

[原 著]

フルオロキノロン耐性肺炎球菌，インフルエンザ菌に対する
各種キノロン系抗菌薬の活性比較横田伸一・大越康雄・藤井暢弘
札幌医科大学医学部微生物学講座

(平成 22 年 8 月 4 日受付，平成 22 年 12 月 2 日受理)

北海道の基幹病院および民間の臨床検査センターでさまざまな臨床検体から分離された肺炎球菌およびインフルエンザ菌からスクリーニングされたフルオロキノロン耐性株を中心に，4 剤の経口キノロン系抗菌薬の *in vitro* での活性を評価した。フルオロキノロン耐性肺炎球菌（10 クローン，11 株）に対する Cmax および free Cmax 濃度における殺菌速度はガレノキサシン > シタフロキサシン > モキシフロキサシン > レボフロキサシンの順で速かった。高い area under the time-concentration curve (AUC) 値を示すガレノキサシンがフルオロキノロン耐性株を含むすべての株で最も高い AUC/MIC 比を示し，肺炎球菌のターゲット値（30～40 以上）を超えていた。フルオロキノロン耐性インフルエンザ菌の 12 株（三つの耐性クローン由来と考えられる）では，シタフロキサシンが最も低い MIC 値を示したが，AUC/MIC 比のターゲット値（100～125 以上）を超えたのは他剤と同様に軽度耐性の一つのクローンに対してのみであった。フルオロキノロン耐性肺炎球菌の血清型は比較的出現頻度の低いものが多く，分離株全体の出現頻度とは大きく異なっていた。肺炎球菌に対する低い MIC，速やかな殺菌活性と高い AUC 値を兼ね備えているガレノキサシンは，従来のフルオロキノロン系抗菌薬に耐性を示す肺炎球菌に対しても治療効果の期待できることが示された。

Key words: キノロン，薬剤耐性，血清型，分子疫学，PK/PD

序 文

肺炎球菌，インフルエンザ菌は成人，特に高齢者においては市中肺炎，小児においては急性化膿性中耳炎や副鼻腔炎の起炎菌として分離される頻度が高い臨床重要な細菌である。さらに，肺炎球菌と b 型のインフルエンザ菌は侵襲性が高く，細菌性髄膜炎や菌血症の起炎菌としても重要である。近年，市中感染で重要な位置を占めるこれらの菌における抗菌薬耐性株の広がりや問題となっている。肺炎球菌においてはペニシリン耐性肺炎球菌 (penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*; PRSP)，ペニシリン中等度耐性肺炎球菌 (penicillin-intermediate-resistant *S. pneumoniae*;

PISP) が多くを占めるようになり，さらにマクロライドやテトラサイクリンなど他系統の薬剤に対する耐性頻度の増加から薬剤耐性肺炎球菌 (drug-resistant *S. pneumoniae*; DRSP) の呼称も使用され始めてきている¹⁾。日本においては，マクロライド耐性の肺炎球菌の分離頻度が特に高いのが特徴である²⁾。インフルエンザ菌においても， β -ラクタマーゼ保有株 (β -lactamase-producing ampicillin-resistant; BLPAR) に加えて，ペニシリン結合タンパク質に耐性遺伝子変異を有する β -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性株 (β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant; BLNAR) が特に日本で増加している。いずれの菌についても，フルオロキノロンに対する耐性の頻度は非常に低いとされてきた³⁾。一方，筆者らは北海道における疫学調査から，高齢者を対象にした場合にフルオロキノロン耐性株の分離頻度が比較的高いことを見いだした^{4)~6)}。肺炎球菌の場合は散発的なフルオロキノロン耐性株の発生である^{4), 5)} のに対し，インフルエンザ菌の場合，フルオロキノロン耐性クローンが地域的

著者連絡先：〒060-8556 北海道札幌市中央区南 1 条西 17 丁目
札幌医科大学医学部微生物学講座
藤井暢弘
TEL: 011-611-2111(内線 2710)
FAX: 011-612-5861
E-mail: fujii@sapmed.ac.jp

