琉球大学学術リポジトリ

[原著] 第2, 3世代セフユム系抗生剤とオフロキサシンの抗菌作用について

メタデータ	言語:
	出版者: 琉球大学医学部
	公開日: 2010-06-30
	キーワード (Ja):
	キーワード (En): MIC, OFLX, CTM, LMOX
	作成者: 仲宗根, 昇, 比嘉, 直美, 岩永, 正明, 仲宗根, 勇, 平良, 真幸, 外間, 政哲, Nakasone, Noboru, Higa, Naomi, Iwanaga, Masaaki, Nakasone, Isamu, Taira, Shinko, Hokama, Seitetsu
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002015733

Ryukyu Med. J., 9(3・4)：168～178，1986.

第2，3世代セフェム系抗生剤とオフロキサシンの抗菌作用について

仲宗根　昇　　比嘉　直美　　岩永　正明
*仲宗根　勇　　*平良　真幸　　*外間　政哲

琉球大学医学部細菌学教室
*琉球大学医学部附属病院検査部

緒　　言

細菌の抗菌剤に対する感受性は，その菌を分離した年代，および地域によってかなりの差異を示すので，総合的な感受性検査を全国各地において一定期間毎に行なうべきであることを，我々は常に強調してきた[1)2)]．本県においては1983年にその調査を行なったが[2)]，その後も新しい抗菌性薬剤の開発が続いている．しかし，新薬開発時に沖縄県地方の臨床分離株については，その感受性テストがほとんど行なわれていない．

オフロキサシン(OFLX)は新しく開発されたキノリン系抗菌剤であり（1985年，9月発売），グラム陰性桿菌に対しては，第3世代セフェム系抗生剤に匹敵する抗菌力を有し，また緑膿菌，グラム陽性球菌に対しても優れた抗菌力を有するなど，従来のキノリン系抗菌剤の概念をくつがえした広い抗菌スペクトルを有するものと言われている．しかも，経口投与によってセフェム系抗生剤の点滴静注に劣らぬ効果を示すというメリットも期待される[3)]．

しかし，その薬剤についても沖縄県地方における分離菌に対しては，その調査がなされないまま，既に臨床では使用されはじめている．そこで今回我々は，本県の臨床材料から分離した各菌についてOFLXの抗菌力を第2，3世代セフェム系抗生剤と比較しつつ検討した．

材料と方法

1．使用菌株：琉球大学医学部附属病院検査部および民間の臨床検査センターにおいて，昭和58年から昭和61年までに分離した500株を使用した．内容は *Staphylococcus aureus*93株，*Streptococcus faecalis*46株，*Escherichia coli*108株，*Klebsiella* spp.105株，*Pseudomonus aeruginosa*54株，*Enterobacter* spp.42株，*Serratia marcescens*52株である．

2．使用薬剤：Ofloxacin (OFLX: 第一製薬)，Cefotiam (CTM: 武田薬品工業)，Latamoxef (LMOX: 塩野義製薬)の3薬剤を使用した．

3．抗菌力測定法：日本化学療法学会1974年改定法に準じ[4)]，寒天平板培地に継代発育された被検菌の1コロニーをハートインフュージョンブロス（栄研）で37°C 5～6時間静置培養後，生理的食塩水で10倍希釈したものを接種菌液とした．薬剤濃度100μg/mlから2倍希釈系列のハートインフュージョン寒天平板にミクロプランター（佐久間 MITP # 00257）を用いて菌液を接種し，37°C18～20時間培養後，最小発育阻止濃度（MIC）を測定した．

4．増殖曲線と形態観察：3薬剤に対し，MIC＝0.05μg/mlの大腸菌を被検菌株中から任意に選択し，ハートインフュージョンブロスで37°C静置培養を行なった．対数増殖期の中期に各薬剤を添加して，培地中の薬剤濃度を0.1μg/ml（2・MIC）とした．その後経時的（1，2，3，4時間後）に生菌数測定，および形態学的観察（光顕・電顕）を行なった．生菌数は試料を10倍段階希釈後，各希釈液の0.1mlを寒天平板上に広げて培養し，平板上に形成したコロニー数を算定した．光顕試料は培養液一滴をスライドグラスに塗抹し，グラム染色を行ない油浸1000倍で観察した．電顕試料は常法に従い2.5%グルタールアルデヒドと1%オスミウム酸の2

重固定を行ない，アセトン60～100%系列で脱水後，臨界点乾燥した．これをPtでコーティングし，日立S450走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した．

