*, *F. necrophorum* および *Fusobacterium* sp. を含む) および *Mycoplasma pneumoniae* については 2005 年に臨床分離された菌株を、バンコマイシン耐性 enterococci (*E. faecalis*, *E. faecium* および *E. gallinarum* を含む), *Shigella* spp. (*S. flexneri*, *S. sonnei* および *Shigella* sp. を含む), *Burkholderia cepacia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Clostridium difficile*, *Chlamydophila pneumoniae* および *Chlamydia trachomatis* については 2002 年~2005 年に臨床分離された菌株を使用した。また、1997 年~2003 年に分離された ESBP 産生 *E. coli* および *K. pneumoniae* を使用した。

### 3. 抗菌活性測定

MSSA, MRSA, MSCNS, MRCNS, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *S. enterica*, *S. marcescens*, *P. mirabilis*, *M. morganii*, *P. vulgaris*, *Acinetobacter* spp. および *P. aeruginosa* の薬剤感受性は、CLSI<sup>13)</sup> 標準法に準じた寒天平板法に従って最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。感受性測定培地には Mueller-Hinton agar (MHA : Difco, Becton Dickinson and Company (BD), Sparks, MD, USA), 2% NaCl 添加 MHA (staphylococci 用), 0.3% 精製寒天添加 MHA (*Proteus* spp. 用), あるいは 5% 羊脱繊維素血液添加チョコレート寒天培地 (*S. pyogenes*, *M. catarrhalis* 用) を使用した。*H. influenzae* および *S. pneumoniae* の感受性測定は、それぞれ 5% Fildes enrichment (BBL, BD) 添加 MHA, および 5% 羊脱繊維素血液添加チョコレート寒天培地を用いた寒天平板法にて実施し、接種菌液の調製等は CLSI<sup>13)</sup> 標準法の液体培地希釈法に準じて実施した。*S. agalactiae*, *E. avium*, *K. oxytoca*, *S. maltophilia*, バンコマイシン耐性 enterococci, *Shigella* spp., *B. cepacia*, *A. xylosoxidans* の薬剤感受性測定は、National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS : 現 Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)<sup>14)</sup> 標準法および CLSI<sup>15)</sup> 標準法に準じた微量液体希釈法で実施した。感受性測定には Cation-Adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB : Difco Laboratories, Sparks, MD, USA) あるいは 2% ウマ溶血液 (LHB) 添加 CAMHB 培地 (streptococci 用) を用いて作製したフローズプレート (栄研化学, 東京) を使用した。薬剤感受性測定における精度管理は NCCLS

法<sup>14)</sup>および CLSI 法<sup>15)</sup>に準じ実施した。また、臨床分離株を分類する際の基準となる薬剤ならびに MIC は、CLSI の基準<sup>15)</sup>に従った。偏性嫌気性菌の MIC 測定は NCCLS<sup>16)</sup>標準法に準じ、MIC 測定培地には 5%LHB 添加 Brucella broth (フローズンプレート; 栄研化学) を用いた。*L. pneumophila* の薬剤感受性は猿渡らの方法<sup>17)</sup>に準じた寒天平板希釈法にて測定した。すなわち、感受性測定には B-SYE 寒天培地を使用し、接種菌量は約  $10^4$  CFU/spot とした。MIC は測定培地を 35°C、好気条件下にて 40~72 時間培養後に判定した。*M. pneumoniae* の薬剤感受性は Yamaguchi<sup>18)</sup>らの方法に準じ微量液体希釈法 (color change method) により測定した。すなわち、感受性測定には Modified chanock broth (pH7.8) を使用し、接種菌量は約  $2 \times 10^5$  CFU/mL とした。MIC は、測定プレートを 35°C、好気条件下にて、4~10 日間培養し、発育コントロールの培地が完全に黄変した時点で目視にて判定を行い、培地の色が陰性コントロールと同程度に赤色 (赤橙色) を示す well の最小の薬剤濃度を MIC とした。*Chlamydiaceae* の薬剤感受性は、日本化学療法学会標準法<sup>19)</sup>に準じて測定した。すなわち、試験菌株を接種した HeLa 229 細胞を、薬剤存在下で 5%CO<sub>2</sub> 条件下にて *C. pneumoniae* は 35°C、*C. trachomatis* は 37°C で 60~72 時間培養し、IF 法にて染色判定し、封入体形成を抑制した最小の薬剤濃度を MIC とした。なお、*C. pneumoniae* の感受性測定には 1 µg/mL cycloheximide 含有 10% 熱非働化牛胎児血清 (FCS) 加 Eagle's MEM (MEM) を、*C. trachomatis* の感受性測定には 1 µg/mL cycloheximide 含有 8% 熱非働化 FCS 加 MEM を使用した。

#### 4. 標的酵素に対する阻害活性

*E. coli* および *S. pneumoniae* の *gyrA*, *gyrB*, *parC* および *parE* 遺伝子を PCR で増幅後、Intein-tag 発現ベクター pTYB1 (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) に組み込み、各サブユニット蛋白質発現ベクターとした。また、QuikChange II XL site-directed mutagenesis kit (Stratagene, La Jolla, CA, USA) を用いて、GyrA および ParC 発現ベクター上のキノロン耐性決定領域 (QRDR) に変異を導入し、変異蛋白質発現ベクターを製作した。各発現ベクターを導入した *E. coli* BL21 (DE3) 株を IPTG 誘導下で培養後、集菌し、菌体を TNE バッファー (20 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 1 mM EDTA) に懸濁した。溶菌処理後、キチンカラム (New England Biolabs) を用いて、各リコンビナント蛋白質を精製した。GyrA と GyrB、および ParC と ParE を組合せて、それぞれ DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV を再構成した。DNA ジャイレースの場合にはリラックス型 pBR322 を基質として用い、スーパーコイル活性に対する 50% 阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) を測定した。トポイソメラーゼ IV の場合には、キネトプラスト DNA (TopoGEN, Inc., Port Orange FL, USA) を基質として用い、デカテネー

ション活性に対する IC<sub>50</sub> を測定した。

#### 5. 自然耐性菌出現頻度

STFX に対する *E. coli* JCM 1649 株の自然耐性菌出現頻度を、LVFX, MFLX および CPFYX を対照薬として比較した。すなわち、対数増殖期の菌液を 5,000 rpm、20 分遠心し約  $10^{10}$ ~ $10^{11}$  CFU/mL に濃縮した。この菌液を 1~32 MIC の供試薬剤含有寒天培地に塗布し、35°C、48 時間培養後の発育コロニー数を計測 (A) した。同時に薬剤不含有培地上の発育集落数を計測 (B) し、式  $F = A/B$  から自然耐性菌出現頻度 (F) を算出した。

#### 6. *in vitro* 血清中濃度シミュレーションシステムを用いた殺菌効果の検討

##### 1) シミュレーションモデルの設定

血清中濃度推移の再現は、オートシミュレーションシステム (PASS400, 大日本精機, 京都) を用いて行った。本実験では、ヒト経口投与時のモデルとして、STFX 50 mg を 1 日 2 回経口投与した場合、ならびに STFX 100 mg を 1 日 2 回経口投与した場合の血清中濃度推移を設定した。各モデルの濃度推移 (Fig. 1A) は、ヒト第 I 相臨床試験単回投与時の血清濃度推移に基づき<sup>20)</sup>、初回投与 10 時間後に 2 回目を投与するよう設定した。

##### 2) 殺菌作用の検討

1998 年に臨床分離された<sup>21)</sup> *S. aureus* 037114 株, *S. pneumoniae* 1533254 株, *E. coli* 033451 株, *P. aeruginosa* 033306 株, *H. influenzae* 037735 株, *M. catarrhalis* 037082 株の計 6 株を用いた。37°C で一夜培養した菌株を、約 1 時間振盪培養し、Mueller-Hinton broth (MHB) にて約  $10^6$  CFU/mL になるよう適宜希釈後、培養を開始した。但し、*S. pneumoniae* の培養には 5% 馬血清添加 MHB を、*H. influenzae* には 5% Fildes enrichment 添加 MHB を用いた。培養開始後、24 時間後まで、1 時間ごとに菌液を 3% スキムミルク溶液 (終濃度) 中にサンプリングした。サンプリングした菌液は、適宜希釈後、その一定量を MHA 平板上に塗布し、37°C で一夜培養後、寒天平板上のコロニー数を計測し、生菌数を算出した。但し、*S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* には 5% 馬血液添加 HIA を、*H. influenzae* には 5% Fildes enrichment 添加 MHA を使用した。なお、菌液原液を寒天平板に塗布した場合の発育コロニー数が、10 コロニー以下を誤差とみなし、 $10^2$  CFU/mL を検出限界とした。また、培養 24 時間後の菌液を、1/4~8 MIC 濃度の STFX 含有培地上に塗布し、同条件で塗布・培養した薬剤非含有培地上のコロニー数と比較し、薬剤感受性の変化を検討した。

#### 7. 実験的感染モデルにおける治療効果

##### 1) マウス全身感染モデル

Slc : ddY 系マウス、雄 5 週齢 (日本エスエルシー、静岡) を 1 群 10 匹で用いた。Todd-Hewitt broth (THB; Difco, BD) または Tryptosoy agar (TBA; 栄研化学) で一夜培養した菌を、0.033 M リン酸緩衝液 (pH 7.0, PB)