に広がっている傾向が認められた⁶⁾。一方で、小児では一部のキノロン系抗菌薬（ノフロキサシンとトスフロキサシン）以外は適応を有していないためと考えられるが、少なくとも筆者らの検討ではフルオロキノロン耐性株は小児からは検出されていない。現状では感受性の高いキノロン系抗菌薬も不適切な使用によって確実に耐性化の進行することが、容易に考えられる。今回は、筆者らが分離したフルオロキノロン耐性株について、近年上市されたものを含め、さまざまな経口キノロン系抗菌薬の活性を、pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) パラメーターを鑑みて、Cmax の濃度における殺菌速度や area under the time-concentration curve (AUC)/MIC 比に着目して検討を加えたので報告する。また、フルオロキノロン耐性肺炎球菌株の血清型についても併せて述べる。

材料と方法

1. キノロン系抗菌薬

ガレノキサシン (garenoxacin; GRNX) (アステラス製薬)、レボフロキサシン (levofloxacin; LVFX), シタフロキサシン (sitafloxacin; STFX) (第一三共)、モキシフロキサシン (moxifloxacin; MFLX) (塩野義製薬) の原末は、各メーカーから分与を受けた。

2. 菌株

肺炎球菌は、1999年から2003年に北海道で分離された670株からスクリーニングされたLVFXまたはCPFVXに耐性を示す11株^{4),5)}のうちの10クローン(2株の同一クローン由来株のうちの1株を除いた)、および対照として感受性株2株について検討した。インフルエンザ菌は、2002年から2004年に北海道で分離された457株からスクリーニングされたLVFXまたはCPFVXに耐性を示す12株⁶⁾について検討した。これら12株は三つのクローン(各8株, 3株, 1株)に由来していると考えられる。対照として感受性株8株についても検討した。

3. 肺炎球菌血清型

血清型特異抗血清(デンカ生研)を用いたスライド凝集法により決定した。PCRによる血清型の同定⁷⁾も併行して実施した。血清型のサブタイプに関しては、PCR法で検出できるものはその結果を採用した。それ以外については、必要に応じてKongとGilbertの報告⁸⁾に従い、*cpsA-cpsB* 領域遺伝子の部分配列からサブタイプを推定した。

4. 抗菌活性

MIC値は、筆者らの既報のデータ⁹⁾を用いた。それらはClinical and Laboratory Standards Institute

の2006年のプロトコール¹⁰⁾に従って、微量液体希釈法により測定した。

5. PK/PD パラメーター

AUC値は、呼吸器感染症に対する保険適用の通常投与量について各薬剤のインタビューフォームに記載された値を一日量として換算した。GRNX(投与量400mg)は $89.8 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, LVFX(500mg)は $50.86 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, STFX(50mg, 1日2回)は $5.24 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, MFLX(400mg)は $51.5 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ である。Cmaxの値は、インタビューフォームから保険適用の通常投与量を単回経口投与したときの値を用いた。GRNX(400mg)は $7.19 \mu\text{g}/\text{ml}$, LVFX(500mg)は $8.04 \mu\text{g}/\text{ml}$, STFX(50mg)は $0.51 \mu\text{g}/\text{ml}$, MFLX(400mg)は $4.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。タンパク質結合率はインタビューフォームに記載された値(範囲のある場合には最大と最小の平均値)を採用した。GRNXは79~80(79.5)%, LVFXは26.3~36.2(31.3)%, STFXは46~55(50.5)%, MFLXは50%である。これらの値を用いて、血中の遊離抗菌薬に対してのAUC (free AUC; fAUC)とCmax (free Cmax; fCmax)を算出した。

