

A群溶血性連鎖球菌に対する sitafloxacin ならびに 他抗菌薬の抗菌活性および短時間殺菌力

難波栄子・奥村 亮

第一三共株式会社研究開発本部生物医学研究所

千葉めぐみ・星野一樹

第一三共株式会社ワクチン事業部研究グループ

舘田一博

東邦大学医学部微生物・感染症学講座

(2013年9月4日受付)

A群溶血性連鎖球菌(溶連菌)に対する sitafloxacin (STFX) の殺菌特性を明らかにする目的で、溶連菌臨床分離株を対象に薬剤感受性および *in vitro* 殺菌力を検討した。薬剤感受性測定には2010年の咽頭由来臨床分離株119株を対象に、STFX, garenoxacin (GRNX), levofloxacin (LVFX), clarithromycin (CAM), azithromycin (AZM), amoxicillin (AMPC), cefcapene (CFPN) および minocycline (MINO) の合計8薬剤を使用した。殺菌力の評価にはマクロライド耐性1株, LVFX耐性1株および標準株1株を含む合計5株を対象に、STFX, GRNX, AMPCおよびCAMの4薬剤を使用し、健常成人の1回経口投与時の血中最高濃度 (C_{max}) を作用させた条件において、経時的な生菌数推移を検討した。

薬剤感受性は、 MIC_{90} の良好な順に、CFPN (MIC_{90} , $0.015 \mu\text{g/mL}$) > AMPC ($0.03 \mu\text{g/mL}$) > STFX ($0.12 \mu\text{g/mL}$) > GRNX ($0.25 \mu\text{g/mL}$) > LVFX ($4 \mu\text{g/mL}$) > MINO ($16 \mu\text{g/mL}$) であった。CAM および AZM の MIC_{90} は $>32 \mu\text{g/mL}$ および $>128 \mu\text{g/mL}$ であり、119株中72株(60.5%)においてマクロライド耐性菌が確認された。殺菌力を検討した結果、STFXは供試薬剤中で最も低い作用濃度にもかかわらず、最も強い短時間殺菌力を示し、薬剤作用後2時間以内にLVFX耐性菌を含むすべての菌株の生菌数を3log以上減少させた。GRNXも殺菌的な抗菌作用を示したが、菌数を3log以上減少させるために2~6時間を要した。AMPCはキノロン系抗菌薬に比べて殺菌力は弱く、生菌数検出限界に達した1株を除く他4株において薬剤作用6時間までに3log以上の菌数減少は認められなかった。CAMは殺菌的な抗菌作用を示さず、CAM耐性菌の増殖を抑制しなかった。

以上の結果から、STFXは除菌が必要とされる溶連菌感染症において、有用な治療選択肢となる可能性が示唆された。

A群溶血性連鎖球菌（以下、溶連菌）は、急性咽頭炎および扁桃炎の主要因菌として、小児の15～30%、成人の10～15%の割合で検出されている¹⁾。溶連菌感染症は、咽頭炎および扁桃炎の発症後に、リウマチ熱および急性糸球体腎炎に代表される重篤な続発症を引き起こす危険性が知られており、確実な除菌効果を有する抗菌薬治療が推奨されている²⁾。本邦における溶連菌感染症の第一選択薬は、ペニシリン系抗菌薬 amoxicillin (AMPC) であり、完全な除菌を目的に10日間の比較的長期投与が推奨されている。患者がペニシリンアレルギー等の場合、第二選択薬として複数の抗菌薬が挙げられており、マクロライド系抗菌薬では clarithromycin (CAM) の5～10日間投与、セフェム系抗菌薬の5日間投与、成人を対象にキノロン系抗菌薬の5日間投与が推奨されている¹⁾。また、組織侵入性溶連菌による壊死性筋膜炎に対しては、ペニシリン系抗菌薬の単独投与ではなく、clindamycin (CLDM) 単独もしくはCLDMとペニシリン系抗菌薬の併用を推奨する報告もある³⁾。

溶連菌の薬剤感受性は、肺炎球菌および黄色ブドウ球菌とは異なる特徴を示す。肺炎球菌はペニシリン耐性菌 (PRSP)、黄色ブドウ球菌ではメチシリン耐性菌 (MRSA) が臨床上問題となっているが⁴⁾、溶連菌のペニシリン系抗菌薬に対する薬剤感受性は長期に亘りほぼ100%で推移しており、ペニシリン耐性の溶連菌出現に関する報告は今のところほとんどない^{2,5)}。マクロライド系抗菌薬においては、肺炎球菌の場合と同様、マクロライド耐性溶連菌の拡大が報告されている。厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) の2012年度年報は、入院患者由来溶連菌において、マクロライド系抗菌薬 erythromycin 耐性菌分離率が52.9%と、初めて50%を超えたことを報告した⁶⁾。

2008年に市販されたキノロン系抗菌薬 sitafloxacin (STFX) は、呼吸器感染症、耳鼻咽喉科領域感染

症、尿路感染症、性感染症および歯科・口腔外科領域感染症に適応を有している。耳鼻咽喉科領域感染症のうち、STFXは咽頭炎、喉頭炎および扁桃周囲炎・扁桃周囲膿瘍を含む扁桃炎に対しても適応を有しており⁷⁾、成人の溶連菌感染症治療薬の中で第二選択薬に位置付けられている¹⁾。STFXの主薬理面の主な特徴は、嫌気性菌を含む広範囲な抗菌スペクトラムと、肺炎球菌に対して他抗菌薬を凌駕する強力な殺菌力を有することが知られている⁸⁾。ペニシリン系抗菌薬も、キノロン系抗菌薬と同等以上の肺炎球菌に対する強力な短時間殺菌力を示すことが明らかとなっている⁹⁾。