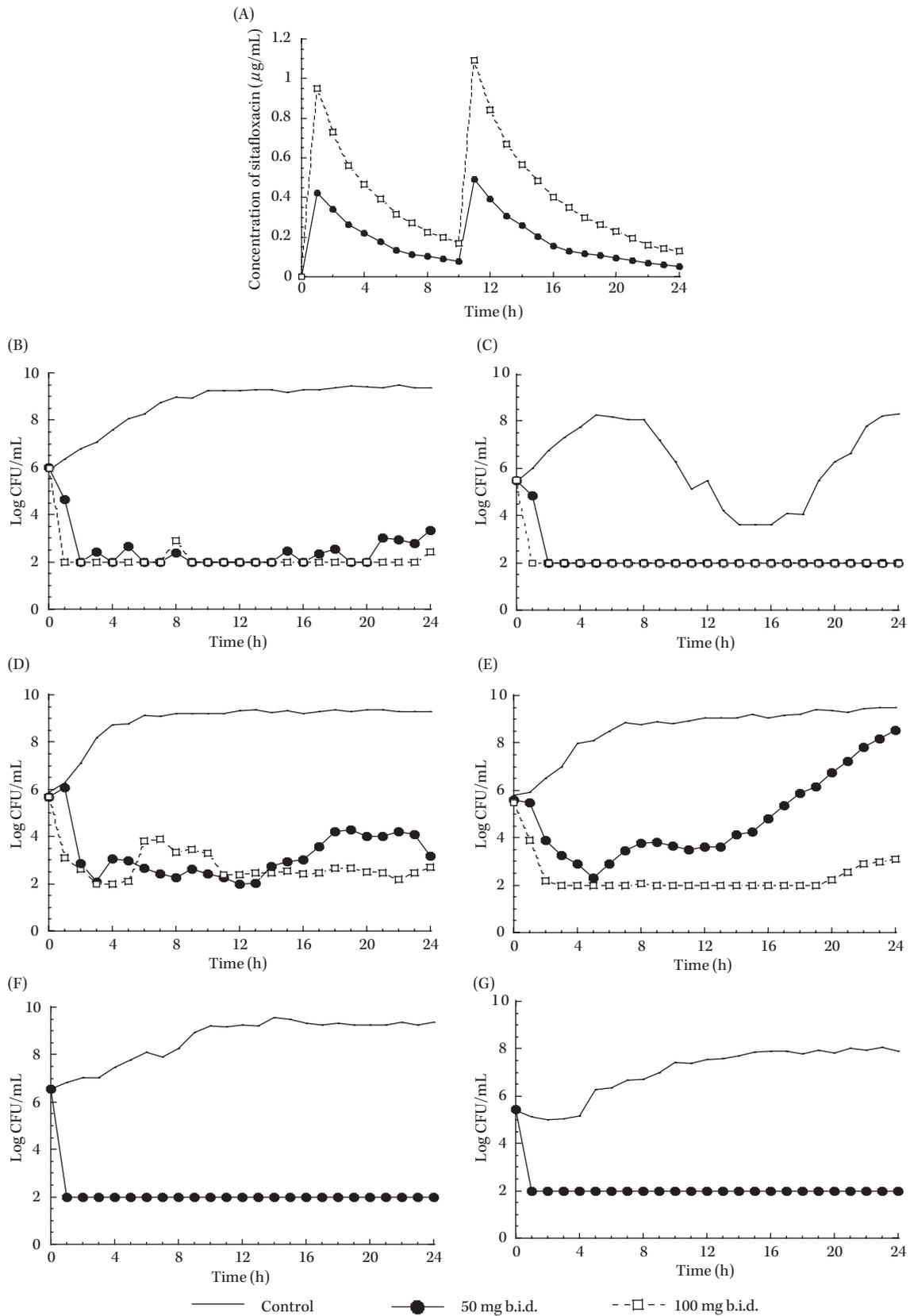


Fig. 1. Simulated serum concentration of sitafloxacin in an *in vitro* pharmacokinetic model and bactericidal activity of sitafloxacin against clinical isolates in the model.

(A) simulated serum concentration of 50 mg b.i.d. and 100 mg b.i.d. sitafloxacin. Bactericidal activity of sitafloxacin against clinical isolated (B) *S. aureus* 037114, (C) *S. pneumoniae* 1533254, (D) *E. coli* 033451, (E) *P. aeruginosa* 033306, (F) *H. influenzae* 037735, (G) *M. catarrhalis* 037082.

もしくは3% gastric mucin (ナカライテスク, 京都) を用いて, 接種菌液中に最小致死菌量を含むように調製し, 腹腔内接種した。薬剤はSTFX, LVFX, CPFYX および TFLX を用い, CPFYX は1% methyl cellulose (ナカライテスク) に, その他の薬剤は0.5% carboxymethyl cellulose (和光純薬工業, 大阪) に懸濁し, 適宜希釈した。各投与液は, MRSA 感染モデルでは, 感染直後および2時間後に, その他の感染モデルでは感染直後にのみ経口投与した。感染7日後の生存率を基に, 50%有効量 ( $ED_{50}$ ) および95%信頼区間 ( $CI_{95}$ ) を算出した。

### 2) 緑膿菌性ラット複雑性尿路感染モデル

Crj: CD (SD) IGS系ラット, 雌7週齢 (日本チャールスリバー, 神奈川) の膀胱内に異物 [ポリエチレンチューブ (PT; PE-50, BD)] を留置し<sup>22)</sup>, 1群5匹で用いた。TBA 培地で一夜培養した *P. aeruginosa* 910735 株を PB に懸濁した。これを, ケタミン (三共株式会社 (現第一三共株式会社), 東京) ・キシラジン (日本バイエル株式会社 (現 バイエルメディカル株式会社), 東京) 混合麻酔下のラットに, 0.5 mL ずつ経尿道的に接種した ( $3.2 \times 10^6$  CFU/ラット)。接種後は, 尿道口を4時間閉塞し, 閉塞解除後から給水を再開した。薬剤はSTFX, LVFX および CPFYX を用い, 感染2日後から0.625, 2.5 および 10 mg/kg を1日1回連続3日間経口投与した。最終薬剤投与翌日の腎, 膀胱内および PT 表面の付着菌数を測定し, 治療効果の指標とした。

### 3) PRSP 性マウス肺炎モデル

CBA/JNcrj 系マウス, 雄, 5週齢 (日本チャールスリバー) を1群7~8匹で用いた。THB で16時間嫌気培養した PRSP 033806 株を, 遠心分離後 PB で再懸濁し, ケタミン・キシラジン麻酔下のマウスに50  $\mu$ L の割合で点鼻接種した ( $2.0 \times 10^6$  CFU/マウス)。薬剤は常用量または最高用量の経口投与時にヒト血中で達成される AUC をマウス血中で再現させる用量を設定し, 1日量を2分割して感染2および6時間後に経口投与した。すなわち, STFX では60 および 120 mg/kg/日, LVFX では100 および 200 mg/kg/日, TFLX では70 および 90 mg/kg/日とした。薬剤投与翌日の肺内菌数を測定し, 治療効果の指標とした。

### 4) 統計解析

無処置対照群との比較には Dunnett 検定を, 薬剤間比較には Tukey 検定を用いた。 $ED_{50}$  および  $CI_{95}$  の算出には probit 法を用いた。なお, すべての統計解析は, EXSAS (Version 5.00, アーム, 大阪) を用いて実施した。

## II. 結 果

### 1. 臨床分離菌株に対する抗菌活性

臨床分離菌株に対する STFX および対照薬剤の MIC の範囲 (range),  $MIC_{50}$  および  $MIC_{90}$  を Table 1 に示した。

#### 1) グラム陽性菌

STFX は, グラム陽性菌に対して, 供試キノロン系抗

菌薬中最も高い抗菌活性を示した。メチシリン感受性 staphylococci に対して, 本薬は対照キノロン系抗菌薬耐性菌を含むすべての菌株の発育を  $0.25 \mu\text{g/mL}$  以下で阻止した。また, MRSA および MRCNS に対する  $MIC_{90}$  はそれぞれ8 および  $0.5 \mu\text{g/mL}$  であり, LVFX の16~64倍, CPFYX の32~64倍, MFLX の4~16倍, TFLX の4~32倍高い活性を示した。*S. pneumoniae* に対しても, STFX は, 対照キノロン系抗菌薬耐性菌を含むすべての株の発育を  $0.25 \mu\text{g/mL}$  以下で阻止した。また, PSSP, PISP および PRSP に対する  $MIC_{90}$  はすべて  $0.06 \mu\text{g/mL}$  であり, PCG に対する感受性にかかわらず, 本薬の抗菌活性は MFLX および TFLX の4~8倍, LVFX の16~32倍, CPFYX の32~64倍高かった。*S. pyogenes* および *S. agalactiae* に対する STFX の  $MIC_{90}$  は, それぞれ  $0.06 \mu\text{g/mL}$  および  $0.5 \mu\text{g/mL}$  であり, 対照キノロン系抗菌薬と比較してそれぞれ4~32倍および16~64倍高い活性を示した。

腸球菌属では, *E. faecalis* および *E. faecium* に対する  $MIC_{90}$  はそれぞれ2 および  $4 \mu\text{g/mL}$  であり, STFX は LVFX および CPFYX の16倍, MFLX および TFLX の4~8倍高い活性を示した。*E. avium* に対する STFX の MIC は  $\leq 0.06$  あるいは  $0.12 \mu\text{g/mL}$  であり, 対照キノロン系抗菌薬の2~8倍以上の高活性を示した。また, 本薬は, バンコマイシン (VCM) 耐性 (VCM の MIC :  $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ ) enterococci に対しても, 供試キノロン系抗菌薬中最も低い MIC ( $\leq 0.06 \sim 4 \mu\text{g/mL}$ ) を示した。