6. 肺炎球菌殺菌作用

各種キノロン系抗菌薬をCmaxもしくはfCmaxの濃度で菌を短時間処理したときの残存菌量を測定した。5%(v/v)ウマ溶血液添加cation-adjusted Muller-Hinton培地で 2×10^5 CFU/mlの濃度に調製した肺炎球菌の菌液と目的の濃度に調整したキノロン系抗菌薬を等量混和し、35°C、大気下で静置培養した。2, 4, 8時間後に培養液を遠心(4,000×g, 5min)し、菌を沈査として回収した。本遠心条件では、生菌数の減少は認めなかった。菌の沈査をMuller-Hinton液体培地で懸濁し、適当量を5%(v/v)ヒツジ脱繊維血添加Muller-Hinton寒天培地に植菌し、大気下で24h培養した後に出現したコロニー数を測定した。

結 果

1. 殺菌活性

肺炎球菌のフルオロキノロン耐性株、感受性株について、MICは既報⁹⁾で報告したが、今回は、肺炎球菌に対する殺菌作用について、単回経口投与時のCmax, fCmaxの濃度で比較検討を行った(Fig. 1)。フルオロキノロン耐性株、感受性株にかかわらずほとんどの菌株でGRNX>STFX>MFLX>LVFXの順でより速い殺菌作用が認められた。

2. 各種キノロン系抗菌薬に対するAUC/MIC比の比較

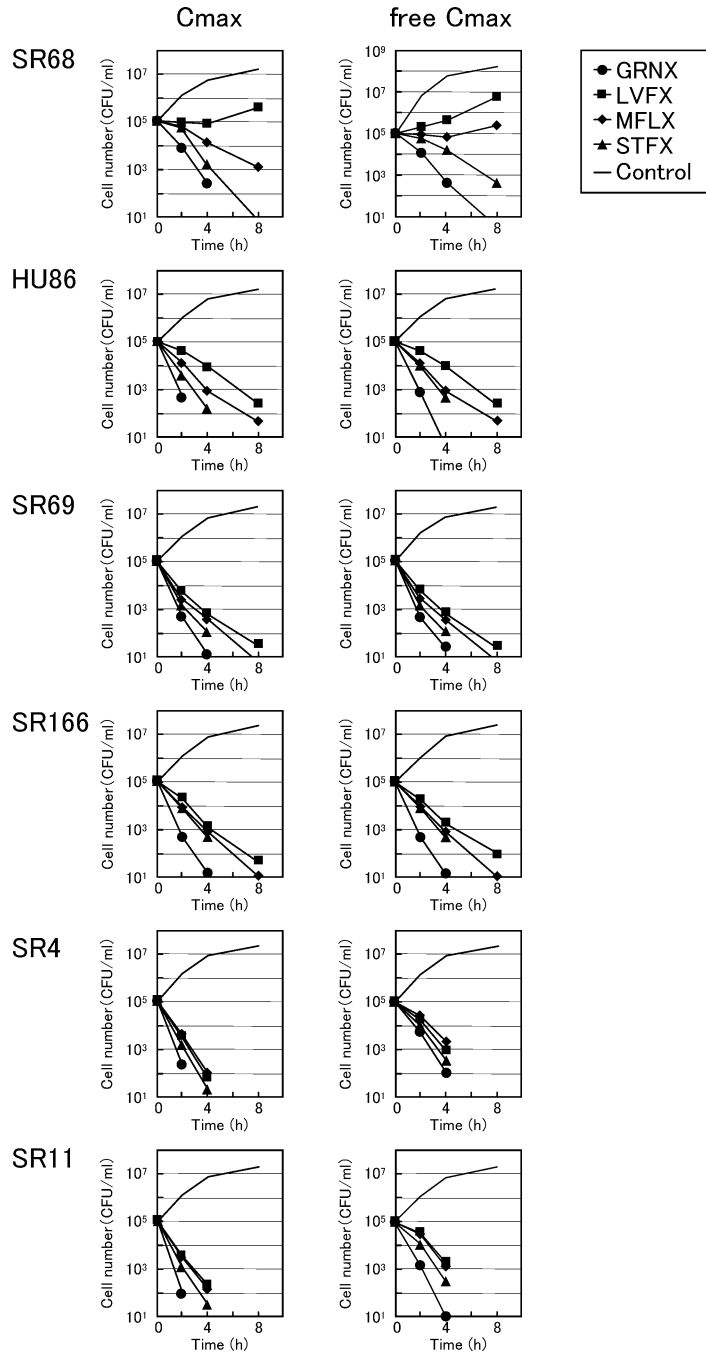


Fig. 1. Bactereicidal activity of garenoxacin, sitafloxacin, moxifloxacin, and levofloxacin against *S. pneumoniae* strains resistant or susceptible to levofloxacin or ciprofloxacin at a concentration of Cmax or free Cmax.

