

【原著・基礎】

In vitro pharmacokinetic model における *Streptococcus pneumoniae* に対する pazufloxacin の殺菌効果および耐性化の検討

久田 晴美・福田 淑子・古家 由理・高畑 正裕・野村 伸彦・満山 順一

富山化学工業株式会社総合研究所*

(平成 22 年 8 月 6 日受付・平成 22 年 9 月 13 日受理)

Pazufloxacin (PZFX) 1,000 mg×2 回/日投与時の *Streptococcus pneumoniae* に対する有効性を評価するため、ヒト血清中蛋白非結合体濃度を再現した *in vitro* pharmacokinetic (PK) model を用い、殺菌効果ならびに耐性菌出現の有無について 500 mg×2 回/日投与時と比較検討し、以下の成績を得た。

1) *S. pneumoniae* D-979 に対し、1,000 mg×2 回/日投与時では 24 時間後に再増殖は認められず、強い殺菌効果を示した。500 mg および 1,000 mg×2 回/日投与時の殺菌曲線上面積 (area above the killing curve : AAKC) は 76.1 および >104 ΔLog CFU・h/mL であり、1,000 mg×2 回/日への増量により殺菌効果は増強した。本菌株に対する 1,000 mg×2 回/日投与時の free AUC (fAUC)/MIC は 35.3 で、500 mg×2 回/日投与時に比べ 2.4 倍大きかった。

2) PZFX 500 mg×2 回/日投与時の 24 時間後の菌液では、薬剤非添加時に比べ感受性が 1/2 に低下したポピュレーションが一部認められたが、GyrA, GyrB, ParC および ParE のキノロン耐性決定領域 (quinolone resistance-determining region : QRDR) にアミノ酸変異はなく、reserpine 添加により影響を受ける薬剤排出ポンプの発現亢進は認められなかった。一方、1,000 mg×2 回/日投与時では感受性の低下したポピュレーションは認められなかった。

以上、PZFX 1,000 mg×2 回/日の用量は、*S. pneumoniae* に対し、有効性の確保ならびに耐性菌出現抑制の観点から有用である可能性が示唆された。

Key words: pazufloxacin, *in vitro*, pharmacokinetic model, *Streptococcus pneumoniae*

Pazufloxacin (PZFX) は、嫌気性菌を含むグラム陽性ならびに陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌力を有し、各種臨床分離株に対して良好な抗菌力を示す^{1,2)}。本薬は、2002 年に慢性呼吸器病変の二次感染、肺炎、肺膿瘍等に対する治療薬として 500 mg×2 回/日点滴静注の注射薬として上市され、臨床の場で良好な治療成績を挙げてきた。

Streptococcus pneumoniae は市中肺炎、敗血症、髄膜炎などの重症感染症や中耳炎などの主要原因菌であり³⁾、近年、日本では、β-ラクタム系薬やマクロライド系薬耐性菌が臨床的に問題となっている^{4~7)}。

PZFX の従来の用法用量では初回申請時の臨床試験において *S. pneumoniae* の菌陰性化率が十分でなかった^{8,9)} ことから *S. pneumoniae* に対する適応を得られていなかったが、今回、1,000 mg×2 回/日への増量により、*S. pneumoniae* の適応菌種の取得にいたった。

今回、PZFX 1,000 mg×2 回/日投与時のヒト血清中蛋白非結合体濃度を再現した *in vitro* pharmacokinetic (PK) model^{10,11)} を用い、*S. pneumoniae* に対する殺菌効果ならびに耐性菌出現の有無について、500 mg×2 回/日投与時と比較検討

した。また、*S. pneumoniae* に対する PZFX の mutant prevention concentration (MPC) を測定したので、それらの成績を報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

MIC および MPC の測定には、*S. pneumoniae* ATCC 49619 (American Type Culture Collection) および 1992 年に本邦にて臨床より分離され、標的酵素のキノロン耐性決定領域 (quinolone resistance-determining region : QRDR) にアミノ酸変異を有さない *S. pneumoniae* D-979^{12~14)} (penicillin G の MIC : 2 μg/mL) を使用した。*In vitro* PK model における殺菌効果および耐性化に関する検討には、D-979 を使用した。