#### 2) グラム陰性菌

STFX の腸内細菌科菌種に対する  $MIC_{90}$  は  $0.015 \sim 1 \mu\text{g/mL}$  と供試キノロン系抗菌薬中最も低値であり, 本薬は対照キノロン系抗菌薬耐性菌に対しても高い抗菌活性を示した。特に, *E. coli*, *P. mirabilis* およびインドール陽性 *Proteus* に対しては, 対照キノロン系抗菌薬と比較して, それぞれ16倍~32倍, 8~32倍および4~32倍の高活性を示した。また, STFX の ESBL 産生 *E. coli* および *K. pneumoniae* に対する  $MIC_{90}$  はそれぞれ1 および  $0.25 \mu\text{g/mL}$  であり, 本薬の抗菌活性は, 対照キノロン系抗菌薬と比較して, ESBL 産生の影響を受けなかった。

*Acinetobacter* spp., *A. xylosoxidans*, *S. maltophilia* および *B. cepacia* に対して, STFX は対照キノロン系抗菌薬耐性菌を含むすべての菌株の発育を  $2 \mu\text{g/mL}$  で阻止し, 対照キノロン系抗菌薬と比較して2~32倍高い抗菌活性を示した。また, RTI および UTI 由来 *P. aeruginosa* に対する STFX の  $MIC_{90}$  は, それぞれ1 および  $8 \mu\text{g/mL}$  であり, 本薬は対照キノロン系抗菌薬と比較すると, それぞれ2~8倍および8~32倍以上の高活性を示した。

*H. influenzae* に対しても STFX は高い抗菌活性を示し, すべての株の発育を  $0.06 \mu\text{g/mL}$  以下で阻止した。また, 本薬の抗菌力は ABPC 感受性あるいは  $\beta$ -ラクタマーゼ産生性の影響を受けず, ABPC 感受性 *H. influenzae*

Table 1. Antibacterial activity of sitafloxacin and other agents against clinical isolates

Organism (Number of strains)	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		Range	50%	90%
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (26)	STFX	0.015 - 0.25	0.03	0.06
	LVFX	0.12 - 4	0.25	0.25
	CPFEX	0.25 - 16	0.5	0.5
	MFLX	0.03 - 2	0.06	0.12
	TFLX	0.015 - 4	0.03	0.06
	MPIPC	0.12 - 0.5	0.25	0.5
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (26)	STFX	0.03 - 16	0.25	8
	LVFX	0.5 - > 64	32	> 64
	CPFEX	0.25 - > 128	8	> 128
	MFLX	0.03 - 64	1	32
	TFLX	0.03 - > 16	4	> 16
	MPIPC	16 - > 128	> 128	> 128
Methicillin-susceptible, coagulase-negative staphylococci (MSCNS) (21)	STFX	0.015 - 0.25	0.015	0.03
	LVFX	0.12 - 4	0.25	0.5
	CPFEX	0.06 - 8	0.12	0.25
	MFLX	0.03 - 1	0.06	0.12
	TFLX	0.03 - 2	0.06	0.12
	MPIPC	0.06 - 0.25	0.06	0.12
Methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci (MRCNS) (26)	STFX	0.015 - 2	0.12	0.5
	LVFX	0.25 - 128	4	32
	CPFEX	0.12 - > 64	4	32
	MFLX	0.06 - 32	1	8
	TFLX	0.03 - 16	4	16
	MPIPC	2 - > 128	16	> 128
Penicillin-susceptible <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PSSP) (22)	STFX	0.015 - 0.12	0.03	0.06
	LVFX	0.5 - 8	1	1
	CPFEX	0.25 - 16	1	4
	MFLX	0.06 - 2	0.12	0.25
	TFLX	0.12 - 2	0.12	0.25
	PCG	0.008 - 0.06	0.03	0.06
Penicillin-intermediate <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP) (20)	STFX	0.03 - 0.25	0.06	0.06
	LVFX	0.5 - 4	1	2
	CPFEX	0.5 - 8	2	2
	MFLX	0.06 - 0.25	0.12	0.25
	TFLX	0.12 - 0.5	0.25	0.5
	PCG	0.12 - 1	0.5	1
Penicillin-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP) (31)	STFX	0.03 - 0.12	0.06	0.06
	LVFX	0.5 - 4	1	2
	CPFEX	0.5 - 8	2	4
	MFLX	0.06 - 0.5	0.12	0.25
	TFLX	0.12 - 0.5	0.25	0.25
	PCG	2 - 8	2	4
<i>Streptococcus pyogenes</i> (26)	STFX	0.015 - 0.06	0.03	0.06
	LVFX	0.25 - 2	0.5	2
	CPFEX	0.5 - 4	1	2
	MFLX	0.06 - 0.5	0.12	0.25
	TFLX	0.06 - 1	0.25	0.5
	<i>Streptococcus agalactiae</i> (25)	STFX	$\leq 0.06 - 0.5$	$\leq 0.06$
LVFX		0.5 - 32	1	32
CPFEX		0.5 - 32	1	32
TFLX		0.12 - 8	0.5	8
<i>Enterococcus faecalis</i> (26)	STFX	0.06 - 2	0.12	2
	LVFX	0.5 - 32	1	32
	CPFEX	0.5 - 32	1	32
	MFLX	0.12 - 16	0.25	8
	TFLX	0.12 - 16	0.25	16

(Continued)

Table 1 (Continued)

Organism (Number of strains)	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Enterococcus faecium</i> (26)	STFX	0.12 - 8	1	4
	LVFX	2 - 128	32	64
	CPFX	2 - > 64	32	64
	MFLX	1 - 64	8	32
	TFLX	1 - 16	16	16
<i>Enterococcus avium</i> (5)	STFX	$\leq 0.06$ - 0.12	-	-
	LVFX	0.5	-	-
	CPFX	0.5	-	-
	TFLX	0.12 - 0.5	-	-
Vancomycin-resistant enterococci (8) <sup>a)</sup>	STFX	$\leq 0.06$ - 4	-	-
	LVFX	0.5 - 64	-	-
	CPFX	0.5 - 64	-	-
	TFLX	0.12 - > 16	-	-
	VCM	32 - > 128	-	-
<i>Escherichia coli</i> (52)	STFX	$\leq 0.004$ - 2	0.008	1
	LVFX	0.015 - 32	0.03	16
	CPFX	$\leq 0.004$ - 32	0.008	16
	MFLX	0.008 - 32	0.03	16
	TFLX	$\leq 0.004$ - > 16	0.015	> 16
ESBL-producing <i>Escherichia coli</i> (15)	STFX	0.008 - 2	0.12	1
	LVFX	0.015 - 32	1	32
	CPFX	0.008 - 32	0.5	32
	MFLX	0.06 - 32	1	32
	TFLX	0.015 - > 32	0.5	32
	CAZ	0.5 - > 128	4	> 128
	IPM	0.06 - 0.5	0.12	0.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (25)	STFX	0.008 - 16	0.015	0.12
	LVFX	0.03 - 64	0.06	0.5
	CPFX	0.015 - 64	0.015	0.5
	MFLX	0.03 - 64	0.06	1
	TFLX	0.008 - > 16	0.015	0.5
ESBL-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> (10)	STFX	0.008 - 0.5	0.03	0.25
	LVFX	0.03 - 8	0.12	2
	CPFX	0.015 - 4	0.06	1
	MFLX	0.03 - 4	0.25	2
	TFLX	0.015 - 4	0.03	1
	CAZ	0.5 - > 128	4	> 128
	IPM	0.06 - 0.25	0.12	0.25
<i>Klebsiella oxytoca</i> (25)	STFX	$\leq 0.06$ - 0.5	$\leq 0.06$	0.5
	LVFX	$\leq 0.06$ - 8	$\leq 0.06$	4
	CPFX	$\leq 0.06$ - 16	$\leq 0.06$	4
	TFLX	$\leq 0.06$ - 4	$\leq 0.06$	4
<i>Citrobacter</i> spp. (26) <sup>b)</sup>	STFX	0.008 - 2	0.12	0.5
	LVFX	0.015 - 4	0.25	1
	CPFX	$\leq 0.004$ - 1	0.03	0.25
	MFLX	0.03 - 8	0.5	2
	TFLX	0.008 - 4	0.25	1
<i>Enterobacter</i> spp. (24) <sup>c)</sup>	STFX	0.008 - 0.5	0.015	0.12
	LVFX	0.03 - 2	0.06	0.5
	CPFX	0.008 - 1	0.015	0.25
	MFLX	0.03 - 4	0.06	0.5
	TFLX	0.015 - 2	0.03	0.5

(Continued)

Table 1 (Continued)