しかし、除菌を強く要求される溶連菌に対して、STFXの殺菌力を検討した報告はこれまでなく、第一選択薬のペニシリン系抗菌薬の殺菌力と比較した場合、どちらの薬剤の殺菌力が強いかにについては未だ明らかになっていない。また、重篤な合併症や再発を抑制するために、咽頭部位からの溶連菌の確実な除菌が必要とされているが、咽頭より分離された溶連菌臨床分離株を対象にした薬剤感受性結果は未だ報告がない。

そこで、本研究では、咽頭由来溶連菌臨床分離株の抗菌薬8薬剤に対する薬剤感受性を検討するとともに、臨床での有効性を推測する指標の一つとするため、ペニシリン系抗菌薬 AMPC、マクロライド系抗菌薬 CAM、キノロン系抗菌薬 garenoxacin (GRNX) およびSTFXを用い、各抗菌薬の臨床濃度作用時における *in vitro* 短時間殺菌力を明らかにすることを目的とした。

I. 材料及び方法

1. 被験菌株

薬剤感受性評価には、levofloxacin (LVFX) 特定使用成績調査「第9回抗菌薬感受性年次別推移の検討」(以下、2010年LVFXサーベイランス)¹⁰⁾ において全国の医療施設から収集された溶連菌臨

床分離株のうち、咽喉拭い液由来の119株を使用した。殺菌力評価には、溶連菌標準株 ATCC 12344 (JCM5674) 株に加え、2010年LVFXサーベイランスにて収集された溶連菌4株 (0406005株, 0406230株, 0406370株, および0406308株) を使用した。なお、0406230株はCAM耐性株, 0406308株はLVFX耐性株 (MIC, 16 μ g/mL) であることを予め確認した (Table 3)。

2. 薬剤感受性評価

最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M7-A9 が定める微量液体希釈法¹¹⁾ を用い、8種類の抗菌薬に対する薬剤感受性を検討した。ペニシリン系抗菌薬 AMPC, セフェム系抗菌薬 cefcapene (CFPN), マクロライド系抗菌薬 CAM および azithromycin (AZM), キノロン系抗菌薬 LVFX, GRNX, STFX, およびテトラサイクリン系抗菌薬 minocycline (MINO) のそれぞれ力価が明らかな活性本体を用いた。薬剤感受性評価用培地は、5%馬溶血液添加 Cation-adjusted Mueller-Hinton Broth (Becton, Dickinson and Company) を使用した。薬剤感受性/耐性率は、CLSIが規定する基準¹²⁾ より算出した。

3. 殺菌力評価

抗菌薬の殺菌力評価には、ペニシリン系抗菌薬 AMPC, マクロライド系抗菌薬 CAM, キノロン系抗菌薬 GRNX および STFX の合計4薬剤を使用した。菌株は、羊血液寒天培地上で一夜培養後、Brain Heart Infusion broth (BHI broth; Becton, Dickinson and Company) に懸濁し、35°C, 1時間の振盪培養により、約10⁶ CFU/mLに調製した。健常成人に対する常用量投与後の最高血中濃度 (C_{max}) を作用させるため、各抗菌薬のC_{max}の10倍濃度をBHI brothにて調製後、菌液に1/10量添加した。各抗菌薬の作用最終濃度は、AMPC 3.7 μ g/mL, CAM 1.2 μ g/mL, GRNX 7.2 μ g/mL, およびSTFX 1.0 μ g/mLとした (Table 2)。

振盪培養再開後1, 2, 4, および6時間後の培養菌液を一部回収し、BHI brothにて適宜希釈後、羊血液寒天培地に塗抹した。35°Cにて一夜培養後、羊血液寒天培地上に発育したコロニー数を計測し、希釈率を乗じて生菌数を算出した ($n=4$)。生菌数の検出限界は、AMPCを除いた抗菌薬の場合はLog 2.3 CFU/mL, AMPCの場合はLog 3.3 CFU/mLとした。殺菌作用の判定は、初期菌数から3 log以上の生菌数減少 (≥ 3 log kill) が確認された場合、殺菌効果ありと判定した。

II. 結果

1. 抗菌活性

咽頭由来溶連菌119株のSTFXおよび他抗菌薬に対する薬剤感受性をTable 1に、薬剤感受性累積曲線をFig. 1に示した。

STFXの溶連菌に対するMIC₉₀は0.12 μ g/mLであり、STFXは他キノロン系抗菌薬のLVFXに比べて32倍、GRNXよりも2倍強い抗菌活性を示した。今回、喀痰または膿由来株等を除いた咽頭由来溶連菌119株を検討した結果、CLSIの薬剤感受性基準から、LVFX中等度耐性 (4 μ g/mL) およびLVFX耐性 (≥ 8 μ g/mL) がそれぞれ12.6%および1.7%の割合で存在することを確認した。CAM および AZM は、MIC₉₀ がそれぞれ >32 μ g/mL, >128 μ g/mL であり、CLSI の薬剤感受性基準から、耐性菌 (CAM, ≥ 1 μ g/mL; AZM, ≥ 2 μ g/mL) の割合はそれぞれ60.5%と高い割合で存在することが明らかとなった。一方、AMPC および CFPN のMIC₉₀ はそれぞれ0.03 μ g/mL および0.015 μ g/mL と良好な抗菌活性を示し、CFPN は供試薬剤中で最も高い薬剤感受性を示した。MINO のMIC₅₀ およびMIC₉₀ はそれぞれ0.25, 16 μ g/mL と両値の間に64倍の乖離が認められ、累積曲線から、MIC 4 μ g/mL 以上を示す菌株が約20%の割合