結　　果

1：グラム陽性球菌

Staphylococcus aureus；OFLXはCTM，LMOXと比べ優れた抗菌力を示し，全株MIC＝6.25μg/ml以下の濃度で発育を阻止した．一方CTM，LMOXは広いMIC分布を示し，特にCTMに対しては約11%の株がMIC＝100μg/ml以上の高度薬剤耐性を示した（Fig. 1）．

Streptococcus faecalis；CTMに対し約90%の株がMIC＝25μg/ml以上であり，LMOXに対しては93%の株がMIC＝100μg/ml以上の高度薬剤耐性を示した．これらと比べOFLXは圧倒的に優れた抗菌力を示し，MIC＝1.56μg/ml以下の濃度で全株の発育を阻止した（Fig. 2）．

2：グラム陰性桿菌

Escherichia coli；CTMに対しMICが0.78～6.25μg/mlの株が4株みられたが，ほとんどの株はどの薬剤に対してもMIC＝0.39μg/ml以下の濃度で発育が阻止された．しかし95%の株が発育を阻止される薬剤濃度をみるとOFLXは0.1，CTMは0.2，LMOXは0.39μg/mlで，抗菌力の強さはOFLX ＞ CTM ＞ LMOXの順であった（Fig. 3）．

Klebsiella；CTMとLMOXのMICが100μg/ml以上の耐性株が各々1株ずつみられたが，3薬剤とも1.56μg/ml以下の濃度で98～100%の株の発育を阻止した（Fig. 4）．

Enterobacter；CTMとLMOXは幅広いMIC分布を示した．OFLXに対する感受性のピークは，MIC＝0.1μg/mlにあった．抗菌力はOFLX ＞ LMOX ＞ CTMの順で，CTMは著しく劣った（Fig. 5）．

Pseudomonus aeruginosa；緑膿菌に対しOFLXは他の菌種に対する程の抗菌力を示さなかったが，それでも12.5μg/ml以下で全株の発育を阻止した．これに対し，CTMには94%の菌がMIC≧100μg/mlの高度耐性を示した．LMOXに対しては幅広いMICの分布を示したが，約20%の株が高度耐性であった（Fig. 6）．

Serratia marcescens；OFLXとLMOXの抗菌力に差はほとんどみられなかったが，CTMには52株中36株(約70%)がMIC≧100μg/mlの高度耐性であり，前記2薬剤と比べCTMの抗菌力は劣っていた（Fig. 7）．

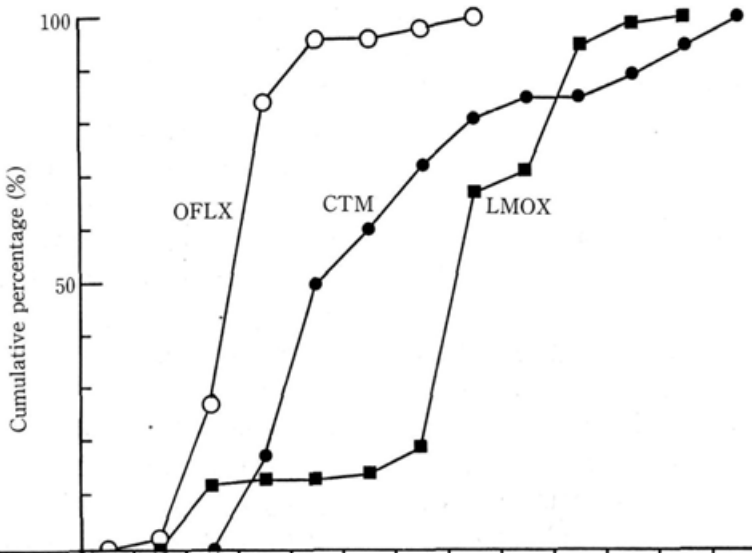
3：増殖曲線と形態学的変化

対数増殖中期にある大腸菌に，2 MIC（0.1μg/ml）の薬剤を各々加え，各薬剤による増殖曲線および菌体におよぼす影響を調べてみた．Fig. 8に示したように，どの薬剤も2 MICの濃度で生菌数を減少させた．殺菌作用はOFLXが最も強かった．光顕レベルで菌体の変化をコントロール(Fig. 9 A1-4)と比べてみると，CTM（Fig. 9 B1-4），LMOX（Fig. 9 C1-4）では薬剤投与1時間後から菌体の伸長がみられ，その後も伸長化が進んでいた．OFLXでも同様な所見が1時間目でみられたが（Fig. 9 D1-4），その後の菌の伸びは著明でなく，ほぼ同じ長さの状態であった．薬剤投与3～4時間目において，培養液からの菌の検出は容易でなく，遠心濃縮することによって検出可能であった．電顕レベルでみると（Fig. 10 A-D），形態的な特徴として，長く伸びた菌体の所々に小さなふくらみがみられた他は，光顕レベルの所見と同様であった．