Organism (Number of strains)	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Serratia marcescens</i> (25)	STFX	0.015 - 0.5	0.06	0.25
	LVFX	0.06 - 2	0.25	2
	CPFX	0.015 - 2	0.06	1
	MFLX	0.06 - 2	0.25	2
	TFLX	0.03 - 2	0.12	1
<i>Proteus mirabilis</i> (26)	STFX	0.008 - 4	0.015	1
	LVFX	0.03 - 32	0.06	8
	CPFX	0.008 - 64	0.015	8
	MFLX	0.12 - 32	0.25	32
	TFLX	0.03 - 16	0.06	8
<i>Morganella morganii</i> (12)	STFX	0.008 - 0.25	0.015	0.12
	LVFX	0.015 - 4	0.03	2
	CPFX	$\leq 0.004 - 4$	0.008	1
	MFLX	0.06 - 8	0.12	8
	TFLX	0.015 - 8	0.06	4
<i>Proteus vulgaris</i> (9)	STFX	0.008 - 0.12	-	-
	LVFX	0.015 - 0.25	-	-
	CPFX	0.008 - 0.06	-	-
	MFLX	0.12 - 0.5	-	-
	TFLX	0.03 - 0.25	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (26)	STFX	0.008 - 0.06	0.015	0.015
	LVFX	0.03 - 0.5	0.06	0.06
	CPFX	0.008 - 0.25	0.008	0.06
	MFLX	0.03 - 0.5	0.06	0.12
	TFLX	0.015 - 0.25	0.03	0.03
<i>Shigella</i> spp. (20) <sup>d)</sup>	STFX	$\leq 0.06 - 0.5$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	LVFX	$\leq 0.06 - 4$	$\leq 0.06$	0.25
	CPFX	$\leq 0.06 - 4$	$\leq 0.06$	0.12
	TFLX	$\leq 0.06 - 4$	$\leq 0.06$	0.12
<i>Acinetobacter</i> spp. (25) <sup>e)</sup>	STFX	0.015 - 2	0.03	0.5
	LVFX	0.06 - 8	0.12	2
	CPFX	0.06 - 32	0.12	16
	MFLX	0.03 - 8	0.06	2
	TFLX	0.015 - 8	0.03	1
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> (25)	STFX	0.12 - 2	0.25	2
	LVFX	1 - 32	2	16
	CPFX	1 - 64	2	16
	TFLX	1 - > 16	4	> 16
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (25)	STFX	$\leq 0.06 - 1$	0.12	0.5
	LVFX	0.25 - 8	0.5	2
	CPFX	0.5 - 16	1	4
	TFLX	$\leq 0.06 - 4$	0.25	1
<i>Burkholderia cepacia</i> (25)	STFX	$\leq 0.06 - 1$	0.25	1
	LVFX	0.25 - 8	1	4
	CPFX	0.25 - 8	1	4
	TFLX	0.12 - 8	1	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> from RTI (24)	STFX	0.06 - 4	0.12	1
	LVFX	0.25 - 64	1	8
	CPFX	0.06 - 16	0.12	4
	TFLX	0.12 - > 32	0.25	2

(Continued)

Table 1 (Continued)

Organism (Number of strains)	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> from UTI (26)	STFX	$\leq 0.004 - 16$	0.25	8
	LVFX	$0.06 - > 128$	2	$> 128$
	CPFX	$0.008 - > 64$	0.5	64
	MFLX	$0.06 - > 128$	4	128
	TFLX	$0.008 - > 32$	0.5	$> 32$
<i>Legionella pneumophila</i> (10)	STFX	$\leq 0.004 - 0.008$	$\leq 0.004$	0.008
	LVFX	$0.03 - 0.06$	0.03	0.06
	CPFX	$0.03 - 0.06$	0.03	0.06
	MFLX	$0.06 - 0.12$	0.06	0.12
	TFLX	$0.008 - 0.015$	0.015	0.015
<i>Haemophilus influenzae</i> ampicillin-susceptible (24)	STFX	$\leq 0.004 - 0.06$	$\leq 0.004$	$\leq 0.004$
	LVFX	$0.008 - 2$	0.008	0.03
	CPFX	$\leq 0.004 - 1$	$\leq 0.004$	0.015
	MFLX	$\leq 0.004 - 1$	0.008	0.03
	TFLX	$\leq 0.004 - 1$	$\leq 0.004$	0.008
	ABPC	$0.12 - 1$	0.25	1
<i>Haemophilus influenzae</i> $\beta$ -lactamase-negative, ampicillin-resistant (BLNAR) (26)	STFX	$\leq 0.004 - 0.015$	$\leq 0.004$	$\leq 0.004$
	LVFX	$0.008 - 0.25$	0.015	0.015
	CPFX	$\leq 0.004 - 0.25$	0.008	0.008
	MFLX	$0.008 - 0.25$	0.015	0.03
	TFLX	$\leq 0.004 - 0.12$	$\leq 0.004$	0.008
	ABPC	$2 - 8$	2	4
<i>Haemophilus influenzae</i> $\beta$ -lactamase-positive, ampicillin-resistant (BLPAR) (25)	STFX	$\leq 0.004 - 0.015$	$\leq 0.004$	$\leq 0.004$
	LVFX	$0.008 - 0.25$	0.015	0.03
	CPFX	$\leq 0.004 - 0.5$	0.008	0.015
	MFLX	$\leq 0.004 - 0.5$	0.015	0.06
	TFLX	$\leq 0.004 - 0.5$	0.008	0.03
	ABPC	$8 - > 128$	64	$> 128$
<i>Moraxella catarrhalis</i> (25)	STFX	$\leq 0.004 - 0.12$	0.015	0.015
	LVFX	$0.03 - 2$	0.03	0.06
	CPFX	$0.015 - 1$	0.03	0.06
	MFLX	$0.015 - 1$	0.06	0.12
	TFLX	$0.008 - 0.25$	0.015	0.03
<i>Peptostreptococcus</i> spp. (50) <sup>d)</sup>	STFX	$\leq 0.06 - 0.25$	$\leq 0.06$	0.12
	LVFX	$0.12 - 64$	0.5	8
	CPFX	$0.12 - 32$	0.5	8
	TFLX	$\leq 0.06 - 8$	0.12	1
<i>Clostridium difficile</i> (30)	STFX	$0.12 - 1$	1	1
	LVFX	$4 - 128$	64	128
	CPFX	$4 - 64$	16	64
	TFLX	$1 - > 16$	4	$> 16$
<i>Bacteroides fragilis</i> (50)	STFX	$\leq 0.06 - 2$	$\leq 0.06$	0.5
	LVFX	$1 - 64$	2	32
	CPFX	$2 - 128$	4	32
	TFLX	$0.25 - 16$	1	8
<i>Porphyromonas</i> spp. (25) <sup>e)</sup>	STFX	$\leq 0.06 - 0.5$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	LVFX	$\leq 0.06 - 8$	0.25	0.5
	CPFX	$0.5 - 2$	1	2
	TFLX	$\leq 0.06 - 1$	0.25	1
<i>Prevotella</i> spp. (25) <sup>h)</sup>	STFX	$\leq 0.06 - 0.5$	$\leq 0.06$	0.25
	LVFX	$0.5 - 8$	1	4
	CPFX	$0.5 - 32$	1	16
	TFLX	$0.25 - 8$	0.5	2

(Continued)

Table 1 (Continued)

Organism (Number of strains)	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Fusobacterium</i> spp. (50) <sup>b)</sup>	STFX	$\leq 0.06$ - 1	$\leq 0.06$	0.25
	LVFX	0.12 - 128	0.5	4
	CPFX	0.12 - 32	1	8
	TFLX	$\leq 0.06$ - 4	0.25	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (10)	STFX	0.015 - 0.03	0.03	0.03
	LVFX	0.5	0.5	0.5
	CPFX	0.5 - 1	1	1
	MFLX	0.03 - 0.12	0.06	0.12
<i>Chlamydia pneumoniae</i> (7)	TFLX	0.25	0.25	0.25
	STFX	0.03 - 0.06	-	-
	LVFX	0.5	-	-
	CPFX	0.5 - 1	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> (3)	MFLX	0.03 - 0.06	-	-
	TFLX	0.12 - 0.25	-	-
	STFX	0.03	-	-
	LVFX	0.5	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> (3)	CPFX	1	-	-
	MFLX	0.06	-	-
	TFLX	0.12	-	-

Each species includes <sup>a)</sup>Vancomycin-resistant *E. faecalis* (5), vancomycin-resistant *E. faecium* (2), vancomycin-resistant *E. gallinarum* (1), <sup>b)</sup>*C. freundii* (13), *C. koseri* (6), *C. braakii* (5), *Citrobacter* sp. (2), <sup>c)</sup>*E. cloacae* (18), *E. aerogenes* (6), <sup>d)</sup>*S. sonnei* (11), *S. flexneri* (7), *Shigella* sp. (2), <sup>e)</sup>*A. calcoaceticus* (24), *A. lwoffii* (1), <sup>f)</sup>*P. magnus* (19), *P. micros* (14), *P. asaccharolyticus* (12), *P. anaerobius* (2), *P. prevotii* (1), *P. indolicus* (1), *Peptostreptococcus* sp. (1), <sup>g)</sup>*P. asaccharolytica* (20), *P. gingivalis* (4), *Porphyromonas* sp. (1), <sup>h)</sup>*P. intermedia* (7), *P. oralis* (5), *P. melaninogenica* (4), *P. oris* (3), *P. disiens* (2), *P. buccae* (1), *Prevotella* sp. (3), <sup>i)</sup>*F. nucleatum* (14), *F. varium* (9), *F. necrophorum* (5) および <sup>f)</sup>*Fusobacterium* sp. (22).