Viable cell numbers in the presence of no antibiotics (no symbol), garenoxacin (●), sitafloxacin (▲), moxifloxacin (◆), and levofloxacin (■).

Table 1. AUC/MIC ratio and free AUC/MIC ratio of various quinolones against *S. pneumoniae* strains resistant or susceptible to quinolones

Strain	MIC for LVFX ($\mu\text{g/ml}$)	AUC/MIC [fAUC/MIC] ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)			
		LVFX (500 mg \times 1)	MFLX (400 mg \times 1)	STFX (50 mg \times 2)	GRNX (400 mg \times 1)
SR68	16	3.2 [2.2]	12.9 [6.5]	21.0 [10.4]	180* [37.7*]
DR22	8	6.3 [4.3]	12.9 [6.5]	5.2 [2.6]	44.9* [9.2]
SR27	8	6.3 [4.3]	12.9 [6.5]	21.0 [10.4]	359* [73.6*]
HU86	8	6.3 [4.3]	25.8 [12.9]	21.0 [10.4]	718* [151*]
SR248	4	12.7 [8.7]	51.5* [25.8]	21.0 [10.4]	359* [73.6*]
HU85	4	12.7 [8.7]	51.5* [25.8]	21.0 [10.4]	718* [151*]
MH67	4	12.7 [8.7]	51.5* [25.8]	21.0 [10.4]	718* [151*]
SR69	1	50.9* [35.0*]	103* [51.5*]	83.8* [41.5*]	718* [151*]
SR211	1	50.9* [35.0*]	206* [103*]	83.8* [41.5*]	1,440* [302*]
SR166	1	50.9* [35.0*]	206* [103*]	21.0 [10.4]	1,440* [302*]
SR4	0.5	102* [69.9*]	412* [206*]	167* [82.9*]	1,440* [302*]
SR11	0.5	102* [69.9*]	824* [412*]	167* [82.9*]	2,870* [603*]

* Above 30 (target value for bacterial eradication).

Table 2. AUC/MIC ratio and free AUC/MIC ratio of various quinolones against *H. influenzae* strains resistant or susceptible to quinolones

Strains (No. of strains)	MIC for LVFX ($\mu\text{g/ml}$)	AUC/MIC [fAUC/MIC] ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)			
		LVFX (500 mg \times 1)	MFLX (400 mg \times 1)	STFX (50 mg \times 2)	GRNX (400 mg \times 1)
Quinolone-resistant clone 1 ($n=8$)	16-32	1.6-3.2 [1.1-2.2]	6.4-12.9 [3.2-6.5]	21.0 [10.4]	5.6-11.2 [1.1-2.3]
Quinolone-resistant clone 2 ($n=3$)	1-2	25.4-50.9 [17.4-35.0]	51.5 [25.8]	83.2 [41.2]	22.5-44.9 [4.6-9.2]
Quinolone-resistant clone 3 ($n=1$)	0.5	102* [70.1]	817* [409*]	>672* [>333*]	359* [73.6]
Quinolone-susceptible strains ($n=8$)	<0.0078-0.0156	>3,390* [>2,330*]	>3,300* [>1,650*]	>672* [>333*]	>11,500* [>2,360*]

* Above 100 (target for bacterial eradication).