2. 使用薬剤

PZFX (富山化学工業株式会社) および ciprofloxacin (CPFX, LKT Laboratories, Inc.) を使用した。いずれの薬剤も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。

*富山県富山市下奥井 2-4-1

Table 1. MICs and MPCs of pazufloxacin and ciprofloxacin against *S. pneumoniae*

Strain	Antibacterial agent	MIC ^{a)} ($\mu\text{g/mL}$)	MPC ^{b)} ($\mu\text{g/mL}$)	MPC/MIC
ATCC 49619	pazufloxacin	2	8	4
	ciprofloxacin	0.5	4	8
D-979	pazufloxacin	2	4	2
	ciprofloxacin	1	2	2

Inoculum size: ^{a)} 10^6 CFU/mL, ^{b)} 10^{10} CFU/plate

Abbreviation: MPC, mutant prevention concentration.

3. MIC の測定

MIC の測定は、日本化学療法学会標準法に準じ、綿羊脱繊維血液（日本バイオテスト研究所）（5% v/v）添加 Mueller Hinton agar（MHA; Becton, Dickinson and Company）を用いた寒天平板希釈法^{15,16)}にて行った。

4. MPC の測定

37°C で一夜培養した綿羊脱繊維血液（5% v/v）添加 MHA 平板上の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し、遠心（1,700~4,700×g, 4°C, 20 分間）後、上清を除去し、 5×10^{10} CFU/mL 相当の接種菌液を調製した。薬剤含有綿羊脱繊維血液（5% v/v）添加 MHA 平板に接種菌液 0.2 mL（最終接種菌量： 1×10^{10} CFU/plate 相当）を塗布し、37°C で 3 日間培養後、コロニーが出現しない最小濃度を MPC¹⁷⁾とした。

5. *In vitro* PK model における殺菌効果

PZFX 500 mg（30 分間）および 1,000 mg（60 分間）単回点滴静注時の薬動学的パラメータ¹⁸⁾を基に、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、各用量を 1 日 2 回 12 時間間隔で投与した時の蛋白非結合型の血清中濃度推移を再現した。PZFX（2 $\mu\text{g/mL}$ ）のヒト血清蛋白結合率は北山らの方法¹⁹⁾に従って遠心限外ろ過法にて測定した。

S. pneumoniae D-979 を馬溶血液（日本バイオテスト研究所）（5% v/v）添加 cation-adjusted Mueller Hinton broth（CAMHB; Becton, Dickinson and Company）にて、37°C で 2 時間前培養後、PZFX 血清中濃度再現下で 24 時間まで経時的に生菌数を測定した。生菌数の検出限界は 1.3 Log CFU/mL とした。殺菌効果の指標として、培養開始時の生菌数を基準としたベースラインと薬剤作用時の殺菌曲線で囲まれた面積である殺菌曲線上面積（area above the killing curve : AAKC）¹¹⁾をオートシミュレーション制御ソフト（PASS-402W, Ver. 1.16）にて算出した。また、培養開始時の生菌数から 99.9%（3 Log CFU/mL）減少に要する 99.9% 殺菌到達時間（time to achieve 99.9% killing : 99.9% KT）を線形回帰法（Microsoft office excel 2003）にて算出した。