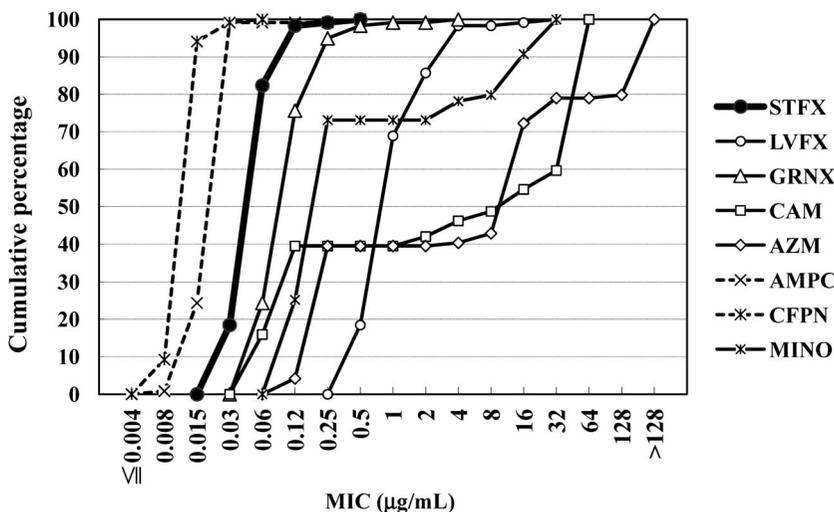
Table 1. Antimicrobial susceptibilities and distribution of susceptible or resistant isolates among 119 clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* from pharynx.

| Antimicrobial agents | MIC (μg/mL) ^{a)} | | | | No. (%) of isolates ^{b)} | | |
|----------------------|---------------------------|--------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|--------------|-----------|
| | Range | | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | Susceptible | Intermediate | Resistant |
| STFX | 0.03 | - 0.5 | 0.06 | 0.12 | - | - | - |
| LVFX | 0.5 | - 32 | 1 | 4 | 102 (85.7) | 15 (12.6) | 2 (1.7) |
| GRNX | 0.06 | - 4 | 0.12 | 0.25 | - | - | - |
| CAM | 0.06 | - >32 | 16 | >32 | 47 (39.5) | 0 | 72 (60.5) |
| AZM | 0.12 | - >128 | 16 | >128 | 47 (39.5) | 0 | 72 (60.5) |
| AMPC | 0.008 | - 0.5 | 0.03 | 0.03 | - | - | - |
| CFPN | 0.008 | - 0.06 | 0.015 | 0.015 | - | - | - |
| MINO | 0.12 | - 32 | 0.25 | 16 | - | - | - |

^{a)} MIC₅₀ and MIC₉₀, MICs for 50% and 90% of the organisms, respectively.

^{b)} Number of isolates for which the respective MICs were susceptible (LVFX MIC of 2 μg/mL, CAM MIC of 0.25 μg/mL, and AZM MIC of 0.5 μg/mL), intermediate (LVFX MIC of 4 μg/mL, CAM MIC of 0.5 μg/mL, and AZM MIC of 1 μg/mL) or resistant (LVFX MIC of 8 μg/mL, CAM MIC of 1 μg/mL, and AZM MIC of 2 μg/mL). -, not determined because of the lack of criteria

Fig. 1. Cumulative distribution curves of susceptibilities of clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* to sitafloxacin and seven other antimicrobial agents.



で存在することが明らかとなった。

以上の結果から、咽頭由来溶連菌 119 株に対する抗菌活性が強い薬剤は、CFPN, AMPC, STFX, GRNX の順であり、LVFX, CAM, AZM および MINO に対しては、耐性菌もしくは低感受性菌の

存在が明らかとなった。

2. 殺菌力

STFX, GRNX, AMPC および CAM の *in vitro* 殺菌力試験における各薬剤作用濃度 (成人常用量

投与時の最高血中濃度； C_{max})をTable 2, 供試菌株の薬剤感受性および薬剤作用後の生菌数減少量をTable 3, 殺菌曲線をFig. 2に示した。

STFXは供試薬剤中で最も殺菌力が強く、 C_{max} 1.0 μ g/mL作用条件下において、5株中3株にて薬剤作用後1時間で殺菌作用 ($\geq 3\log$) を示し、LVFX耐性0406308株を含む全菌株に対して2時間以内に殺菌的に菌数を減少させた。GRNXはSTFXに次いで強い殺菌力を示し、 C_{max} 7.2 μ g/mL作用条件下、ATCC 12344株に対して4時間 (Fig. 2A), 臨床分離株に対して2~6時間作用によって殺菌作用を示した。AMPCは、STFXおよびGRNXよりも殺菌力は弱く、生菌数検出限界に達した0406230株を除く他4株に対して、 C_{max} 3.7 μ g/mL作用6時間後に生菌数を2.1~2.6log減少させた。CAMはCAM感受性菌に対して C_{max} 1.2 μ g/mL作用6時間後において生菌数をわずか0.8~1.7log減少させたが、CAM耐性菌0406230株に対しては、試験開始時の菌数に比べて薬剤作用後の生菌数が増加した (Fig. 2C)。