Abbreviations: STFX: sitafloxacin, LVFX: levofloxacin, CPFX: ciprofloxacin, MFLX: moxifloxacin, TFLX: tosufloxacin, MIPIC: oxacillin, VCM: vancomycin, PCG: penicillin G, CAZ: ceftazidime, IPM: imipenem, ABPC: ampicillin, ESBL: extended spectrum  $\beta$ -lactamase, RTI: respiratory tract infection, UTI: urinary tract infection

zae, BLNAR および BLPAR に対する MIC<sub>90</sub> はすべて  $\leq 0.004 \mu\text{g}/\text{mL}$  であり, 対照キノロン系抗菌薬の 2~16 倍以上の抗菌活性を示した。また, *M. catarrhalis* に対する STFX の MIC<sub>90</sub> は  $0.015 \mu\text{g}/\text{mL}$  であり, 対照キノロン系抗菌薬と比較して 2~8 倍の高い抗菌活性を示した。

*L. pneumophila* に対しても STFX は高い抗菌活性を示し,  $0.008 \mu\text{g}/\text{mL}$  で供試したすべての株の発育を阻止した。本薬の抗菌活性は, MIC<sub>90</sub> で比較すると対照キノロン系抗菌薬より 2~16 倍高活性を示した。

### 3) 偏性嫌気性菌

STFX は, 偏性嫌気性菌に対しても, 供試キノロン系抗菌薬中最も高い抗菌活性を示した。*Peptostreptococcus* spp. および *Clostridium difficile* に対する STFX の MIC<sub>90</sub> は, それぞれ  $0.12$  および  $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  であり, 本薬は対照キノロン系抗菌薬の 8~128 倍高活性を示した。また, *B. fragilis*, *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp. および *Fusobacterium* spp. に対する STFX の MIC<sub>90</sub> は, それぞれ  $0.5$ ,  $\leq 0.06$ ,  $0.25$  および  $0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$  であり, 対照キノロン系抗菌薬と比較して 4~64 倍高活性であった。

Table 2. Inhibitory activity of quinolones against wild-type and altered *S. pneumoniae* topoisomerases

Antibacterial agent	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
	DNA gyrase (GyrA)		Topoisomerase IV (ParC)	
	Wild type	S81F	Wild type	S79F
STFX	6.16	51.4 (8.3) *	3.13	16.6 (5.3)
LVFX	79.7	481 (6.0)	22.4	480 (21)
MFLX	26.4	268 (10)	11.0	209 (19)
CPFX	59.0	240 (4.1)	11.8	104 (8.8)

\* Values in parenthesis are multiples of IC<sub>50</sub> (altered/Wild type).  
Abbreviations: see footnote of Table 1.

### 4) *M. pneumoniae* および *Clamydiaceae*

STFX は *M. pneumoniae* に対しても対照キノロン系抗菌薬と比較して 2~32 倍高活性を示し,  $0.03 \mu\text{g}/\text{mL}$  で供試したすべての株の発育を阻止した。

*C. pneumoniae* および *C. trachomatis* に対する STFX の MIC は  $0.03\sim 0.06 \mu\text{g}/\text{mL}$  であり, MFLX とほぼ同等, 他の対照キノロン系抗菌薬の 4~32 倍高活性を示した。

Table 3. Inhibitory activity of quinolones against wild-type and altered *E. coli* topoisomerases

Antibacterial agent	IC <sub>50</sub> (μg/mL)					
	DNA gyrase (GyrA)			Topoisomerase IV (ParC)		
	Wild type	S83L	S83L & D87N	Wild type	S80I	S80I & D84V
STFX	0.0431	0.299	28.5	0.742	4.42	9.88
LVFX	0.202	5.53	> 512	2.67	39.2	174
CPFV	0.163	5.15	> 512	2.03	10.1	39.0
TFLX	0.199	6.01	> 256	2.26	42.3	> 256

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 4. Frequency of selection of resistant mutants in *E. coli*

Strain	Antibacterial agent	MIC (μg/mL)	Frequency of selection of resistant mutants		
			2×MIC	4×MIC	8×MIC
<i>E. coli</i> JCM 1649	STFX	0.008	1.3 × 10 <sup>-8</sup>	4.7 × 10 <sup>-11</sup>	< 2.4 × 10 <sup>-11</sup>
	LVFX	0.03	6.4 × 10 <sup>-9</sup>	5.0 × 10 <sup>-10</sup>	< 2.4 × 10 <sup>-11</sup>
	CPFV	0.008	2.4 × 10 <sup>-8</sup>	2.0 × 10 <sup>-9</sup>	1.3 × 10 <sup>-9</sup>
	MFLX	0.03	2.2 × 10 <sup>-8</sup>	1.7 × 10 <sup>-9</sup>	< 2.4 × 10 <sup>-11</sup>

Abbreviations: see footnote of Table 1.

## 2. 作用機序

### 1) *S. pneumoniae* 由来の標的酵素に対する阻害活性

STFX および対照キノロン系抗菌薬 (LVFX, MFLX および CPFV) の *S. pneumoniae* 由来野生型および変異型の DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV に対する IC<sub>50</sub> を Table 2 に示す。STFX はいずれの標的酵素に対しても、供試キノロン系抗菌薬中最も低い IC<sub>50</sub> 値を示した。すなわち、DNA ジャイレースでは、野生型酵素に対する阻害活性は対照キノロン系抗菌薬より約 4~13 倍高活性であり、一変異型酵素 (GyrA S81F) に対する阻害活性は約 5~9 倍高活性であった。また、トポイソメラーゼ IV では、野生型酵素に対する阻害活性は対照キノロン系抗菌薬より約 4~7 倍高活性であり、一変異型酵素 (ParC S79F) に対する阻害活性は約 6~29 倍高かった。LVFX および CPFV では、野生型トポイソメラーゼ IV に対する IC<sub>50</sub> 値は、野生型 DNA ジャイレースに対するそれらと比較して低値であったが、STFX の両野生型標的酵素に対する IC<sub>50</sub> 値はほぼ同等であった。

### 2) *E. coli* 由来の標的酵素に対する阻害活性

STFX および対照キノロン系抗菌薬 (LVFX, CPFV および TFLX) の *E. coli* 由来野生型および変異型の DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV に対する IC<sub>50</sub> を Table 3 に示す。STFX はいずれの標的酵素に対しても、供試キノロン系抗菌薬中最も低い IC<sub>50</sub> 値を示した。すなわち、DNA ジャイレースでは、野生型酵素に対する阻害活性は対照キノロン系抗菌薬より約 4~5 倍高く、一変異型酵素 (GyrA S83L) および二重変異型酵素 (GyrA S83L&D87N) に対する阻害活性はそれぞれ 17 倍以上高かった。また、トポイソメラーゼ IV では、野生型酵素に対する阻害活性は対照キノロン系抗菌薬より約

3~4 倍高く、一変異型酵素 (ParC S80I) および二重変異型酵素 (ParC S80I & D84V) に対する阻害活性は、それぞれ 2~10 倍および 4~26 倍以上高かった。また、STFX では、野生型と変異型酵素の IC<sub>50</sub> 値の比が小さく、一変異型酵素に対する IC<sub>50</sub> 値が対照キノロン系抗菌薬の野生型酵素に対する IC<sub>50</sub> 値に近似していた。

### 3. 自然耐性菌出現頻度

*E. coli* JCM 1649 株に対する STFX および対照キノロン系抗菌薬の自然耐性菌出現頻度を Table 4 に示す。STFX に対する自然耐性菌出現頻度は、対照キノロン系抗菌薬に対するそれらと同等かそれ以下であった。

### 4. ヒト血清中濃度シミュレーションモデルにおける殺菌力の検討

STFX 50 mg × 2 回/日 (b.i.d.) 投与および 100 mg b.i.d. 投与時のヒト血清中濃度推移をシミュレートしたモデルにおける供試菌株の生菌数変化を Fig. 1B~G に示す。薬剤非添加培地 (コントロール) では、いずれの菌種も培養開始後 8~15 時間までは菌数が徐々に増加し、10<sup>7</sup>~10<sup>9</sup> CFU/mL ではほぼ定常状態に達した。ただし、*S. pneumoniae* では、培養開始から 5 時間後までは菌数が増加し 10<sup>8</sup> CFU/mL でピークに達したものの、その後、自己融解と考えられる一時的な減少後、16 時間後以降に再度増加し、24 時間後には 10<sup>8</sup> CFU/mL となった。STFX はいずれの菌種に対しても、殺菌的に作用した。すなわち、*S. aureus* 037114 株 (MIC : 0.03 μg/mL) に対し、50 mg b.i.d. および 100 mg b.i.d. モデルでは、いずれも薬剤作用 3 時間後に生菌数はほぼ検出限界まで減少し、その後検出限界と 10<sup>4</sup> CFU/mL 程度の間で増減を繰り返した。*S. pneumoniae* 1533254 株 (MIC : 0.12 μg/mL) においては、50 mg b.i.d. モデルでは、薬剤作用 2 時間後に、100 mg