6. 耐性化に関する検討

In vitro PK model により得られた 24 時間後の各菌液を綿羊脱繊維血液（5% v/v）添加 Mueller Hinton broth

（MHB; Becton, Dickinson and Company）で希釈後、37°C で生菌数が 10^8 CFU/mL 相当に達するまで振とう培養した。これを適宜希釈後、PZFX 含有綿羊脱繊維血液（5% v/v）添加 MHA 平板に塗布し、37°C、2 日間培養後のコロニー数より耐性ポピュレーションを調べた。同時に、24 時間後の各菌液 1 mL を薬剤非含有平板に塗布し、薬剤非添加および PZFX 500 mg×2 回/日投与時では無作為に選択した 96 コロニー、1,000 mg×2 回/日投与時では生育した全コロニーの MIC を測定した。PZFX 作用前に比べ MIC が上昇したコロニーについては、*gyrA*, *gyrB*, *parC* および *parE* 遺伝子の QRDR を PCR 法により増幅し²⁰⁾、タカラバイオ株式会社ドラゴンジェノミクスセンターにて塩基配列を解析後、GENETYX（株式会社ゼネティックス, ver. 9）にて、アミノ酸変異の有無を調べた。また、reserpine（Sigma-Aldrich）10 $\mu\text{g/mL}$ 添加および非添加時の CPFEX の MIC を寒天平板希釈法^{15,16)}にて測定し、reserpine 非添加時/添加時の MIC 比が 4 以上の場合、薬剤排出ポンプの発現亢進株とした^{21,22)}。

II. 結 果

1. MIC および MPC

S. pneumoniae ATCC 49619 および D-979 に対する PZFX の MIC は、ともに 2 $\mu\text{g/mL}$ であり、CPFEX のそれぞれ 4 および 2 倍であった。PZFX の MPC は、それぞれ 8 および 4 $\mu\text{g/mL}$ であり、CPFEX のそれぞれ 2 倍であった（Table 1）。

2. *In vitro* PK model における殺菌効果

PZFX 500 mg および 1,000 mg×2 回/日投与時のヒト血清中濃度推移を Fig. 1 に示す。PZFX のヒト血清蛋白結合率は、30.7% であった。ヒト血清中濃度再現下での *S. pneumoniae* D-979 に対する PZFX の殺菌効果を Fig. 2 に示す。薬剤非添加時では、生菌数は培養開始後増加し、4 時間で 8.6 Log CFU/mL に達した。500 mg×2 回/日投与時では、生菌数は、4 時間後に培養開始時から 4.1 Log CFU/mL 減少したが、その後増殖し、12 時間後には培養開始時と同程度まで増加した。2 回目の投与により、その 4 時間後には生菌数は検出限界値となり、その後再増殖したが、24 時間後の生菌数は培養開始時に比べ 2.0 Log CFU/mL 低かった。一方、1,000 mg×2 回/日投与時では、

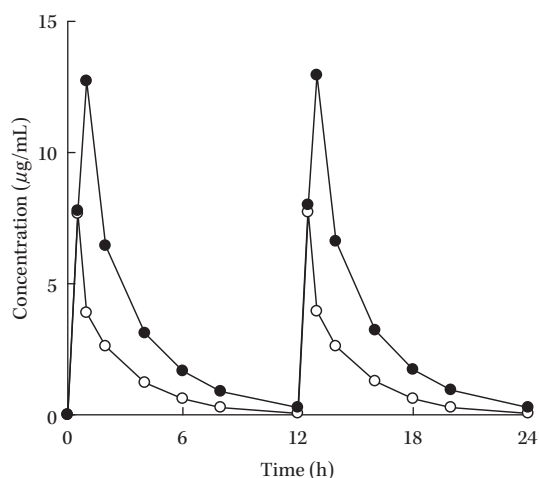


Fig. 1. Time-concentration curves simulating free serum concentration at pazufloxacin administration of 500 mg b.i.d. and 1,000 mg b.i.d. Open circles, 500 mg b.i.d.; closed circles, 1,000 mg b.i.d. Protein binding, 30.7%.