考　　察

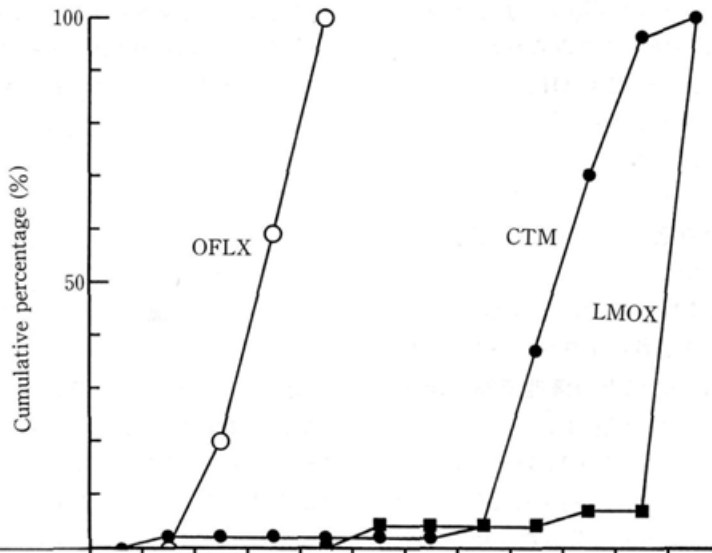
OFLXはグラム陰性菌のみならず，グラム陽性球菌に対しても優れた抗菌力を示すことが知られている[5]．今回我々が行なった実験の目的は，沖縄県下で分離された臨床由来株のこの薬剤に対する感受性パターンを明らかにし，第2，3世代CephemであるCTM，LMOXとの抗菌力を比較することであった．

その結果，OFLXの抗体力はCTM，LMOXと比べ，使用した全菌種においてすぐれていた．特に*Enterobacter* spp.，*Serratia marcescens*,



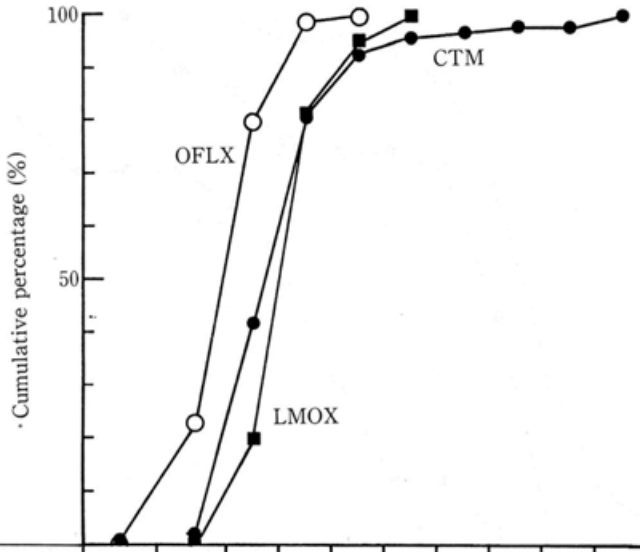
MIC (μg/ml)	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	100<
OFLX		1	24	53	11		2	2					
CTM				16	30	10	11	8	4		4	5	5
LMOX			11	1		1	4	44	4	21	4	1	

Fig. 1 Susceptibility of *Staphylococcus aureus* (93 strains)



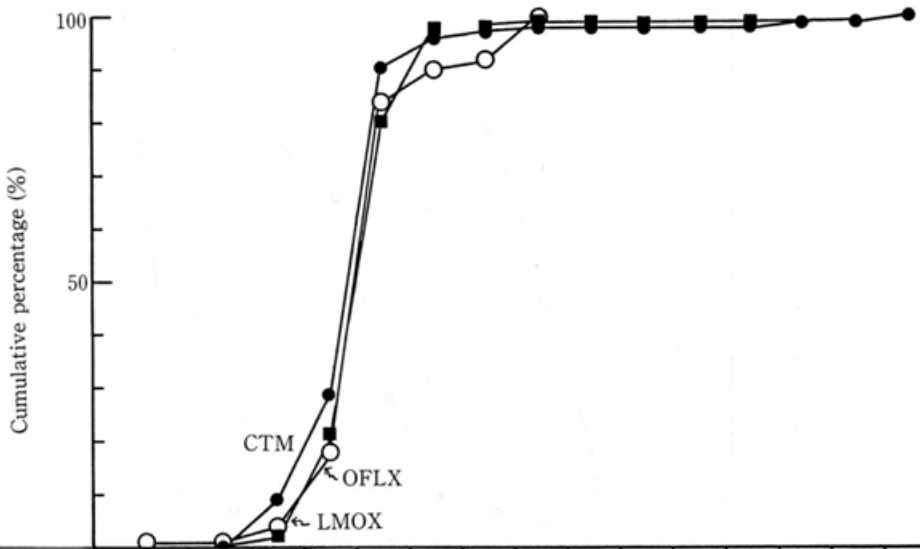
MIC (μg/ml)	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	100<
OFLX			9	18	19							
CTM		1						1	15	15	12	2
LMOX						2				1		43