キノロン系抗菌薬の場合、臨床効果と最も相関性が高いPK/PDパラメーターはAUC/MIC比もしくはfAUC/MIC比であることが示されている^{11)~14)}。肺炎球菌に対するAUC/MIC比の比較については、筆者らの既報⁹⁾にも触れているが、今回Table 1にまとめた。肺炎球菌の場合、AUC/MIC比が30~40を超えると臨床効果が期待できるとされている^{11)~13)}。GRNXが最も高いAUC/MIC比を示し、フルオロキノロン耐性株を含むすべての株でターゲット値を超えていた。fAUC/MIC比の評価でもGRNXは耐性株10株中9株でターゲット値を超えていた。STFXは*in vitro*ではGRNXと同様に肺炎球菌に対して非常に高い抗菌活性を示す⁹⁾が、AUC値は今回検討したキノロン系抗菌薬の中では最も低い値しか示さな

め、50 mg, 1日2回ではAUC/MIC比、fAUC/MIC比ともにフルオロキノロン耐性株10株中2株しかターゲット値を超えなかった。一方、100 mg, 1日2回ではAUC/MIC比では9株が、fAUC/MICでは2株のみがターゲット値を超えた⁹⁾。

インフルエンザ菌については、札幌市で分離された三つの耐性クローンと感受性株についてAUC/MIC比をTable 2にまとめた。耐性度の高いクローンNo. 1, No. 2に対してはMIC値の最も低いSTFXを含め、いずれの薬剤もターゲット値に到達していなかった。一方、軽度耐性が認められるクローンNo. 3に対しては、AUC/MIC比では検討した4剤すべてが、fAUC/MIC比ではMFLXとSTFXの2剤がインフルエンザ菌におけるターゲット値である100~125^{13), 14)}

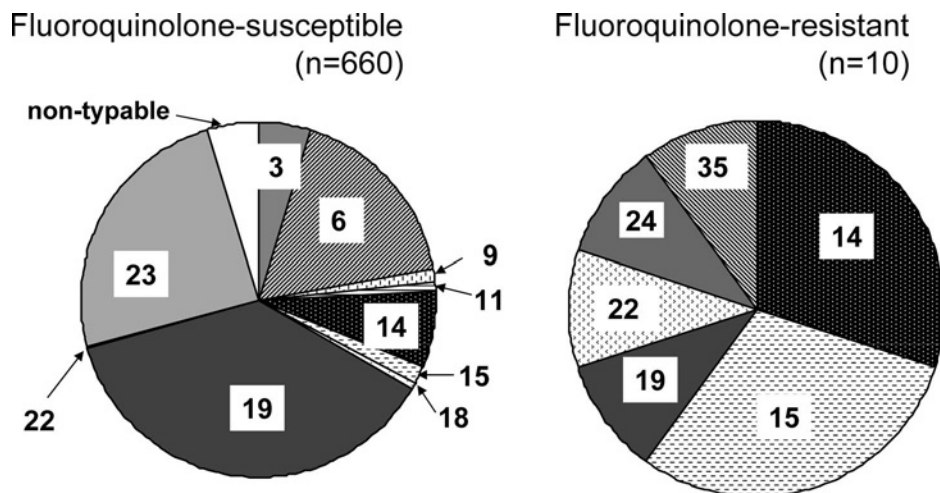


Fig. 2. Serotype distribution of *S. pneumoniae* strains susceptible (A) and resistant to levofloxacin or ciprofloxacin (B).

を超えていた。

3. 血清型

肺炎球菌について血清型を検討した。今回検討した670株の血清型分布は、Fig. 2に示すとおりで、上位の19, 23, 6型の合計で約80%を占めていた。過去の報文と同様の結果であった^{15), 16)}。それに対してフルオロキノロン耐性株10株の血清型は、14型3株、15A型2株、19F型2株、15B, 22F, 24, 35型が各1株であり、菌株数が少ないながらも全体の出現頻度とは非常に異なるパターンを示した。インフルエンザ菌のフルオロキノロン耐性株についてはいずれも nontypable 株であった。