以上の結果から、各薬剤の C_{max} 濃度作用条件下において、溶連菌に対する殺菌力が最も強い薬剤は、供試薬剤の中で最も低濃度を作用させた

STFXであり、STFXの殺菌力はLVFX耐性、感受性の影響を大きく受けないことが明らかとなった。AMPCの溶連菌に対する殺菌力はSTFXおよびGRNXより弱く、本検討結果から3log以上の菌数減少を達成するためには、AMPCを6時間以上作用させることが必要であると考えられた。CAMの溶連菌に対する抗菌作用は静菌的であり、 C_{max} 濃度作用6時間までの観察の結果、耐性菌の増殖を阻止できないことが明らかとなった。

III. 考察

本研究では、2010年LVFXサーベイランスにて収集された咽頭由来溶連菌119株の薬剤感受性を検討するとともに、溶連菌標準株1株および臨床分離株4株の合計5株に対する主要4抗菌薬のヒト最高血中濃度作用時における*in vitro*短時間殺菌力を検討した。その結果、最も抗菌活性の優れた薬剤はCFPNであり、次いでAMPC、STFX、GRNXの順に良好な抗菌活性を示した。溶連菌に対する殺菌力は、供試薬剤中で最も作用濃度の低いSTFXが最も強い短時間殺菌作用を示し、次いで、GRNX、AMPC、CAMの順であることが明ら

Table 2. Concentration of antimicrobial agents tested in the time-kill studies.

| Antimicrobial agents ^{a)} | Representative human dose ^{b)} | Maximum plasma concentration (μ g/mL) ^{b)} | T_{max} (hr) ^{c)} |
|------------------------------------|---|--|------------------------------------|
| AMPC | 250 mg | 3.7 | 2.0 |
| CAM | 200 mg | 1.2 | 1.9 |
| GRNX | 400 mg | 7.2 | 2.0 (1.96) |
| STFX | 100 mg | 1.0 | 1.2 (fasting), 2.0 (after feeding) |

^{a)} AMPC, amoxicillin; CAM, clarithromycin; GRNX, garenoxacin; STFX, sitafloxacin

^{b)} Sawacillin capsules 125/250, fine granules, tablets 250 [package insert] for AMPC, Klaricid [package insert] for CAM, Geninax tablets 200 mg [package insert] for GRNX, and Gracevit tablets, fine granules [package insert] for STFX.

^{c)} Time to reach maximum plasma concentration of each drug.

Table 3. Bactericidal activity of sitafloxacin and other agents against a type strain and clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*.

| Strains | Phenotype | Antimicrobial agents | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Log CFU/mL decrease in cell counts relative to the starting inoculum | | | | | |
|------------|-------------------|----------------------|--------------------------|--|------------|------------|------------|--|--|
| | | | | 1h (SD) | 2h (SD) | 4h (SD) | 6h (SD) | | |
| ATCC 12344 | | CAM | 0.12 | 0.0 (0.0) | 0.2 (0.1) | 0.5 (0.0) | 0.9 (0.1) | | |
| | | AMPC | 0.03 | 0.0 (0.1) | 0.3 (0.0) | 1.5 (0.2) | 2.6 (0.3) | | |
| | | GRNX | 0.12 | 1.4 (0.0) | 2.5 (0.1) | > 3.0 | > 3.0 | | |
| | | STFX | 0.03 | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | | |
| 0406005 | | CAM | 0.06 | 0.0 (0.1) | 0.2 (0.1) | 0.8 (0.1) | 1.7 (0.0) | | |
| | | AMPC | 0.015 | 0.8 (0.2) | 1.0 (0.1) | 2.0 (0.5) | 2.6 (0.4) | | |
| | | GRNX | 0.12 | 1.8 (0.2) | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | | |
| | | STFX | 0.06 | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | | |
| 0406230 | CAM ^R | CAM | 8 | -0.1 (0.1) | -0.4 (0.0) | -0.9 (0.2) | -1.5 (0.1) | | |
| | | AMPC | 0.03 | 1.3 (0.2) | 2.1 (0.3) | ND | | | |
| | | GRNX | 0.25 | 0.5 (0.1) | 1.6 (0.2) | > 3.0 | > 3.0 | | |
| | | STFX | 0.06 | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | > 3.0 | | |
| 0406370 | | CAM | 0.06 | 0.1 (0.2) | 0.1 (0.1) | 0.6 (0.1) | 0.8 (0.1) | | |
| | | AMPC | 0.03 | 0.4 (0.1) | 0.8 (0.1) | 1.6 (0.1) | 2.3 (0.3) | | |
| | | GRNX | 0.5 | 0.5 (0.1) | 1.5 (0.1) | 2.7 (0.2) | > 3.0 | | |
| | | STFX | 0.12 | 2.8 (0.2) | 3.0 (0.1) | > 3.0 | > 3.0 | | |
| 0406308 | LVFX ^R | CAM | 0.12 | 0.2 (0.2) | 0.2 (0.1) | 0.5 (0.0) | 0.9 (0.1) | | |
| | | AMPC | 0.03 | 0.4 (0.1) | 0.6 (0.2) | 1.2 (0.2) | 2.1 (0.1) | | |
| | | GRNX | 1 | 0.5 (0.1) | 1.4 (0.1) | 2.5 (0.0) | 3.0 (0.2) | | |
| | | STFX | 0.25 | 2.5 (0.1) | 3.0 (0.0) | > 3.0 | > 3.0 | | |