Table 5. Therapeutic efficacy of quinolones against systemic infection in mice

Strain	Challenge dose (CFU/mouse)	Antibacterial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	ED <sub>50</sub> (mg/kg)	95% confidence Interval (mg/kg)
<i>S. aureus</i> (MSSA) 3-037114	5.9 × 10 <sup>8</sup> (2.7 MLD <sup>a</sup> )	STFX	0.031	10.49	8.72 – 12.52
		LVFX	0.25	18.67	15.32 – 22.33
		CPFX	1	49.36	40.08 – 61.41
		TFLX	0.063	11.77	6.59 – 16.11
<i>S. aureus</i> (MRSA) 2-037004	1.2 × 10 <sup>8</sup> (4.3 MLD)	STFX	1	77.62	54.00 – 99.28
		LVFX	16	> 200.00	– <sup>b</sup>
		CPFX	64	> 200.00	–
		TFLX	8	> 200.00	–
<i>S. pneumoniae</i> (PSSP) 29-037288	2.8 × 10 <sup>8</sup> (4.4 MLD)	STFX	0.063	10.79	6.53 – 20.07
		LVFX	1	38.95	30.74 – 47.10
		CPFX	0.5	> 100.00	–
		TFLX	0.25	15.15	9.92 – 21.81
<i>S. pneumoniae</i> (PRSP) 29-033890	6.0 × 10 <sup>6</sup> (3.0 MLD)	STFX	0.063	6.32	3.79 – 9.09
		LVFX	2	54.98	38.20 – 89.91
		CPFX	2	> 100.00	–
		TFLX	0.25	13.42	10.28 – 17.50
<i>E. coli</i> 5-037042	3.2 × 10 <sup>8</sup> (4.8 MLD)	STFX	0.031	10.84	8.73 – 13.97
		LVFX	0.25	10.50	8.21 – 13.52
		CPFX	0.125	17.62	9.85 – 89.63
		TFLX	0.063	7.85	5.98 – 10.38
<i>P. aeruginosa</i> 5-037096	6.7 × 10 <sup>6</sup> (6.7 MLD)	STFX	0.125	10.70	8.41 – 13.36
		LVFX	0.5	19.46	15.36 – 24.55
		CPFX	0.125	13.86	10.98 – 17.60
		TFLX	0.125	12.95	10.03 – 17.15
<i>S. marcescens</i> 23-037520	8.9 × 10 <sup>6</sup> (10.3 MLD)	STFX	0.25	14.26	11.25 – 17.25
		LVFX	2	23.91	19.32 – 29.65
		CPFX	2	39.65	30.54 – 51.06
		TFLX	2	46.52	35.00 – 63.97

<sup>a</sup>: MLD; minimal lethal dose<sup>b</sup>: not calculated

Abbreviations: see footnote of Table 1.

b.i.d. モデルでは、薬剤作用直後から 24 時間後まで生菌数はほぼ検出限界以下だった。また、*E. coli* 033451 株 (MIC : 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ) では、50 mg b.i.d. モデルでは、薬剤作用 2 時間後に生菌数は急激に減少し、その後は若干の増減を繰り返したが、100 mg b.i.d. モデルでは、検出限界まで菌数を減少させた。*P. aeruginosa* 033306 株 (MIC : 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ) に対しては、50 mg b.i.d. モデルでは薬剤作用開始直後から急激に菌数が減少したが、その後、菌の再増殖が認められた。一方、100 mg b.i.d. モデルにおいては、薬剤作用 20 時間まで再増殖を認めなかった。*H. influenzae* 037735 株 (MIC :  $\leq 0.004 \mu\text{g/mL}$ ) および *M. catarrhalis* 037082 株 (MIC : 0.015  $\mu\text{g/mL}$ ) では、50 mg b.i.d. モデルにおいて、薬剤作用 1 時間後に菌数は急激に減少し、その後検出限界以下となり、再増殖は認められなかった。供試した 6 菌種すべてにおいて、24 時間後に再増殖した菌に対する感受性を測定した結果、*P. aeruginosa* では、50 mg b.i.d. モデルで STFX 1.0  $\mu\text{g/ml}$  含有培地上でも増殖がみられたため、耐性化が示唆されたが、それ以外の菌種では、STFX に耐性化したコロニーの出現は認められなかった。

## 5. 実験的感染モデルにおける治療効果

### 1) マウス全身感染モデル

Table 5 にグラム陽性菌 2 菌種 4 株およびグラム陰性菌 3 菌種 3 株による全身感染モデルにおける STFX および対照キノロン系抗菌薬の ED<sub>50</sub> および 95% confidence interval (CI<sub>95</sub>) を示した。STFX はグラム陽性菌感染モデルにおいて高い感染防御効果を示し、供試キノロン系抗菌薬中最も低い ED<sub>50</sub> を示し (MSSA : 10.49 mg/kg, MRSA : 77.62 mg/kg, PSSP : 10.79 mg/kg, PRSP : 6.32 mg/kg), MRSA 感染モデルにおいて明確な防御効果を示した唯一の薬剤であった。STFX はグラム陰性菌感染モデルにおいても強い防御効果を示し、*P. aeruginosa* および *S. marcescens* 感染モデルにおいて最も低い ED<sub>50</sub> (10.70 mg/kg および 14.26 mg/kg) を示した。また、*E. coli* 感染モデルにおける本薬の ED<sub>50</sub> (10.84 mg/kg) は TFLX よりも若干高く、LVFX と同等であり、CPFX よりも低値であった。

### 2) 緑膿菌性ラット複雑性尿路感染モデル

*P. aeruginosa* によるラット複雑性尿路感染モデルにおける、STFX および対照キノロン系抗菌薬の治療効果を

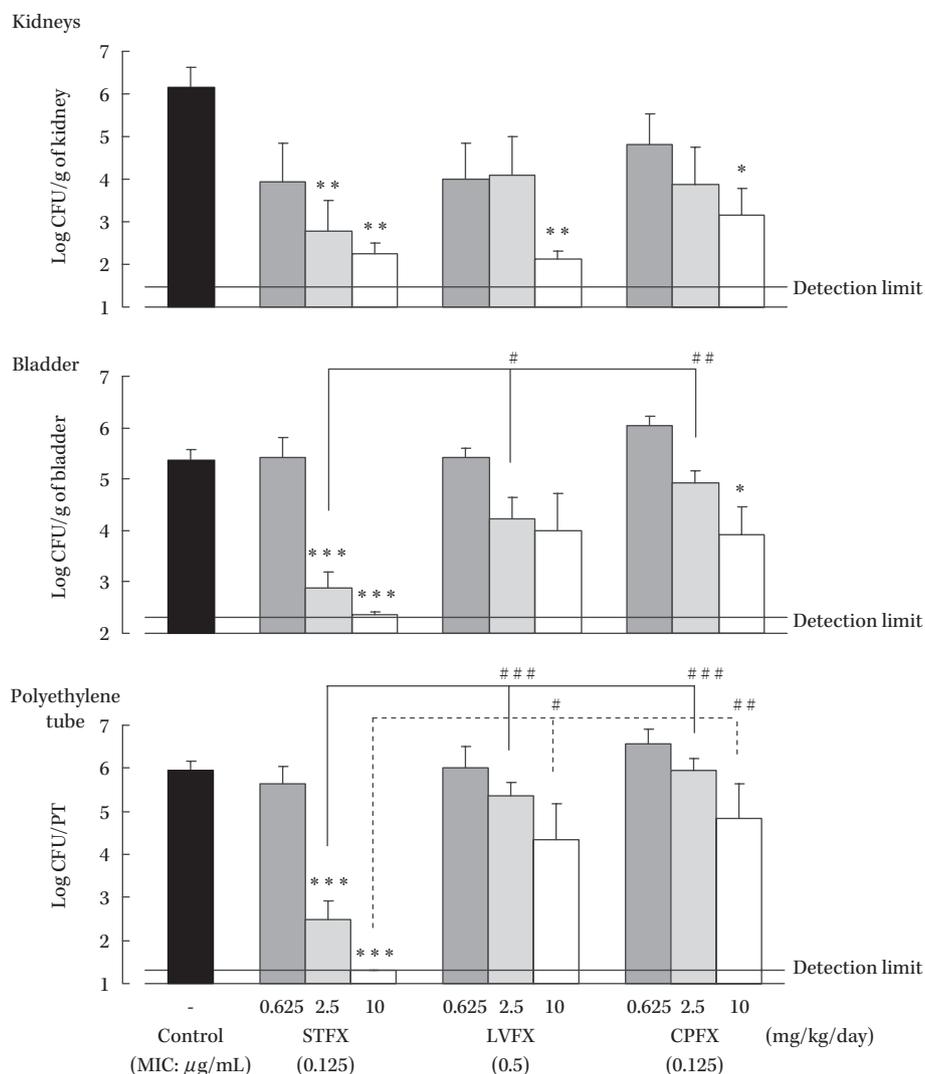


Fig. 2. Therapeutic efficacy of sitafloxacin and other quinolones against experimental complicated urinary tract infection due to biofilm-forming *Pseudomonas aeruginosa* in rats.

The bacterial number was analyzed after common logarithmic conversion. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E.M. of the number of bacteria recovered from 5 rats. Culture-negative samples were considered to contain the detection limit of viable bacterial counts, which were 1.48 log<sub>10</sub> CFU/g of the kidneys, 2.30 log<sub>10</sub> CFU/g of the bladder, and 1.30 log<sub>10</sub> CFU/polyethylene tube (PT). Differences in the number of bacteria between non treated controls and quinolone-treated groups were analyzed with Dunnett's comparison test (\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , and \*\*\*:  $P < 0.001$  vs control). Statistical significance between STFX-treated group and other quinolone-treated groups was evaluated using Tukey's comparison test (#:  $P < 0.05$ , ##:  $P < 0.01$ , and ###:  $P < 0.001$  vs STFX-treated group).