考 察

今回、フルオロキノロン耐性肺炎球菌について、4剤のキノロン系抗菌薬の *in vitro* での活性について検討した。GRNXとSTFXは、肺炎球菌に対して他のキノロン系抗菌薬に比較して、低いMIC値を示す⁹⁾。抗菌薬においては、血中濃度あるいは組織への移行性も臨床効果における重要な因子である。キノロン系抗菌薬においてはPK/PDパラメーターの中でAUC/MIC比が臨床効果とよく相関することが示されている^{11)~14)}。GRNXは肺炎球菌に対して低いMICを示し、かつAUC値は今回検討した4剤のキノロン系抗菌薬の中で最も高い値を示すため、従来のフルオロキノロンに耐性を示す肺炎球菌株に対しても臨床効果が期待できるAUC/MIC比を示した。また、臨床投与時における早期殺菌効果を鑑みて、Cmaxおよび

fCmaxの濃度における肺炎球菌に対する殺菌作用を評価した。GRNXによる菌消失の速さは、1MIC, 2MIC, 4MICの濃度で比較するとMFLX, LVFXと同じレベルであった (data not shown) が、Cmax, fCmaxの濃度ではGRNXで最も速い菌消失が認められた (Fig. 1)。GRNXのCmax/MIC比およびfCmax/MIC比は最も高い値となることから、臨床投与量においては最も速い菌消失が起これと考えられた。

耐性菌の誘導という観点からは、耐性菌を生じさせない抗菌薬の最小濃度 (mutant prevention concentration; MPC) がパラメーターとして提唱されている¹⁷⁾。MICを超え、MPCより低い薬剤濃度 (mutant selection window; MSW) において、耐性菌が誘導されるという考え方である。ParCに一変異のある耐性肺炎球菌株のMPC/MICの値としてSmithら¹⁸⁾は、シプロフロキサシン (CPFX): 64/4, LVFX: 32/2, MFLX: 4~>4/0.25, 高畑ら¹⁹⁾は、LVFX: 30/2, GRNX: 1/0.1~0.2, Okumuraら²⁰⁾は、CPFX: 128/4, LVFX 64/2, MFLX: 8/0.25, STFX: 1/0.06と報告している。耐性菌を出現させないことを考えると、抗菌薬の血中濃度は、MPCを超える濃度が長く維持され、MSWの濃度域にある時間が短いものが望まれる。すなわち、MPCは低いほど、かつMPC/MIC比が小さいほどよい抗菌薬と考えられる。その比はGRNXが5~10倍、それ以外のフルオロキノロン系抗菌薬は約16~32倍である。これらの報文にあるキノロン系抗菌薬の中ではMPC, MPC/MIC比の両値とも肺炎球菌に対してはGRNXが最も優れた値を示すといえ

る。

フルオロキノロン耐性肺炎球菌株の血清型については、10 クローンと数が少ないながら分離頻度のあまり高くはない血清型が多く認められた。その結果、7 価、13 価のワクチンでは 14 型 3 株と 19F 型 1 株の計 4 株しかカバーできないことになる。また、23 価のワクチンではそれに加え、15B、22F 型の各 1 株と 15B との交差反応が期待できる 15A の 2 株がカバーできたとしても、残り 2 株は現行ワクチンでカバーできないことになることは、着目すべき点である。

インフルエンザ菌のフルオロキノロン耐性株については、3 種のクローン由来と考えられる耐性株が札幌市内で計 12 株（各 8 株、3 株、1 株）分離されている⁶⁾。これら三つのクローンいずれもが耐性への関与が不明なものを含めると *parC*、*gyrA*、*parE*、*gyrB* の quinolone resistance determining regions (QRDR) に合計 3~5 個の変異が認められる。クローン No. 1 の 8 株では、5 個の QRDR 中の変異が完全に一致しており、random amplified polymorphic DNA-PCR 法によるゲノム DNA の相同性の結果⁶⁾からも一つのクローン由来と考えられるが、 β -ラクタマーゼの保有、PBP3 の耐性変異の状況はクローン間で異なる⁶⁾。フルオロキノロン耐性を獲得した後に、 β -ラクタム系抗菌薬耐性を獲得したものと推定している。クローン No. 2 にも同様の現象が認められる。これらは、Pérez-Vázquez らが報告しているような遺伝子修復機能が低いために遺伝子変異が蓄積しやすいクローン²¹⁾である可能性が考えられる。今後、こうしたフルオロキノロン耐性クローンの拡大も懸念される。インフルエンザ菌の高度フルオロキノロン耐性株（クローン No. 1, No. 2）に対しては、いずれの薬剤も AUC/MIC 比のターゲット値を上回らなかった。