CAM^R, clarithromycin-resistant; LVFX^R, levofloxacin-resistant; ND, not determined because of the value below detection limit of AMPC (3.3); SD, standard deviation; CFU, colony-forming unit. Gray shade indicates bactericidal activity (≥ 3 log decrease in viable cell counts/mL relative to starting inoculum)

Fig. 2. Time-kill curves of STFX, GRNX, AMPC, and CAM against *Streptococcus pyogenes* at concentrations equivalent to their respective maximum serum concentrations in adult humans.

(A) ATCC 12344, (B) 0406005, (C) 0406230, (D) 0406370, (E) 0406308.

Error bars represent \pm standard deviation.

Following individual symbols indicate values below the detection limit; *, STFX, #, GRNX, +, AMPC.

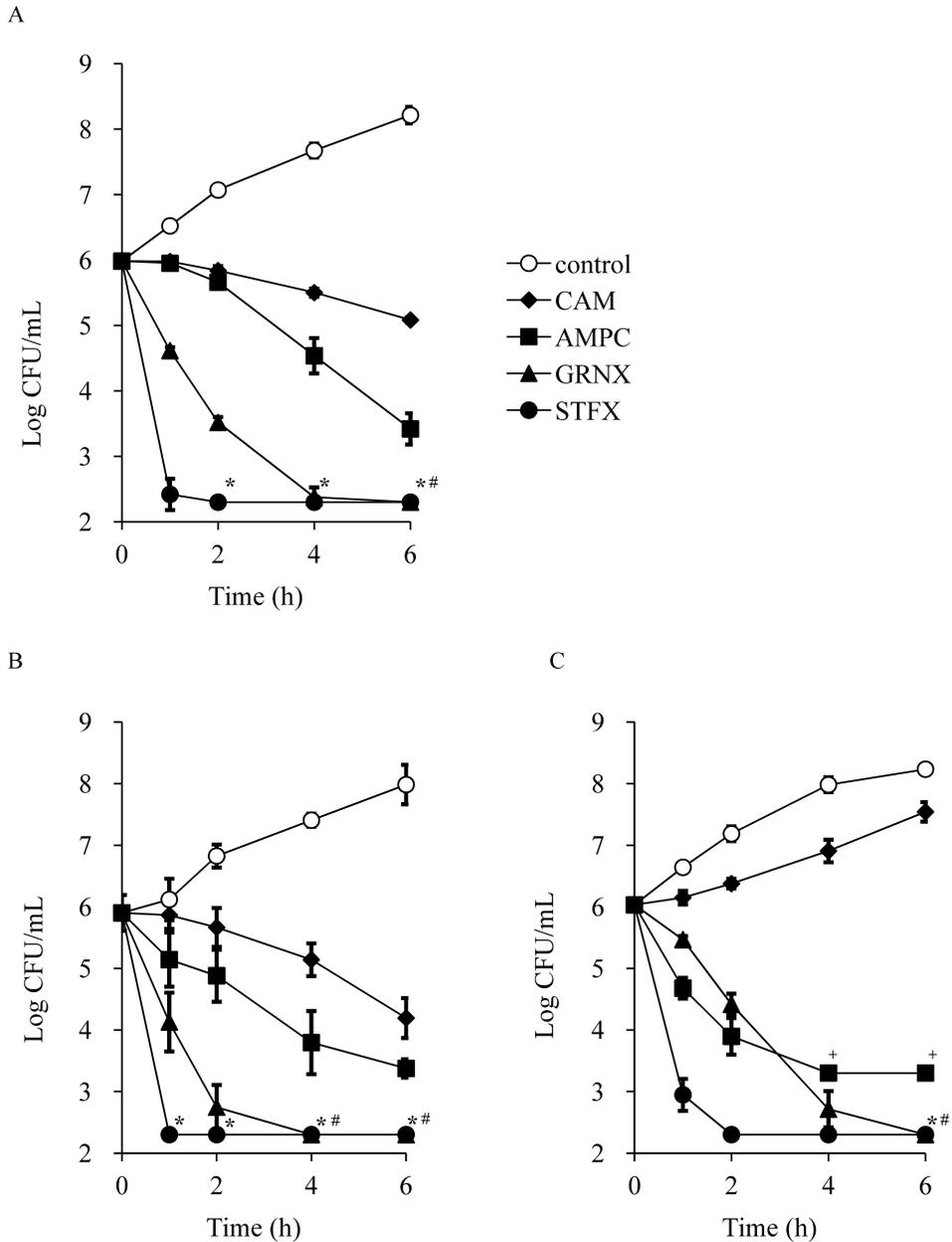
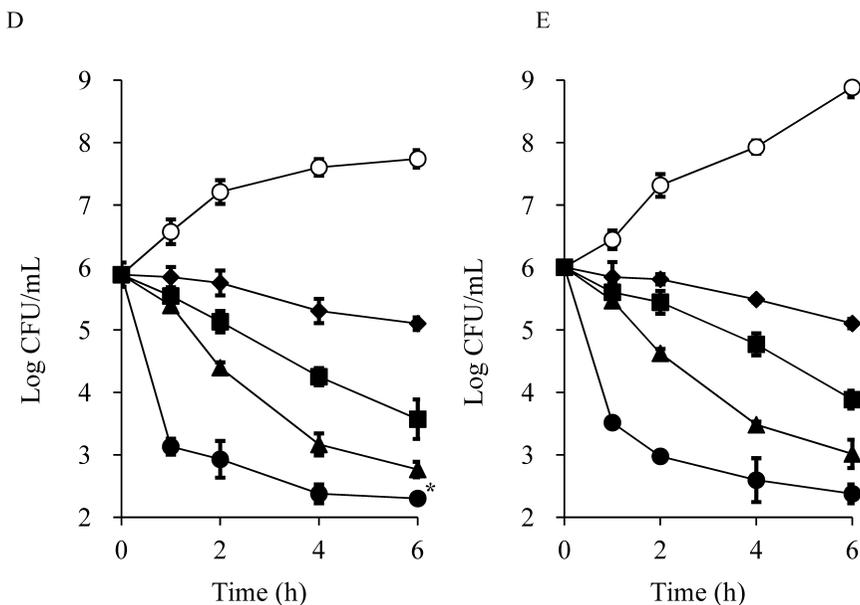