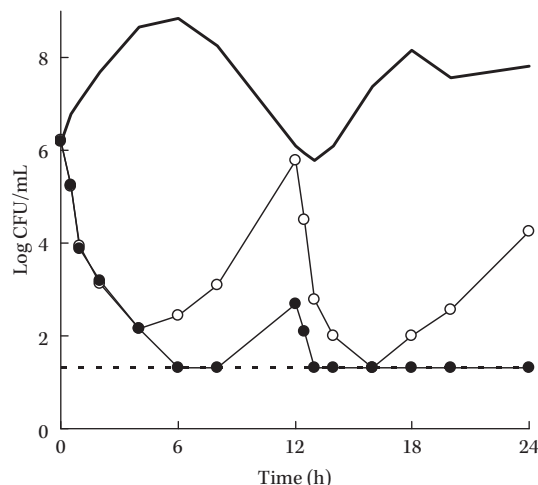


Fig. 2. Bactericidal activities of pazufloxacin against *S. pneumoniae* D-979 in an *in vitro* pharmacokinetic model. Open circles, 500 mg b.i.d.; closed circles, 1,000 mg b.i.d.; solid line, growth control; dotted line, detection limit.

Table 2. Pharmacokinetic-pharmacodynamic parameters of pazufloxacin against *S. pneumoniae* D-979

Model	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	$f\text{AUC}_{0-24 \text{ h}^{\text{a}}}/\text{MIC}$	$f\text{C}_{\text{max}}^{\text{a}}/\text{MIC}$	Change in bacterial count at 24 h ^b (Log CFU/mL)	AAKC _{0-24 h} ($\Delta\text{Log CFU}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	99.9% KT (h)
500 mg b.i.d.	2	15.0	3.82	- 2.0	76.1	1.9
1,000 mg b.i.d.	2	35.3	6.36	- 4.9 ^c	> 104	2.0

^aReference to pharmacokinetic parameters from pazufloxacin phase I study for the first approval application¹⁸⁾. Protein binding, 30.7%.

^bFrom initial bacterial count of each model.

^cBelow detection limit.

Abbreviations: AAKC, area above the killing curve; 99.9% KT, time to achieve 99.9% killing.

生菌数は培養開始6時間後には検出限界以下となった。その後再増殖が認められたものの、2回目の投与により、その1時間後に再び生菌数は検出限界以下となり、24時間後まで再増殖は認められなかった。500 mg および 1,000 mg \times 2回/日投与時の AAKC は 76.1 および >104 $\Delta\text{Log CFU}\cdot\text{h}/\text{mL}$ であり、1,000 mg \times 2回/日への増量により殺菌効果は増強した。また、500 mg および 1,000 mg \times 2回/日投与時の 99.9% KT は、それぞれ 1.9 および 2.0 h と同程度であった (Table 2)。

3. 24時間作用時の菌の耐性化

500 mg \times 2回/日投与時の24時間後の菌液では、薬剤非添加時と比べ PZFX 1~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でコロニーの分離頻度の増加が認められたが、コロニーが検出されない最小濃度は同値であった (Fig. 3)。24時間後の菌液から分離された96コロニー中17コロニーの MIC は 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、PZFX 作用前に比べ2倍に上昇していたが、GyrA, GyrB, ParC および ParE の QRDR にアミノ酸変異は認

められなかった。また、reserpine 非添加時/添加時の CPFIX の MIC 比は 1 または 2 であり、薬剤排出ポンプの発現亢進は認められなかった (Table 3)。一方、1,000 mg \times 2回/日投与時では、感受性の低下したポピュレーションならびに PZFX 作用前に比べ MIC が上昇したコロニーは認められなかった (Fig. 3, Table 3)。

III. 考 察

今回、われわれは、PZFX 1,000 mg \times 2回/日投与時の *S. pneumoniae* に対する有効性を評価するため、ヒト血清中濃度を再現した *in vitro* PK model における殺菌効果ならびに耐性菌出現の有無について検討し、500 mg \times 2回/日投与時と比較した。

S. pneumoniae D-979 に対し、PZFX 500 mg \times 2回/日投与時では、培養24時間後には再増殖が認められたものの、生菌数は培養開始時より低かった。1,000 mg \times 2回/日投与時では、24時間後においても再増殖は認められず、AAKC は 500 mg \times 2回/日投与に比べ大きく、殺菌