今回、筆者らが検討したフルオロキノロン系抗菌薬耐性肺炎球菌、インフルエンザ菌はいずれも現状では分離頻度が低いため、検討菌株数は少ない。今後も症例と分離株の集積、および耐性株出現の年次推移を追跡していくことが必要である。肺炎球菌については、MIC、AUC の値が両方とも良好な GRNX が LVFX 耐性株に対しても十分な臨床効果を期待できることが示唆された。一方、GRNX でも AUC/MIC 比はターゲット値を超えているものの MIC $2 \mu\text{g/ml}$ のクローンが 1 株認められており⁹⁾、今後このようなキノロン耐性株の増加・拡大も懸念される。欧米での分離株（18,887 株）の検討でも、GRNX の MIC が $2 \mu\text{g/ml}$ 以上の肺炎球菌が 6 株認められている²²⁾。現状の感受性を維持し、キノロン耐性菌の出現を防止するために

も、キノロン系抗菌薬は PK/PD も考慮しながら、より短時間で確実な菌消失が期待できる薬剤を選択することが必要と思われる。

謝辞 菌株の収集にご協力いただいた市立室蘭総合病院臨床検査科の林 右氏、松田啓子氏、札幌臨床検査センターの桑原 理氏、株式会社エスアールエルの塚本尚行氏、大内裕敬氏、第一臨床検査センターの小林和彦氏、上野 了氏、北海道大学病院診療支援部検査部門の秋沢宏次氏に感謝申し上げます。また、菌株の保存やスクリーニングにご尽力いただいた佐藤清氏に深謝申し上げます。本研究は、湯浅記念財団からの研究助成（一部）により実施された。

文 献

- 1) Campbell, G. D. Jr., R. Siberman. 1998. Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin. Infect. Dis. 26: 1188-1195.
- 2) Ubukata, K. 2003. Problems associated with high prevalence of multidrug-resistant bacteria in patients with community-acquired infections. J. Infect. Chemother. 9: 285-291.
- 3) Inoue, M., D. J. Farrell, K. Kaneko, et al. 2008. Antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens in Japan during PROTEKT years 1-5 (1999-2004). Microb. Drug Resist. 14: 109-117.
- 4) Yokota, S., K. Sato, O. Kuwahara, et al. 2002. Fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains occur frequently in elderly patients in Japan. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 3311-3315.
- 5) 横田伸一, 佐藤 清, 吉田 繁, 他. 2004. フルオロキノロン耐性肺炎球菌の分子疫学. 感染症誌 78: 428-434.
- 6) Yokota, S., Y. Ohkoshi, K. Sato, et al. 2008. Emergence of fluoroquinolone-resistant *Haemophilus influenzae* strains among elderly patients but not among children. J. Clin. Microbiol. 46: 361-365.
- 7) Lawrence, E. R., D. B. Griffiths, S. A. Martin, et al. 2003. Evaluation of semiautomated multiplex PCR assay for determination of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and serogroups. J. Clin. Microbiol. 41: 601-607.
- 8) Kong, F., G. L. Gilbert. 2003. Using *cpsA-cpsB* sequence polymorphisms and serotype-/group-specific PCR to predict 51 *Streptococcus pneumoniae* capsular serotypes. J. Med. Microbiol. 52: 1047-1058.
- 9) Yokota, S., Y. Ohkoshi, N. Fujii. 2009. Susceptibility and bactericidal activity of 8 oral qui-