Fig. 2. (Continued)



かとなった。溶連菌感染症の第一選択薬である AMPC の溶連菌に対する *in vitro* 殺菌力は、必ずしも強力ではなく、キノロン系抗菌薬 STFX および GRNX に比べて弱いことが明らかとなった。

本研究では、本邦の治療ガイドライン等に基づき、ペニシリン系抗菌薬として AMPC、セフェム系抗菌薬の代表として CFPN を検討したが、CLSI は AMPC および CFPN に対する溶連菌の薬剤感受性基準を定めていない¹²⁾。このため、厳密な感受性判定はできないものの、今回検討した咽頭由来溶連菌において AMPC および CFPN に対する明らかな低感受性菌は存在しないと考えられた。一方、マクロライド系抗菌薬 CAM ならびに AZM に対する耐性率はともに 60.5% と高い値を示した。溶連菌のマクロライド耐性化の進展は既に報告され¹³⁾、治療失敗例も報告されていることから¹⁴⁾、マクロライド系抗菌薬を選択する場合は耐性菌の存在に十分留意する必要があると考えられた。また、LVFX 耐性率は 1.7% と低値であったが、LVFX 中等度耐性率は 12.6% と比較的高い頻度であった。溶連菌のキノロン耐性機構は、キノロン耐性変異の

蓄積が主要因のため¹⁵⁾、LVFX 高度耐性菌へのシフト、および今後の LVFX 治療効果には十分な注意が必要と考えられた。今後、耐性菌の拡大予測および治療効果の推定のため、マクロライド、キノロンおよびテトラサイクリン系抗菌薬の薬剤耐性機構を明らかにする必要があると考えられる。

溶連菌感染症に対して抗菌薬治療を実施する意義は、重篤な合併症を抑制するための確実な除菌にある。薬剤感受性のみならず、主要抗菌薬の溶連菌に対する殺菌特性も把握することは、治療薬選択時の指針を提供することに繋がると考えられる。我々は、AMPC の殺菌効果は STFX よりも弱いことを複数株で確認したが、既報においても、溶連菌に対するペニシリン系抗菌薬の *in vitro* 殺菌力は比較的弱いと報告されており^{16,17)}、今回の検討結果と傾向はほぼ一致した。キノロン系抗菌薬は濃度依存性の速い殺菌作用を発現することが知られ、特に肺炎球菌に対する殺菌効果は STFX の方が GRNX よりも強いことが報告されている^{9,18,19)}。各研究によって薬剤作用濃度の相違はあるものの、STFX は肺炎球菌や溶連菌等の菌種の違いに

大きく影響せず、多くの菌種に対して強い殺菌作用を示す可能性が推察される。興味深いことに、STFXと異なり、GRNXは肺炎球菌と溶連菌とでは殺菌力に大きな違いがあり、GRNXの溶連菌に対する殺菌力は減弱することが報告されており²⁰⁾、また、肺炎球菌を対象とした研究からSTFXとGRNXとでは殺菌メカニズムの違いも示唆されている¹⁹⁾。2007年、キノロンおよび β -ラクタム系を含む抗菌薬の殺菌機構に活性酸素が関与することが報告されたが²¹⁾、近年相次いで否定的見解が報告されており^{22,23)}、今のところ抗菌薬の殺菌機構は明確になっていない。STFXとGRNXの殺菌力の違いは、置換基の違いに基づく構造の相違に起因している可能性もある。今回の研究結果だけでは、溶連菌に対するSTFXの殺菌機構を推察することは不可能であるが、今後、本研究で得られた知見がSTFXもしくはキノロン系抗菌薬の殺菌メカニズムの解明に向けた基礎研究に貢献できる可能性が考えられる。殺菌力の検討に供試した4薬剤は、いずれもヒト投与時の C_{max} 到達時間(T_{max})が1~2時間であり(Table 2)、加えて、蛋白結合率が極端に高い薬剤(例えば90%以上)ではないことから、今回のように1~2時間を主な焦点とする短時間殺菌力を検討する場合は、長時間のPKシミュレーションおよび蛋白結合率に基づいた濃度補正の必要性は高くないと考えられる。