Fig. 2 Susceptibility of *Streptococcus faecalis* (46 strains)



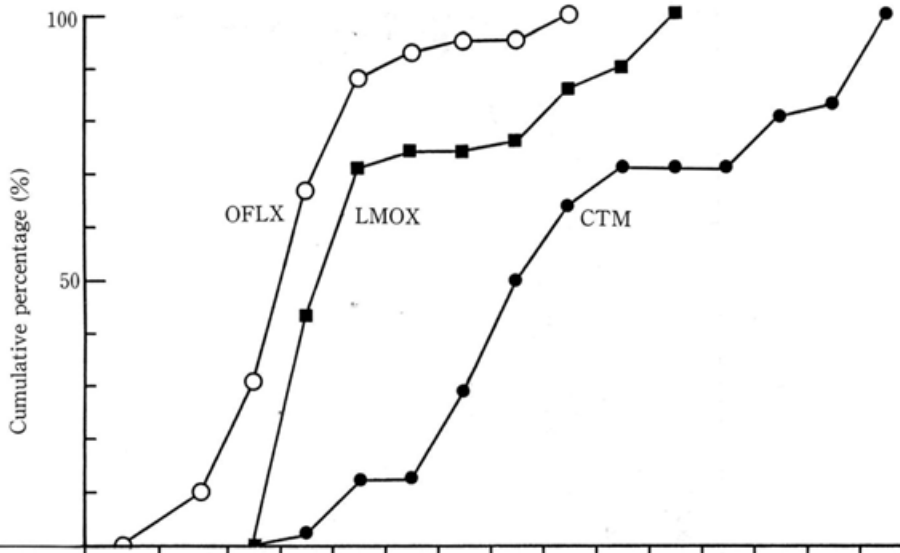
MIC (μg/ml)	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5
OFLX		25	61	21	1						
CTM		1	44	42	13	4	1	1		2	
LMOX			22	67	14	5					

Fig. 3　Susceptibility of *Escherichia coli* (108 strains)



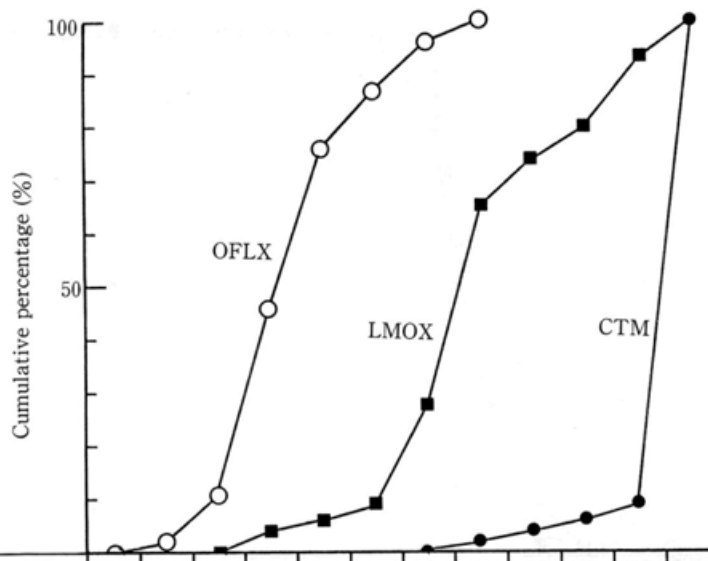
MIC (μg/ml)	≦0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	100<
OFLX	1		3	15	69	6	3	8							
CTM			9	21	65	6	1	1					1		1
LMOX			2	20	62	19		1							1

Fig. 4　Susceptibility of *Klebsiella* (105 strains)