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Fig. 2に示した。供試菌株に対するSTFX, LVFXおよびCPFVのMICは、それぞれ0.125, 0.5および0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。STFXは、0.625から10 mg/kg/日の範囲で、腎、膀胱および膀胱内PTすべてで用量依存的な菌数減少効果を示し、無処置対照群に比較し腎、膀胱およびPTすべてで有意に菌数を減少させた唯一の薬剤であった。また、膀胱においては2.5 mg/kg/日、PTにおいては2.5および10 mg/kg/日の割合でSTFXを投与することで、LVFXならびにCPFVに比較し有意な菌数の

減少が確認された。特に、STFXはPT表面の*P. aeruginosa*に対しても強い殺菌効果を示し、10 mg/kg/日の用量で全個体のPT付着菌を検出限界以下に減少させた。

### 3) PRSP性マウス肺炎モデル

PRSPによるマウス肺炎モデルにおけるSTFXおよび対照キノロン系抗菌薬の治療効果を、ヒト血中AUCを再現した系で検討した(Fig. 3)。供試菌株に対するSTFX, LVFXおよびTFLXのMICは、それぞれ0.125, 2および0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。STFXは、臨床での常用量

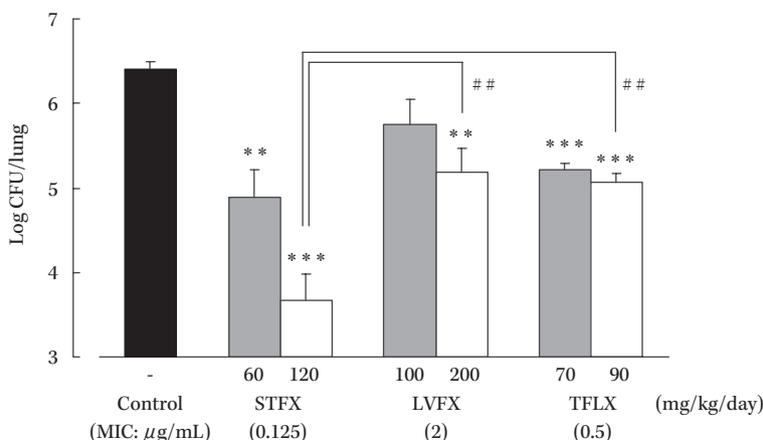


Fig. 3. Therapeutic efficacy of sitafloxacin and other quinolones against experimental pneumonia due to penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in mice.

The pulmonary bacterial number was analyzed after common logarithmic conversion. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E.M. of the number of bacteria recovered from the lungs of 7 or 8 mice. Differences in the number of bacteria between non treated controls and quinolone-treated groups were analyzed with Dunnett's multiple comparison test (\*\*:  $P < 0.01$  and \*\*\*:  $P < 0.001$  vs control). Statistical significance between the STFX-treated group and other quinolone-treated groups was evaluated using Tukey's comparison test (##:  $P < 0.01$  vs STFX).

Abbreviations: see footnote of Table 1.

(50 mg $\times$ 2/日) および最高用量 (100 mg $\times$ 2/日) 経口投与時のヒト血中 AUC をマウス血中で再現することで、常用量 (用量: 60 mg/kg/日, マウス血中 AUC: 5.87  $\mu$ g $\cdot$ h/mL) および最高用量 (120 mg/kg/日, 8.00  $\mu$ g $\cdot$ h/mL) 相当量ともに無処置対照群の肺内菌数 (6.40  $\pm$  0.09 Log CFU/Lung) をそれぞれ 1/33 および 1/537 に減少させ、その効果は両用量ともに有意であった。特に、最高用量相当量の比較では、STFX を投与することで、対照キノロン系抗菌薬である LVFX (200 mg/kg/日, 39.50  $\mu$ g $\cdot$ h/mL) および TFLX (90 mg/kg/日, 25.28  $\mu$ g $\cdot$ h/mL) に比較し、肺内菌数をそれぞれ 1/33 および 1/25 に有意に減少させた。

### III. 考 察

STFX は臨床分離菌株を用いた感受性試験において、LVFX や CPFX 耐性菌を含むグラム陽性菌ならびに陰性菌、さらには *M. pneumoniae* および *Chlamydiaceae* などに対して、対照キノロン系抗菌薬である LVFX, CPFX, MFLX および TFLX と比較して、最も高い抗菌活性を示した。特に、本薬は、呼吸器感染症の主要原因菌である *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* および *K. pneumoniae* に対して、レスピラトリーキノロンと位置付けられる MFLX および TFLX より、MIC<sub>90</sub> レベルでそれぞれ 4~16 倍および 2~8 倍高い抗菌活性を示した。また、呼吸器感染症においては、キノロン系抗菌薬以外の薬剤に耐性を示す PRSP, BLNAR あるいは

BLPAR の増加が臨床問題となっているが<sup>3)</sup>、これらの菌株に対しても、STFX は高活性を示した。一方、尿路感染症の主要原因菌である *E. coli* においては、キノロン系抗菌薬に対する耐性化が問題となっている<sup>2,3)</sup>。しかし、STFX は既存キノロン系抗菌薬耐性菌を含む *E. coli* に対して、CPFX と比較して 16 倍高い抗菌活性を示した。また、近年、 $\beta$ -ラクタム系薬に耐性を示す ESBL 産生 *E. coli* が増加しており、これらの一部ではキノロン系抗菌薬に対する耐性化も報告されている<sup>5,6)</sup>。STFX はキノロン耐性 ESBL 産生 *E. coli* に対しても、CPFX と比較して高い抗菌活性を示した。さらに、複雑性尿路感染症の原因菌であり、既存キノロン系抗菌薬の抗菌活性が比較的低い *P. mirabilis* や *P. aeruginosa* (UTI 由来) に対しても、STFX は CPFX と比較して 8 倍優れた抗菌活性を示した。また、これらの感染症主要原因菌によるマウス敗血症モデルにおいて、STFX は *in vitro* 抗菌活性を反映した高い感染防御効果を示した。さらに、ラットを用いた *P. aeruginosa* による複雑性尿路感染症モデルにおいて、STFX は *in vitro* 抗菌活性が同等である CPFX よりも有意に高い治療効果を示した。本モデルは、膀胱内に留置した PT に付着した菌がバイオフィルムを形成し、バイオフィルム層から遊離した *P. aeruginosa* の持続的な上行移行が腎での感染の遷延化に寄与するバイオフィルム感染症モデルである<sup>22)</sup>。バイオフィルム形成菌は感染の難治化の要因の一つとされており<sup>23)</sup>、今回の結果は、STFX

がバイオフィーム形成菌による複雑性尿路感染症に対しても有用であることを示唆するものであった。

キノロン系抗菌薬に関しては、標的酵素である DNA ジャイレースもしくはトポイソメラーゼ IV の各サブユニットをコードする遺伝子 *gyrA*, *gyrB*, *parC* および *parE* の QRDR の変異が耐性化にかかわることが知られている<sup>24, 25)</sup>。また、キノロン系抗菌薬に対する耐性度は、本領域に遺伝子変異が蓄積されることにより、段階的に上昇する<sup>26, 27)</sup>。STFX は *S. pneumoniae* および *E. coli* 由来の野生型のみならず、変異型の標的酵素に対しても、対照キノロン系抗菌薬と比較して最も高い阻害活性を示した。本薬の野生型および変異型標的酵素に対する強い阻害活性は、*S. aureus* および *P. aeruginosa* 由来酵素においても報告されている<sup>28, 29)</sup>。また、STFX では、野生型と変異型酵素の IC<sub>50</sub> 値の比が小さく、一変異型酵素に対する IC<sub>50</sub> 値が対照キノロン系抗菌薬の野生型酵素に対する IC<sub>50</sub> 値に近似しているのが特長であり、本薬の既存キノロン系抗菌薬耐性菌に対する抗菌力の強さは、変異型酵素を含めた標的酵素に対する強い阻害作用を反映するものであると考えられた。また、*S. pneumoniae* および *S. aureus* では、2つの標的酵素に対する IC<sub>50</sub> 値はほぼ同程度の値であり、本薬は dual inhibitory activity を示すと考えられた。両標的酵素に同時に耐性変異が起きる確率は低く、そのため、dual inhibitory activity を示すキノロン系抗菌薬では、耐性菌を選択する可能性が低いとされている<sup>30)</sup>。STFX に対する自然耐性菌出現頻度に関しては、*S. pneumoniae* において LVFX, CPFX および MFLX と比較して低いことが報告されている<sup>31)</sup>。また、*E. coli* における STFX に対する自然耐性菌出現頻度も LVFX, CPFX および MFLX と同等、もしくはそれ以下であり、本薬は耐性菌を選択しにくい薬剤であることが示唆された。

*in vitro* シミュレーションシステムを用いて、常用量 (50 mg 1 日 2 回) および最高用量 (100 mg 1 日 2 回) 経口投与時の血清中濃度推移を再現した結果から、STFX は主要原因菌である *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対して殺菌的な治療効果を示すことが予測された。特に、呼吸器感染症の主要原因菌である *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* では、常用量投与モデルで、STFX の MIC<sub>90</sub> 値に相当する MIC を示し、既存キノロン系抗菌薬に耐性を示す菌株に対しても強い殺菌効果を示した。キノロン系抗菌薬治療効果に相関する主要な PK/PD パラメータは、血中 AUC と MIC の比 (AUC/MIC) であることが報告されている<sup>32-35)</sup>。臨床で達成されるヒトの血中 AUC をマウスにて再現した結果、STFX は、常用量、最高用量相当の投与時に、PRSP によるマウス肺炎モデルにおいて、対照キノロン系抗菌薬と比較して高い治療効果を示した。特に、最高用量相当投与時での比較で

は、STFX の AUC/MIC (=64) は、レスピラトリーキノロンである TFLX の AUC/MIC (=51) を上回り、有意に高い治療効果が認められた。臨床より分離された PRSP に対する STFX の MIC<sub>90</sub> は 0.06 μg/mL であることから推測すると、AUC/MIC<sub>90</sub> は STFX の常用量では 98、最高用量では 130 以上が確保できることになり、臨床での呼吸器感染症における本薬の有用性を期待させるものであった。