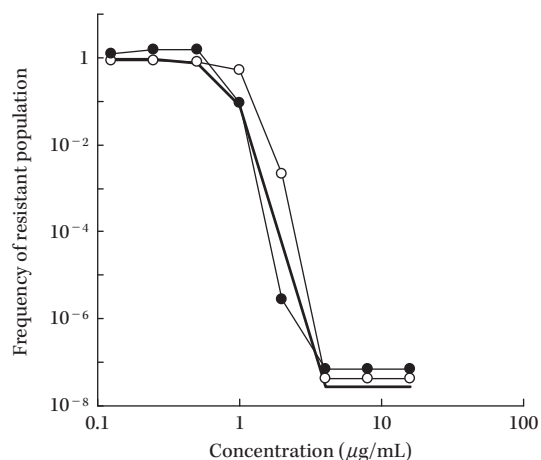


Fig. 3. Frequency of resistant population in *S. pneumoniae* D-979 after 24-h cultivation simulated free serum concentration at pazufloxacin administration of 500 mg b.i.d. and 1,000 mg b.i.d. Open circles, 500 mg b.i.d.; closed circles, 1,000 mg b.i.d.; solid line, growth control.

効果は増強した。一方、両投与時の 99.9% KT は 1.9 および 2.0 h と同程度であり、初期の殺菌効果において用量による差は小さかった。キノロン系薬の有効性の指標は主に free AUC ($fAUC$)/MIC であり、*S. pneumoniae* では、良好な臨床効果に必要とされるターゲット値は 25~35 以上であることが報告されている²³⁾。D-979 に対する 1,000 mg \times 2 回/日投与時の $fAUC$ /MIC は 35.3 で、ターゲット値²³⁾を満たしており、500 mg \times 2 回/日投与時と比べ殺菌効果が増強したと考えられた。なお、本検討では、PZFX 初回申請時に実施した臨床第 I 相試験における 1,000 mg (60 分間) 単回点滴静注時の薬動学的パラメータ¹⁸⁾を使用した。今回の適応拡大に伴い新たに実施した PZFX 1,000 mg 臨床第 I 相試験における 1,000 mg (60 分間) 単回点滴静注時の AUC, C_{max} および $T_{1/2}$ は 59.42 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$, 18.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 3.0 h²⁴⁾で、初回申請時のそれぞれ、1.2, 1.0 および 1.3 倍であり、概ね同程度であった。

また、2006 年に分離された *S. pneumoniae* に対する PZFX の MIC₉₀ は 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり²⁵⁾、初回申請時 (2001 年以前分離株)²⁾と同程度の抗菌活性を示していた。これらの臨床分離株²⁵⁾に対し、新たに実施した PZFX 1,000 mg 臨床第 I 相試験で得られた AUC²⁴⁾を基に算出した 1,000 mg \times 2 回/日投与時の $fAUC$ /MIC₉₀ は 41.2 でターゲット値²³⁾を満たしており、PZFX は *S. pneumoniae* を原因菌とする肺炎等において良好な臨床効果を示すことが期待された。

近年、キノロン系薬の標的酵素である DNA ジャイレースやトポイソメラーゼ IV に変異を有するキノロン低感受性 *S. pneumoniae* の増加が懸念されており^{26, 27)}、有効性ととも耐性菌抑制の観点から

Table 3. MICs of pazufloxacin and ciprofloxacin with or without reserpine against isolates obtained after 24-h cultivation simulated free serum concentration at pazufloxacin administration of 500 mg b.i.d. and 1,000 mg b.i.d.

Model	Number of isolate	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
		pazufloxacin	ciprofloxacin	
			alone	with reserpine ^{a)}
D-979 (parent strain)	—	2	1	0.5
Control	96 ^{b)}	2	N.T.	N.T.
500 mg b.i.d.	79 ^{b)}	2	N.T.	N.T.
	17 ^{b, c)}	4	1 (6) ^{d)} 2 (11) ^{d)}	1 (17) ^{d)}
1,000 mg b.i.d.	8 ^{e)}	2	N.T.	N.T.