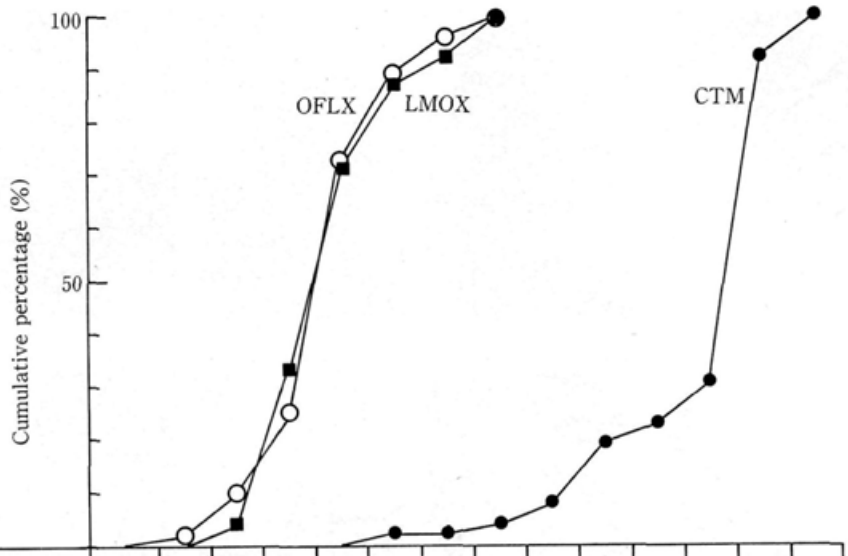
MIC (μg/ml)	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	100<
OFLX		4	9	15	9	2	1		2						
CTM				1	4		7	9	6	3			4	1	7
LMOX				18	12	1		1	4	2	4				

Fig. 5 Susceptibility of *Enterobacter* (42 strains)



MIC (μg/ml)	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	100<
OFLX		1	5	19	16	6	5	2				
CTM								1	1	1	2	49
LMOX				2	1	2	10	20	5	3	7	4

Fig. 6 Susceptibility of *Pseudomonus aeruginosa* (54 strains)



MIC (μg/ml)	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	100<
OFLX		1	4	8	25	8	4	2						
CTM						1		1	2	6	2	4	32	4
LMOX			2	*15	20	8	3	4						

Fig. 7 Susceptibility of *Serratia marcescens* (52 strains)

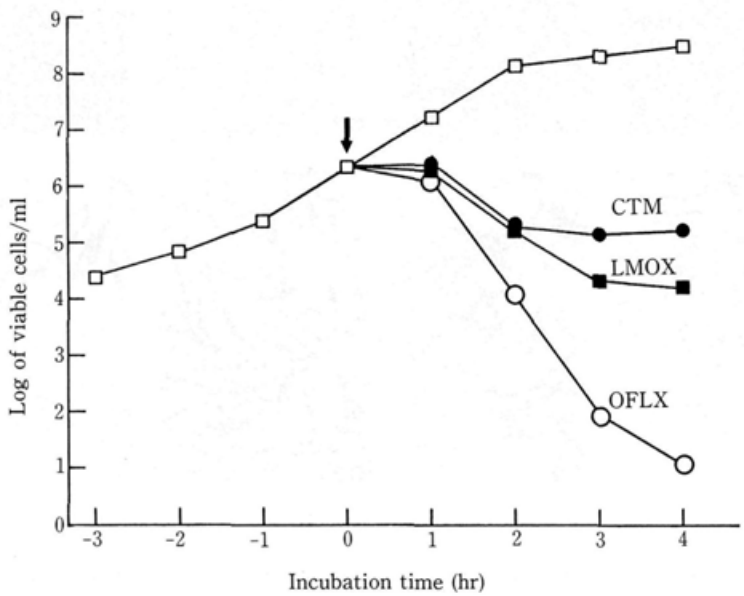


Fig. 8

Bactericidal activities of OFLX, CTM and LMOX on *Escherichia coli*. Arrow indicates the addition of drugs.