以上より、STFX はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して、既存キノロン系抗菌薬を上回る抗菌力と感染モデルでの治療効果を示した。近年、呼吸器感染症を中心に適応を絞り込んだ開発が主流となっているなか、STFX は呼吸器感染症のみならず、尿路感染症においても高い有効性が期待される薬剤であると考えた。

#### 謝 辞

本稿を終えるにあたり、本試験の実施にあたりご協力いただきました第一三共株式会社・生物医学第四研究所・小野寺宜郷博士に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) Yamaguchi K, Ohno A, the Levofloxacin Surveillance Group: Investigation of the susceptibility trends in Japan to fluoroquinolones and other antimicrobial agents in a nationwide collection of clinical isolates: a longitudinal analysis from 1994 to 2002. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 135-43
- 2) 熊本悦明, 塚本泰司, 松川雅則, 国島康晴, 広瀬崇興, 茂田士郎, 他: 尿路感染症分離菌に対する経口ならびに注射用抗菌薬の抗菌力比較 (第 26 報 2004 年) その 1. 感受性について. *Jpn J Antibiotics* 2006; 59: 177-200
- 3) 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). *日本化学療法学会雑誌* 2005; 53: 627-40
- 4) 山口恵三, 大野 章, 石井良和, 館田一博, レボフロキサシンサーベイランスグループ: 2004 年に全国 77 施設から分離された臨床分離株 18,639 株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *Jpn J Antibiotic* 2006; 59: 428-51
- 5) Arslan H, Azap O K, Ergönül O, Timurkaynak F; Urinary Tract Infection Study Group: Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 914-8
- 6) Muratani T, Matsumoto T: Urinary tract infection caused by fluoroquinolone- and cephem-resistant *enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28 (Suppl 1): S10-3
- 7) 横田伸一, 佐藤 清, 吉田 繁, 藤井暢弘: フルオロキノロン耐性 *Streptococcus pneumoniae* の検出状況と分子疫学的検討. *感染症学雑誌* 2004; 78: 428-34
- 8) Jones M E, Sahm D F, Martin N, Scheuring S, Heisig P, Thornsberry C, et al: Prevalence of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* mutations in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibilities

- to different fluoroquinolones and originating from Worldwide Surveillance Studies during the 1997-1998 respiratory season. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 462-6
- 9) Weigel L M, Anderson G J, Facklam R R, Tenover F C: Genetic analyses of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3517-23
  - 10) 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
  - 11) Lim S, Bast D, McGeer A, de Azavedo J, Low D E: Antimicrobial susceptibility breakpoints and first-step *parC* mutations in *Streptococcus pneumoniae*: redefining fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 833-7
  - 12) Davies T A, Evangelista A, Pflieger S, Bush K, Sahm D F, Goldschmidt R: Prevalence of single mutations in topoisomerase type II genes among levofloxacin-susceptible clinical strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated in the United States in 1992 to 1996 and 1999 to 2000. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 119-24
  - 13) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, 2007
  - 14) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Sixth Edition, M7-A 6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2003
  - 15) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement M100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, 2005
  - 16) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard-Sixth Edition, M11-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, Pa, 2004
  - 17) 猿渡克比孔, 伊藤直美, 長沢正夫, 中里博子, 古賀宏延, 渡辺講一, 他: *Legionella* に対する新しい薬剤感受性用培地 (B-SYE 寒天培地) について. *Chemotherapy* 1984; 32: 718-23
  - 18) Yamaguchi T, Hirakata Y, Izumikawa K, Miyazaki Y, Maesaki S, Tomono K, et al: In vitro activities of telithromycin (HMR3647), a new ketolide, against clinical isolates of *Mycoplasma pneumoniae* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1381-2
  - 19) 日本化学療法学会: クラミジア MIC 測定法—日本化学療法学会標準法—(1991年改訂版). *Chemotherapy* 1992; 40: 303-7
  - 20) Nakashima M, Uematsu T, Kosuge K, Umemura K, Hakusui H, Tanaka M: Pharmacokinetics and tolerance of DU-6859a, a new fluoroquinolone, after single and multiple oral doses in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 170-4
  - 21) 山口恵三, 宮崎修一, 榎谷総子, 岩田守弘: 1998年度に全国26施設から分離された臨床分離株5180株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *Jpn J Antibiotics* 2000; 53: 387-408
  - 22) Kurosaka Y, Ishida Y, Yamamura E, Takase H, Otani T, Kumon H: A non-surgical rat model of foreign body-associated urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbol Immunol* 2001; 45: 9-15
  - 23) Kumon H: Pathogenesis and management of bacterial biofilms in the urinary tract. *J Infect Chemother* 1996; 2: 18-28
  - 24) Hooper D C: Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug Resist Updat* 1999; 2: 38-55
  - 25) Piddock L J: Mechanisms of fluoroquinolone resistance: an update 1994-1998. *Drugs* 1999; 58 (Suppl 2): S11-8
  - 26) Eliopoulos G M: Quinolone resistance mechanisms in pneumococci. *Clin Infect Dis* 2004; 38 (Suppl 4): S350-6
  - 27) Heisig P: Genetic evidence for a role of *parC* mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 879-85
  - 28) Tanaka M, Wang T, Onodera Y, Uchida Y, Sato K: Mechanism of quinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Infect Chemother* 2000; 6: 131-9
  - 29) Akasaka T, Onodera Y, Tanaka M, Sato K: Cloning, expression, and enzymatic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* topoisomerase IV. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 530-6
  - 30) Hooper D C: Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (Suppl 1): S9-15
  - 31) Okumura R, Hirata T, Onodera Y, Hoshino K, Otani T, Yamamoto T: Dual-targeting properties of 3-aminopyrrolidyl quinolones, DC-159a and sitafloxacin, against DNA gyrase and topoisomerase IV: Contribution in reducing *in vitro* emergence of quinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2008; in press
  - 32) Lacy M K, Lu W, Xu X, Tessier P R, Nicolau D P, Quintiliani R: Pharmacodynamic comparisons of levofloxacin, ciprofloxacin, and ampicillin against *Streptococcus pneumoniae* in an *in vitro* model of infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 672-7
  - 33) Andes D, Craig W A: Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 261-8
  - 34) Craig W A: Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1-12
  - 35) Craig W A: Does the dose matter? *Clin Infect Dis* 2001; 33 (Suppl 3): S233-7

*In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of sitafloxacin

Hiroko Kanda<sup>1)</sup>, Yuichi Kurosaka<sup>1)</sup>, Katsuko Fujikawa<sup>1)</sup>, Megumi Chiba<sup>1)</sup>,  
Shinichiro Yamachika<sup>1)</sup>, Ryo Okumura<sup>1)</sup>, Yoshinori Kashimoto<sup>1)</sup>, Saori Uoyama<sup>1)</sup>,  
Kazuki Hoshino<sup>1)</sup>, Mayumi Tanaka<sup>2)</sup> and Tsuyoshi Otani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Biological Research Laboratories IV, Daiichi Sankyo Co., Ltd.,  
1-16-13 Kitakasai, Edogawa-ku, Tokyo, Japan

<sup>2)</sup> Global Project Management Group, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of sitafloxacin (STFX), a quinolone, was compared to that of other quinolones: levofloxacin, ciprofloxacin (CPFX), moxifloxacin, and tosufloxacin. STFX showed the most potent antibacterial activity against clinical isolates of both Gram-positive and Gram-negative bacteria, including quinolone-resistant strains, *Mycoplasma pneumoniae*, and *Chlamydiaceae*. MIC<sub>90</sub> of STFX against *Streptococcus pneumoniae*, a major respiratory tract infection pathogen was 0.06 µg/mL, and was 4- to 64-fold more active than those of other quinolones tested. MIC<sub>90</sub> of STFX against *Escherichia coli*, major urinary tract infection pathogen, was 1 µg/mL, and was 16- to 32-fold more active than those of other quinolones tested. In systemic infection caused by major pathogens in mice, STFX showed a protective effect reflecting its potent *in vitro* antibacterial activity. STFX also showed higher *in vitro* activity against *Pseudomonas aeruginosa* than that of CPFX. In a model of complicated urinary tract infection caused by *P. aeruginosa* in the rat, the therapeutic efficacy of STFX was greater than that of CPFX. A study on the inhibitory effect against DNA gyrase and topoisomerase IV purified from *S. pneumoniae* and *E. coli* showed that STFX had higher inhibitory activity than other quinolones tested against both wild- and mutant enzymes, which has single or double amino-acid replacement(s) in the quinolone-resistance-determining region (QRDR). The inhibitory activity of STFX against mutant DNA gyrase and topoisomerase IV, which has single amino-acid replacement in QRDR, corresponded roughly to those of other comparable quinolones against wild-type enzymes.

In an *in vitro* pharmacokinetic model simulating serum concentrations of STFX following 50 mg twice-daily and 100 mg twice-daily oral administration, STFX was shown to be bactericidal against *Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*. Even at lower doses, STFX was bactericidal against *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, and *M. catarrhalis*, for which MIC of STFX corresponded to MIC<sub>90</sub> of clinical isolates. A study focusing on AUC, the major pharmacokinetic parameter correlated with pharmacodynamics of quinolones, showed that STFX, with simulated human serum AUC in the mouse, was shown to be highly effective in a model of pneumonia due to penicillin-resistant *S. pneumoniae*.