^{a)}Ten $\mu\text{g}/\text{mL}$ of reserpine was added.

^{b)}We tested 96 isolates picked randomly from models.

^{c)}No amino acid substitutions in quinolone resistance-determining regions of DNA gyrase and topoisomerase IV.

^{d)}Number of isolate was in parentheses.

^{e)}All isolates detected were tested.

Abbreviations: N.T., not tested.

pharmacokinetics-pharmacodynamics (PK-PD) による概念ならびに新たな指標として MPC²⁸⁾が提唱されている。しかし、耐性菌抑制とそれらの関連について、その詳細は明らかにはなっていない。

Madaras-Kelly ら²⁹⁾は、*S. pneumoniae* において C_{max} /MIC が 5 以上では levofloxacin (LVFX) への耐性化が認められなかったことを、Homma ら³⁰⁾は、*S. pneumoniae* を用いた *in vitro* PK model の検討において、耐性菌出現にかかわるパラメータは $fAUC$ /MPC および fC_{max} /MPC であり、それぞれ 13.4 および 1.2 以上の場合耐性化は認められなかったことを報告している。今回のわれわれの検討において、PZFX 1,000 mg \times 2 回/日投与時の fC_{max} /MIC, $fAUC$ /MPC および fC_{max} /MPC はそれぞれ、6.36, 17.7 および 3.18 で、これらの値を上回っており、感受性が低下したポピュレーションは認められなかった。一方、500 mg \times 2 回/日投与時の fC_{max} /MIC, $fAUC$ /MPC および fC_{max} /MPC はそれぞれ、3.82, 7.50 および 1.91 で、標的酵素の QRDR のアミノ酸変異および薬剤排出ポンプの発現亢進は確認されなかったが、感受性が 1/2 に低下したポピュレーションが認められた。今回の結果は、Madaras-Kelly ら²⁹⁾や Homma ら³⁰⁾の報告と一致する結果であり、PZFX は、1,000 mg \times 2 回/日への増量による体内動態の向上により、*S. pneumoniae* に対し、有効性の確保ならびに耐性菌出現の抑制の可能性が示唆された。しかし、今回は 1 株のみの結果であることから、今後、感受性低下の要因や耐性菌選択性に関して、QRDR 変異株を含む複数株での検討が必要であると考えられた。

日本呼吸器学会の「成人市中肺炎診療ガイドライン」では、細菌性肺炎疑いの入院治療で慢性の呼吸器疾患を有する場合、非定型肺炎疑いの入院治療の場合、さらにICU治療肺炎の併用薬として、選択肢の一つにニューキノロン系注射薬が推奨されている³¹⁾。国内において使用されているニューキノロン系注射薬であるPZFX 500 mg×2回/日およびCPFXは*S. pneumoniae*に対する適応を有しておらず、原因菌特定前に治療に使用する際、*S. pneumoniae*が原因菌である場合に耐性菌を選択する可能性が危惧される。また、米国では、LVFXのMICが1および2 μg/mLの感受性株において、それぞれ6.1%および71%がすでにQRDRに一アミノ酸変異を有することが報告されており³²⁾、これらの株では、キノロン系薬の暴露によりさらなる耐性化の可能性が示唆されている³³⁾。PZFXは、1,000 mg×2回/日への増量により*S. pneumoniae*に対し有効性が確保でき、*S. pneumoniae*が疑われる症例に対しても原因菌特定前に使用することができることから、非適応菌種での不適切な薬剤暴露による耐性化の抑制に寄与できると考えられた。しかし、今後、PK-PDに基づいた抗菌薬の用法用量の至適化はますます重要であり、PZFX 1,000 mg×2回/日の用量導入後も継続的な感受性変化および臨床効果のサーベイランスを実施するとともに、PK-PDを考慮した適正使用が重要と考えられた。

以上、PZFX 1,000 mg×2回/日の用量は、*S. pneumoniae*に対し、有効性の確保ならびに耐性菌出現抑制の観点から有用である可能性が示唆された。