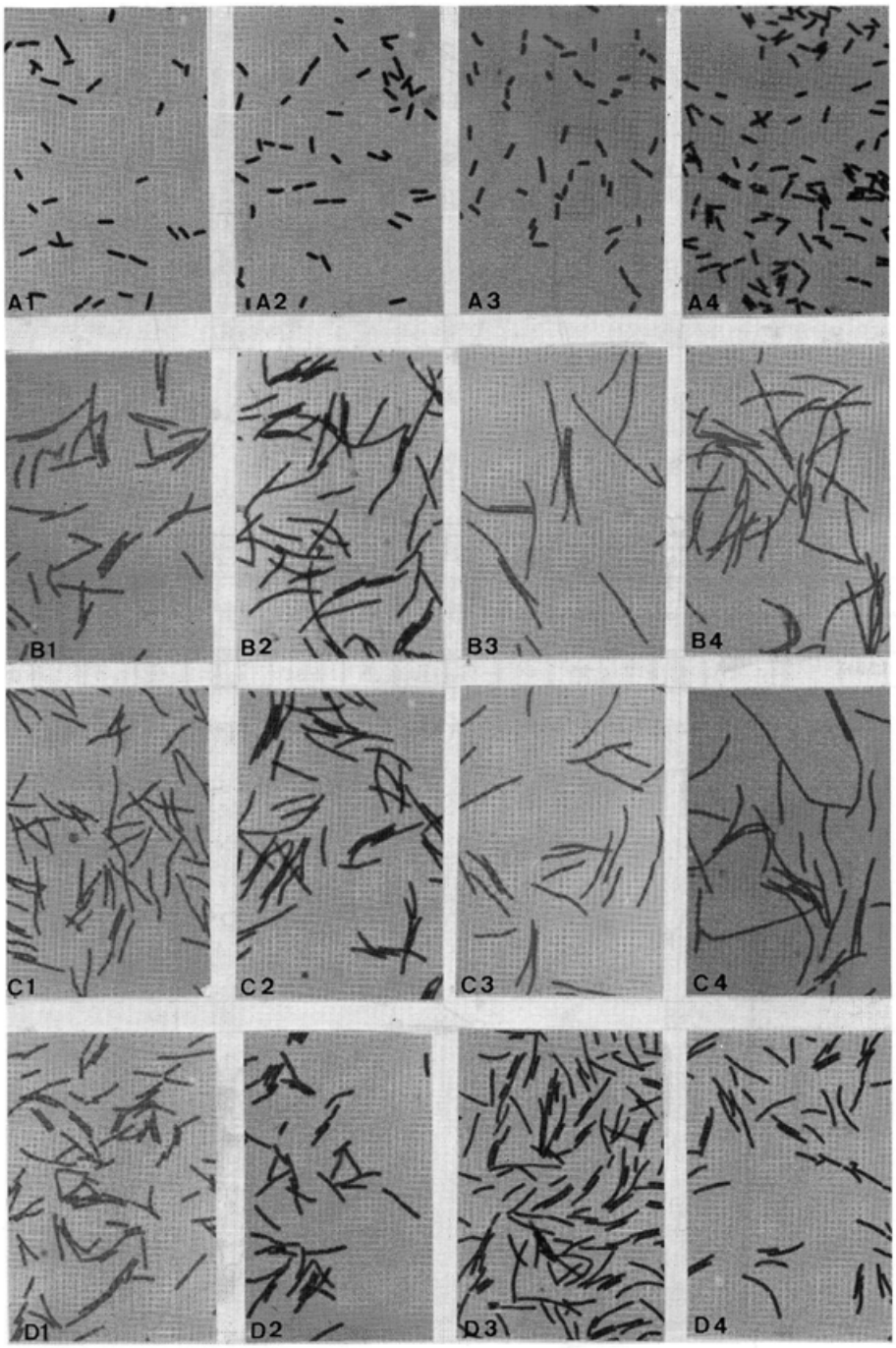


Fig. 9

Lightmicroscopical findings of *Escherichia coli* exposed to 0.1 μg/ml (2 MIC) of OFLX, CTM and LMOX

A; control, B; CTM, C; LMOX, D; OFLX. X 1,700

The number of 1 to 4 indicate the incubation hours after addition of drugs.