- nolones against conventional-fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 65: 76–80.
- 10) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved standard, 7th ed., Wayne, PA.
 - 11) Ambrose, P. G., D. M. Grasela, T. H. Grasela, et al. 2001. Pharmacodynamics of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired respiratory tract infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 2793–2797.
 - 12) Lister, P. D. 2003. Impact of AUC/MIC ratios on the pharmacodynamics of the des-F(6) quinolone garenoxacin (BMS-284756) is similar to other fluoroquinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* 51: 199–202.
 - 13) Wright, D. H., G. H. Brown, M. L. Peterson, et al. 2000. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *J. Antimicrob. Chemother.* 46: 669–683.
 - 14) Forrest, A., D. E. Nix, C. H. Ballou, et al. 1993. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 1073–1081.
 - 15) 生方公子. 2001. 肺炎球菌, インフルエンザ菌の疫学的考察. *Jpn. J. Antibiot.* 54 (Suppl. B): 4–10.
 - 16) Oishi, K., H. Yoshimine, H. Watanabe, et al. 2006. Drug-resistant genes and serotypes of pneumococcal strains of community-acquired pneumonia among adults in Japan. *Respirology* 11: 429–436.
 - 17) Drlica, K., X. Zhao. 2007. Mutant selection window hypothesis updated. *Clin. Infect. Dis.* 44: 681–688.
 - 18) Smith, H. J., M. Walters, T. Hisanaga, et al. 2004. Mutant prevention concentrations for single-step fluoroquinolone-resistant mutants of wild-type, efflux-positive, or ParC or GyrA mutation-containing *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 3954–3958.
 - 19) 高畑正裕, 福田淑子, 二口直子, 他. 2007. Garenoxacin の *in vitro* 抗菌活性. *日治療会誌* 55 (S-1): 1–20.
 - 20) Okumura, R., T. Hirata, Y. Onodera, et al. 2008. Dual-targeting properties of the 3-aminopyrrolidyl quinolones, DC-159a and sitafloxacin, against DNA gyrase and topoisomerase IV: Contribution to reducing *in vitro* emergence of quinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 62: 98–104.
 - 21) Pérez-Vázquez, M., F. Román, S. García-Cobos, et al. 2007. Fluoroquinolone resistance in *Haemophilus influenzae* is associated with hypermutability. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51: 1566–1569.
 - 22) Jones, R. N., T. R. Fritsche, H. S. Sader, et al. 2007. Activity of garenoxacin, an investigational des-F(6)-quinolone, tested against pathogens from community-acquired respiratory tract infections, including those with elevated or resistant-level fluoroquinolone MIC values. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 58: 9–17.

Evaluation of Four Quinolones against Fluoroquinolone-nonsusceptible
Clones of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*

Shin-ichi Yokota, Yasuo Ohkoshi, Nobuhiro Fujii*

Department of Microbiology, Sapporo Medical University School of Medicine

* Corresponding author

We evaluated activity of 4 quinolones against conventional-fluoroquinolone-nonsusceptible and susceptible clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* derived from various clinical sources in Japan. Bactericidal activity under concentration of C_{max} or free C_{max} against *S. pneumoniae* occurred in order of garenoxacin > sitafloxacin > moxifloxacin > levofloxacin. Garenoxacin was most rapidly bactericidal for *S. pneumoniae*, including fluoroquinolone-nonsusceptible strains. AUC/MIC ratios of garenoxacin to all *S. pneumoniae* strains tested were highest among the 4 quinolones, and above the target value (30 to 40) for bacterial eradication. Serotypes of the fluoroquinolone-nonsusceptible *S. pneumoniae* strains were relatively rare ones. Fluoroquinolone-nonsusceptible *H. influenzae* strains were suggested to expand clonally in Sapporo-city (Hokkaido Prefecture, Japan). Three clones (8 strains, 3 strains and 1 strain of each clone) shared 3 to 5 mutations in quinolone resistance determining region of quinolone target genes. STFX showed the least MIC values among 4 quinolones, however, no quinolones showed exceeded target value of AUC/MIC ratio (100 to 125) for bacterial eradication of *H. influenzae* to former 2 clones. In conclusion, garenoxacin, which shared high susceptibility to *S. pneumoniae* and high AUC value, is expected to have high therapeutic activity against *S. pneumoniae* strains including resistant strains to conventional fluoroquinolones.