文 献

- 1) 満山順一, 高畑正裕, 山城芳子, 北山理恵子, 村谷哲郎, 松村尚樹, 他: Pazufloxacin 注射薬の細菌学的検討。日化療会誌 1999; 47(Suppl 1): 37-64
- 2) 野村伸彦, 満山順一, 古田要介, 山田 尚, 中田光人, 福田淑子, 他: 新規注射用ニューキノロン系抗菌薬 pazufloxacin mesilate の細菌学的検討。Jpn J Antibiot 2002; 55: 412-39
- 3) 大崎能伸: 起炎菌別に考えること, 肺炎球菌。化学療法領域 2008; 24(Suppl 1): 94-102
- 4) 宮本仁志, 村瀬光春: *Streptococcus pneumoniae* における耐性遺伝子の解析。感染症学雑誌 2004; 78: 508-13
- 5) 近畿耐性菌研究会肺炎球菌抗菌薬サーベイランスグループ: 近畿地区で分離された *Streptococcus pneumoniae* の抗菌薬耐性状況(2003年~2004年)。Jpn J Antibiot 2005; 58: 221-30
- 6) Suzuki K, Fujisawa T, Nakashima M, Hamasaki R: Antimicrobial activities of tosufloxacin against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella branhamella catarrhalis* isolated from otolaryngological infectious diseases. J Infect Chemother 2005; 11: 253-5
- 7) 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
- 8) 島田 馨, 阿部庄作, 藤嶋卓哉, 本間昭彦, 白土邦男, 大野 勲, 他: 細菌性肺炎に対する pazufloxacin 注射薬の臨床評価—Ceftazidime を対照薬とした臨床第 III 相比較試験一。日化療会誌 2000; 48: 433-63
- 9) 島田 馨, 阿部庄作, 藤嶋卓哉, 白土邦男, 大野 勲, 坂本正寛, 他: 慢性気道感染症に対する pazufloxacin 注射薬の臨床評価—Ceftazidime を対照薬とした臨床第 III 相比較試験一。日化療会誌 2000; 48: 464-94
- 10) 辻 明良, 金子康子, 山口恵三, 五島瑳智子: *In vitro* 濃度シミュレーションシステムによる緑膿菌に対する Isepamicin と Ofloxacin の殺菌効果の検討。Jpn J Antibiot 1994; 47: 1006-12
- 11) 田中真由美, 内田洋子, 吉原清美, 赤坂高明, 村上要一, 佐藤謙一, 他: ヒト血清中濃度シミュレーションモデルにおける levofloxacin の殺菌作用。日化療会誌 2000; 48: 325-32
- 12) Takahata M, Mitsuyama J, Yamashiro Y, Yonezawa M, Araki H, Todo Y, et al: *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of T-3811 ME, a novel des-F(6)-quinolone. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 1077-84
- 13) Takahata M, Yamada H, Morita T, Furubou S, Minami S, Todo Y, et al: Evaluation of T-3811 ME (BMS-284756), a new des-F(6)-quinolone, for treatment of meningitis caused by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in rabbits. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1760-5
- 14) 福田淑子, 高畑正裕, 杉浦陽子, 中谷雅年, 新村裕子, 久田晴美, 他: Garenoxacin の *in vivo* 抗菌活性。日化療会誌 2007; 55: 21-7
- 15) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 1981; 29: 76-9
- 16) 日本化学療法学会: 抗菌薬感受性測定法検討委員会最終報告 (2007年)。日化療会誌 2007; 55: 287-95
- 17) Blondeau J M, Zhao X, Hansen G, Drlica K: Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 433-8
- 18) 中島光好, 梅村和夫, 小菅和仁, 植松俊彦: Pazufloxacin 注射薬の臨床第 I 相試験。日化療会誌 1999; 47 (Suppl 1): 141-75
- 19) 北山理恵子, 林 敏雄, 南新三郎, 渡辺泰雄, 成田弘和: T-3761 の血清蛋白結合に関する検討。Jpn J Antibiot 1995; 48: 643-8
- 20) Pan X S, Ambler J, Mehtar S, Fisher L M: Involvement of topoisomerase IV and DNA gyrase as ciprofloxacin targets in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 2321-6
- 21) Brenwald N P, Gill M J, Wise R: Prevalence of a putative efflux mechanism among fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 2032-5
- 22) Bast D J, Low D E, Duncan C L, Kilburn L, Mandell L A, Davidson R J: Fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*: contributions of type II topoisomerase mutations and efflux to levels of resistance. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 3049-54
- 23) Craig W A: Does the dose matter? Clin Infect Dis 2001; 33(Suppl 3): S233-7
- 24) 戸塚恭一: Pazufloxacin 注射液の投与量増加のため