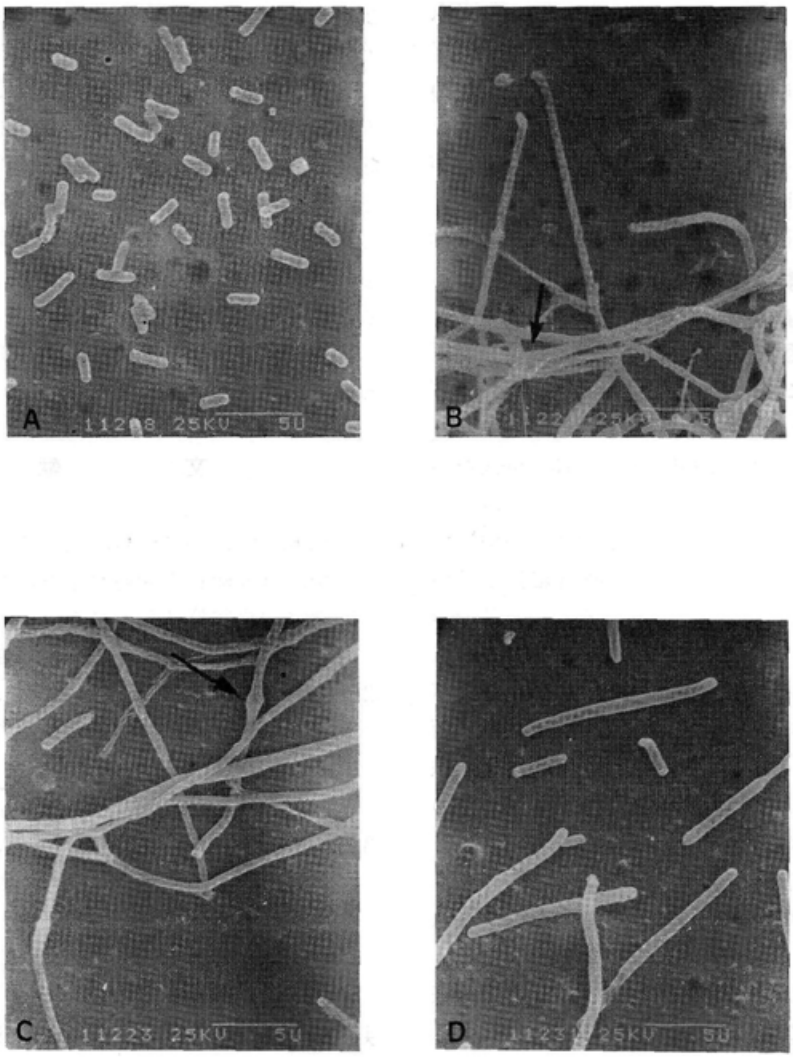


Fig. 10
Scanning electron microscopical findings of *Escherichia coli* exposed to 0.1μg/ml (2 MIC) of OFLX, CTM and LMOX
A; Control, B; CTM, C; LMOX, D; OFLX. X 4,000
Arrow indicates a buldging of cell wall.

Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Pseudomonus aeruginosa に対しOFLXは圧倒的に強い抗菌力を示しており，諸家の報告とほぼ同様であった[5)6)]．即ち，沖縄県下で分離された臨床由来菌株のOFLXに対する感受性は，全国的な感受性パターンと一致するものであった．

OFLX, CTMおよびLMOXの大腸菌の増殖曲線におよぼす影響については，3薬剤とも2MICの濃度で殺菌的に作用したが，その度合いはOFLXが最も強かった．これを形態的にみる

と，3薬剤とも菌体の伸長を促進したが，OFLXでは伸長の程度が小さかった．菌体が伸長（フィラメント化）するということは異常発育であり，少なくとも生命活動が維持されていることを意味している．OFLXの存在下で菌の伸長が他のセフェムに比べて小さかったことは，それ以上菌体を伸長させることも出来ずに生命活動が停止した（溶菌）ものと考えられる．それは薬剤添加後にみられた生菌数の減少と一致するものである．OFLXによる菌体伸長の所見は西野ら[6]の報告にもみられる．彼らはMIC＝0.05μg/mlの *Escherichia coli* KC-14株を用い，0.006～0.05μg/mlのOFLXで菌体の伸長をみているが，4 MIC（0.2μg/ml）において，菌の伸長は認められず，そのまま溶菌像が観察されたとしている．今回の観察は形態を維持している菌を遠心で集めてみたものであり，大部分の菌は既に溶菌していたものと考えられる．OFLXの細菌に対する作用機序はDNA gyraseの阻害だと言われているが，MIC前後の薬剤濃度で菌体の伸長がみられたということは，超薄切片像で菌体内部をみない限り断定できないが，その濃度において隔壁の形成が阻害されるということであろう．SEM所見で菌体の所々に膨隆がみられたのは隔壁形成成分の蓄積したものかもしれない．

我々は沖縄県下において分離された臨床由来株のOFLXに対する感受性パターンを，第2，3世代Cephemに対するそれと比較しながらみてきたが，OFLXの抗菌力の強さとともに注目すべき点は，1）ほとんどの薬剤が無効である *Streptococcus faecalis* に対してAmpicillin, Amoxicillinに迫る抗菌力を有していたこと，2）緑膿菌に対してはGentamycinに優る抗菌力を有していたこと，3）高度耐性菌が検出されなかったことなどがあげられる．高度耐性菌がみられなかったことは，第3世代Cephemが使用されてまもなく耐性菌が出現しだしたのと比べて対照的であった．

しかしながら，使用菌株が7菌種500株とパラメーターがやや少く，OFLXの使用頻度や使用年数の経過などを考慮すると，薬剤感受性の監視は今後とも怠ることなく続ける必要があるだろう．

いずれにしてもOFLXは極めて広範囲に優れた抗菌力を有し，内服後体内では血，尿，胆汁，喀痰，組織中などで高濃度に移行する[7~11]．しかし今回得られた結果としての抗菌力は，あくまでもin vitroにおいて得た結果であり，実際の臨床的有効性は各症例の治験によって判定されることはいうまでもない．

稿を終わるに当って菌株収集に努力して下さった諸氏に感謝の意を表わします．

文　　献

1）岩永正明，仲宗根昇，山本耕一郎，仲宗根勇，外間政哲：沖縄県地方における臨床分離菌の化学療法剤感受性について
Chemotherapy 33：305-315, 1985.