本研究において、AMPCに対する溶連菌生菌数の検出限界は $\text{Log}3.3\text{CFU/mL}$ と、他の抗菌薬の検出限界($\text{Log}2.3\text{CFU/mL}$)と異なった理由は、菌液に含まれるAMPCのcarry-overの影響を避ける必要からである。すなわち、AMPCのMIC($0.03\mu\text{g/mL}$)と C_{max} 濃度($3.7\mu\text{g/mL}$)との差が最も大きいため、寒天培地に菌液塗抹する前に菌液の希釈率を上げる必要があった。溶連菌040230株に対するAMPCの殺菌力は、薬剤作用4時間以降、検出限界のため生菌数計測不能となったが、他の4株に対するAPMCの殺菌力は薬剤作用後6時間で

3log以上の菌数減少は観察されなかった。従来より、 β -ラクタム系抗菌薬の溶連菌に対する殺菌効果の研究において、高い菌濃度や増殖定常期の菌に対して β -ラクタム系抗菌薬の殺菌力が減弱する「Eagle効果」が知られている²⁴⁾。しかし、今回の試験は、Eagle効果発現を抑制できる条件で実施しており、今回のAMPCの弱い殺菌作用はEagle効果によるものとは考えにくい。今回の検討結果が、臨床効果にそのまま反映するかは不明確であり、今後、薬剤作用時間の延長や臨床研究においてさらなる検討が必要と考えられる。

我々は、ペニシリン系抗菌薬AMPCの溶連菌に対する殺菌力は必ずしも強くない一方で、STFXは短時間殺菌に優れ、除菌特性の最も高い薬剤である可能性を明らかにした。第一選択薬のペニシリン系抗菌薬に関しては、侵襲性の溶連菌やバイオフィーム形成溶連菌に対するペニシリン系抗菌薬の治療失敗例も報告されており^{25~27)}、今後は、薬剤の組織移行性およびバイオフィームに対する殺菌効果も抗菌薬選択時に考慮すべき特性と考えられる。最近、AMPC治療失敗例の新しい仮説として、他菌種由来 β -lactamaseが溶連菌に対するAMPC殺菌作用を減弱化させている可能性も示唆されている²⁸⁾。溶連菌感染症の再発防止ならびに耐性菌出現の可能性を低減させるため、作用機作の異なった短時間殺菌作用の強い薬剤も、溶連菌治療時における有用性の高い選択肢のひとつになると考えられる。

謝辞

本稿を終えるにあたり、本試験にご協力いただきました田辺美穂氏に感謝いたします。

文献

- 1) 日本感染症学会・日本化学療法学会編：JAID/JSC感染症治療ガイド2011。ライフサイエンス出版株式会社，東京，2012

- 2) SHULMAN, S. T.; A. L. BISNO & H. W. CLEGG: Clinical practice guideline for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis: 2012 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 55: e86~e102, 2012
- 3) ZIMBELMAN, J.; A. PALMER & J. TODD: Improved outcome of clindamycin compared with β -lactam antibiotic treatment for invasive *Streptococcus pyogenes* infection. *Pediat. Infect. Dis. J.* 18: 1096~1100, 1999
- 4) LIVEMORE, D. E.: Fourteen years in resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents* 39: 284~294, 2012
- 5) WONG, C. J. & D. L. STEVENS: Serious group A streptococcal infections. *Med. Clin. N. Am.* 97: 721~736, 2013
- 6) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) : 2012年1月~12月年報。2013年6月4日
- 7) 馬場駿吉, 鈴木賢二, 山中 昇, 他 : 耳鼻咽喉科感染症に対する sitafloxacin の有効性, 安全性および組織移行性。日本化学療法学会雑誌 56 (S-1) : 110~120, 2008
- 8) 神田裕子 : 新規キノロン系抗菌薬シタフロキサシンの薬理学的特性と臨床効果。日本薬理学雑誌 133: 43~51, 2009
- 9) OKUMURA, R.; K. HOSHINO & T. OTANI: Quinolones with enhanced bactericidal activity induce autolysis in *Streptococcus pneumoniae*. *Chemotherapy* 55: 262~269, 2009
- 10) 山口恵三, 大野 章, 石井良和, 他 : 2010年に全国72施設の臨床材料から分離された12,866株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス。 *Jpn. J. Antibiotics* 65: 181~206, 2012
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard—ninth edition. M7-A9, 2012
- 12) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement. M100-S23, 2013
- 13) WAJIMA, T.; S. Y. MURAYAMA & K. SUNAOSHI: Distribution of *emm* type and antibiotic susceptibility of group A streptococci causing invasive and noninvasive disease. *J. Med. Microbiol.* 57: 1383~1388, 2008
- 14) LOGAN, L. K.; J. B. MCAULEY & S. T. SHULMAN: Macrolide treatment failure in streptococcal pharyngitis resulting in acute rheumatic fever. *Pediatrics* 129: e798~802, 2012
- 15) VAN HEIRSTRAETEN, L.; G. LETEN & C. LAMMENS: Increase in fluoroquinolone non-susceptibility among clinical *Streptococcus pyogenes* in Belgium during 2007-10. *J. Antimicrob. Chemother.* 67: 2602~2605, 2012
- 16) ARHIN, F. F.; G. A. MCKAY & S. BEAULIEU: Time-kill kinetics of oritavancin and comparator agents against *Streptococcus pyogenes*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 34: 550~554, 2009
- 17) STEVENS, D. L.; K. J. MADRAS-KELLY & D. M. RICHARDS: *In vitro* antimicrobial effects of various combinations of penicillin and clindamycin against four strains of *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 1266~1268, 1998
- 18) KANDA, H.; K. INOUE & R. OKUMURA: Rapid bactericidal activity of sitafloxacin against *Streptococcus pneumoniae*. *Jpn. J. Antibiotics* 66: 9~23, 2013
- 19) 小林寅喆, 金山明子, 長谷川美幸, 他 : Sitafloxacin およびその他ニューキノロン系抗菌薬の *Streptococcus pneumoniae* 各種臨床分離株に対する殺菌作用に関する検討。 *Jpn. J. Antibiotics* 66: 25~35, 2013
- 20) NOVIELLO, S.; F. IANNIELLO & S. LEONE: Comparative activity of garenoxacin and other agents by susceptibility and time-kill testing against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* and respiratory pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* 52: 869~872, 2003
- 21) KOHANSKI, M. A.; D. J. DWYER & B. HAYETE: A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell* 130: 797~810, 2007
- 22) LIU, Y. & J. A. IMLAY: Cell death from antibiotics without the involvement of reactive oxygen species. *Science* 339: 1210~1213, 2013
- 23) KEREN, I.; Y. WU & J. INOCENCIO: Killing by bactericidal antibiotics does not depend on reactive oxygen species. *Science* 339: 1213~1216, 2013