- の臨床第 I 相試験。日治療会誌 2010; 58: 560-77
- 25) Niki Y, Hanaki H, Yagisawa M, Kohno S, Aoki N, Watanabe A, et al: The first nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the Japanese Society of Chemotherapy. Part I: a general view of antibacterial susceptibility. *J Infect Chemother* 2008; 14: 279-90
- 26) 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
- 27) Adam H J, Schurek K N, Nichol K A, Hoban C J, Baudry T J, Laing N M, et al: Molecular characterization of increasing fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Canada, 1997 to 2005. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 198-207
- 28) Zhao X, Drlica K: Restricting the selection of antibiotic-resistant mutants; a general strategy derived from fluoroquinolone studies. *Clin Infect Dis* 2001; 33(Suppl 3): S147-56
- 29) Madaras-Kelly K J, Demasters T A: *In vitro* characterization of fluoroquinolone concentration/MIC antimicrobial activity and resistance while simulating clinical pharmacokinetics of levofloxacin, ofloxacin, or ciprofloxacin against *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 37: 253-60
- 30) 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
- 31) 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: 「成人市中肺炎診療ガイドライン」, 日本呼吸器学会, 東京, 2007
- 32) 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
- 33) Allen G P, Kaatz G W, Rybak M J: Activities of mutant prevention concentration-targeted moxifloxacin and levofloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in an *in vitro* pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2606-14

Bactericidal activity and resistant selectivity evaluation of pazufloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in an *in vitro* pharmacokinetic model

Harumi Hisada, Yoshiko Fukuda, Yuri Furuya, Masahiro Takahata,
Nobuhiko Nomura and Junichi Mitsuyama

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

We evaluated the bactericidal activity and resistant selectivity of pazufloxacin (PZFX) 1,000 mg bis in die (b.i.d.), against *Streptococcus pneumoniae* by simulating the free serum concentration after PZFX drip infusion in an *in vitro* pharmacokinetic model compared to 500 mg b.i.d. Results are as follows:

1) In the *in vitro* pharmacokinetic model of PZFX 1,000 mg b.i.d., PZFX showed bactericidal activity against *S. pneumoniae* D-979, without regrowth occurring over 24 h. The area above the killing curves (AAKC) of PZFX 500 mg and 1,000 mg b.i.d. were 76.1 and >104 $\Delta\text{Log CFU} \cdot \text{h/mL}$, respectively. Bactericidal activity of PZFX 1,000 mg b.i.d. exceeded that of 500 mg b.i.d. The free AUC (fAUC)/MIC of 1,000 mg b.i.d. was 35.3, which was 2.4-fold as high as that of 500 mg b.i.d.

2) Exposure of only PZFX 500 mg b.i.d. led to outgrowth of populations which were 2-fold less susceptible to PZFX but had no amino acid substitution in quinolone resistance-determining regions of GyrA, GyrB, ParC, and ParE, and no increased expression of reserpine-inhibited efflux pump. No PZFX-resistant population was detected in the 1,000 mg b.i.d. model.

Our results suggest that PZFX 1,000 mg b.i.d. is useful against *S. pneumoniae* infection in ensuring efficacy and resistant prevention.