2）田中　寛，川合礼子，汐見敬子，岩永正明，小張一峰：各種抗生剤の抗菌力―最近の傾向
Chemotherapy 26：181-187, 1978

3）武部和夫，中村光男，遅野井健，岡本勝博，高橋修一，高橋英子，川村加寿子，吉田秀一郎，松橋昭夫，貴田岡正史，村上誠一：DL-8280の臨床的検討
Chemotherapy 32 (S-1)：163-172, 1984

4）MIC測定法改訂委員会：最小発育阻止濃度（MIC）測定法再改訂について
Chemotherapy 29：76-79, 1981

5）小酒井望，小栗豊子：最近臨床材料から分離した細菌類に対するDL-8280の抗菌力について
Chemotherapy 32 (S-1)：13-21, 1984

6）西野武志，田中真由美，河端繁勝，薮千晶，山中邦俊，谷野輝雄：新しい合成化学療法剤DL-8280に関する細菌学的評価
Chemotherapy 32 (S-1)：62-83, 1984

7）一原規方，立澤晴男，津村光義，采孟，佐藤敬喜：DL-8280の第一相臨床試験
Chemotherapy 32 (S-1)：118-149, 1984

8）斎藤篤，嶋田甚五郎，大森雅久，柴孝也，

山路武久，井原裕宣，加地正伸，奥田新一郎，三枝幹文，宮原正，上田泰：DL-8280に関する臨床的研究
Chemotherapy 32 (S-1)：225-238, 1984

9）谷村弘，小林展章，稲本俊，加藤仁司，斎藤徹，佐藤友信，関谷司，黄文芳，吉田圭介，高橋裕，日笠頼則，邊見公雄，坂井義治，端野博康，頼文夫，片岡三郎，丸山泉，磯部善成，佐藤剛平，松本浩生，大谷博，長嶺慎一，猪飼伊知夫，瀬戸山元一，向原純雄、北角泰人，尹光俊，岡本美穂二，安富徹，村山保雄，橋本欣也，大隈喜代志，丸山啓介，安芸敏彦，田村尚史，安本裕，竹中正文，羽白洸，井上章，阿曽沼克弘：胆道感染症の化学療法(XXI)-DL-8280の胆汁中移行，胆嚢組織内濃度および臨床効果—
Chemotherapy 32 (S-1)：865-884, 1984

10）山口恵三，中里博子，古賀宏延，渡辺講一，富田弘志，田中光，河野茂，伊藤直美，藤田紀代，重野芳輝，鈴山洋司，斉藤厚，原耕平，菅原和行，松瀬真寿美，賀来満夫，林愛，餅田親子，臼井敏明，池辺璋，中野正心，岡六四，奥野一裕，藤原恒夫，蔡正夫，大曲春次：DL-8280の基礎的研究と呼吸器感染症における臨床的評価
Chemotherapy 32 (S-1)：487-508, 1984

11）岡崎治，倉田忠司，橋本浩一，須藤賢一，津村光義，立澤晴男：DL-8280の体内動態，第2報，C^{14}-DL-8280の各種動物における吸収，分布，排泄，
Chemotherapy 32 (S-1)：1185-1202, 1984

Comparative study on antibacterial activity of ofloxacin, cefotiam and latamoxef against isolates from clinical specimens in Okinawa

Noboru Nakasone, Naomi Higa, Masaaki Iwanaga
*Isamu Nakasone, Shinko Taira, Seitetsu Hokama

Department of Bacteriology, School of medicine University of the Ryukyus
*Department of Clinical Laboratory Ryukyu University Hospital
Running title : Antibacterial activity of ofloxacin, cefotiam and latamoxef

Key word : MIC, OFLX, CTM, LMOX

Abstract

Antibacterial activity of ofloxacin as compared with that of cefotiam and latamoxef was determined on 500 isolates from clinical specimens. No bacterial species revealed higher sensitivity to CTM and LMOX than OFLX. In 5 species out of 7 (*Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Escherichia coli, Enterobacter* spp., and *Pseudomonus aeruginosa*), OFLX was definitely superior to the other 2 cephem drugs. In *Serratia marcescens*, OFLX and LMOX showed almost the same activity, and CTM was far inferior. In *Klebsiella* species, all 3 drugs revealed almost the same antimicrobial activity. The most potent bactericidal activity was seen in OFLX. Morphological alteration characterized by elongation of bacteria was observed after the treatment with each drug.