- 24) STEVENS, D. L.; A. E. GIBBONS & R. BERGSTROM: The Eagle effect revisited: efficacy of clindamycin, erythromycin, and penicillin in the treatment of streptococcal myositis. *J. Infect. Dis.* 158: 23~28, 1988
- 25) SELA, S. & A. BARZILAI: Why do we fail with penicillin in the treatment of group A *Streptococcus* infections? *Ann. Med.* 31: 303~307, 1999
- 26) PICHICHERO, M. E. & J. R. CASEY: Systemic review of factors contributing to penicillin treatment failure in *Streptococcus pyogenes* pharyngitis. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 137: 851~857, 2007
- 27) CONLEY, J.; M. E. OLSON & L. S. COOK: Biofilm formation by group A streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J. Clin. Microbiol.* 41: 4043~4048, 2003
- 28) SCHAAR, V.; I. UDDBACK & T. NORDSTROM: Group A streptococci are protected from amoxicillin-mediated killing by vesicles containing β -lactamase derived from *Haemophilus influenzae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013 Aug. 2 [Epub ahead of print]

Antimicrobial and rapid bactericidal activities of sitafloxacin and other agents against *Streptococcus pyogenes*

EIKO NAMBA and RYO OKUMURA

Biological Research Laboratories, R&D Division, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

MEGUMI CHIBA and KAZUKI HOSHINO

Research Group, Vaccine Business Intelligence Division,
Daiichi Sankyo Co., Ltd.

KAZUHIRO TATEDA

Department of Microbiology and Infectious Diseases,
Toho University School of Medicine

We evaluated the *in vitro* activity of sitafloxacin against Japanese clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* by broth microdilution susceptibility testing and time-kill studies to elucidate its eradication potential against *S. pyogenes*. One hundred and nineteen clinical isolates of *S. pyogenes* isolated from pharynx were tested to sitafloxacin and seven other agents in the susceptibility testing. The time-kill studies were conducted with five strains, one of which was resistant to clarithromycin, one resistant to levofloxacin and one type strain of *S. pyogenes*. In the time-kill studies, sitafloxacin, garenoxacin, amoxicillin and clarithromycin were assessed at static concentrations of their respective peak concentrations in plasma (C_{max}) when administered as oral single doses for adult patients with *S. pyogenes* infections. We found the rank order of antimicrobial activity against *S. pyogenes* isolates was: cefcapene (MIC_{90} , $0.015 \mu\text{g/mL}$) > amoxicillin ($0.03 \mu\text{g/mL}$) > sitafloxacin ($0.12 \mu\text{g/mL}$) > garenoxacin ($0.25 \mu\text{g/mL}$) > levofloxacin ($4 \mu\text{g/mL}$) > minocycline ($16 \mu\text{g/mL}$). Macrolide-resistant isolates accounted for 72 (60.5%), resulting in clarithromycin and azithromycin MIC_{90} s of >32 and >128 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

Sitafloxacin exhibited the most rapid bactericidal activity (≥ 3 log reduction from the initial inoculum) within 2 h against all tested strains, including even one levofloxacin-resistant strain. For garenoxacin, bactericidal activity was achieved between 2 and 6 h. Amoxicillin revealed no significant bactericidal activity up to 6 h. Clarithromycin showed no bactericidal activity and did not inhibit growth of a clarithromycin-resistant strain.

These data indicate the potential usefulness of sitafloxacin for the treatment of *S. pyogenes* eradication.