Ofloxacin および Ciprofloxacin の耐性に関する臨床的研究

琉球大学保健管理センター

中 富 昌 夫

コロンビア大学内科

Harold C. Neu

(昭和62年2月25日受付)

(昭和62年5月7日受理)

Key words : New quinolone, Cystic fibrosis, Cross resistance

要 旨

呼吸器感染症に Ofloxacin (OFLX) および Ciprofloxacin (CPFX) を単独または他剤 (CAZ, TOB, AZPC) と併用投与した場合の起炎菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を測定し, 耐性化および交叉耐性に関し検討した。

対象症例は cystic fibrosis 11例, 慢性気道炎 2例および気管支肺炎 1例であった。喀痰分離菌は mucoid 型緑膿菌13株, rough 型 6株, *P. maltophilia*, *S. liquefaciens* および *K. oxytoca* の各1株であった。

MIC 測定には Mueller Hinton 寒天培地を用い, MIC 値は10集落の平均値で示した。MIC 値の4倍以上の上昇を有意と判定した。

OFLX 投与例は6例で, 2例(症例2, 4)の緑膿菌に対する OFLX の MIC 上昇が認められ, 同時に CPFX の MIC も上昇した。他の1例では OFLX の MIC は不変であったが, CPFX の MIC が上昇した。症例13の *S. liquefaciens* と *K. oxytoca* に対して OFLX の MIC 上昇に連れて CPFX の MIC も上昇した。

CPFX 単独投与2例, 他剤併用6例の計8例であった。

症例6の mucoid 型緑膿菌に対し CPFX の MIC が上昇し, OFLX も上昇した。症例14では mucoid および rough 型緑膿菌の MIC の上昇と同時に OFLX の MIC も上昇した。

交叉耐性の出現が認められたが, 高度耐性化は見られなかった。

序 文

ピリドンカルボン酸系抗菌剤は1962年に Nalidixic acid (NA) が発表されて, 1970年代前半には Pipemidic acid (PPA), Miloxacin (MLX) などが開発された。しかし, これらの薬剤の抗菌力は大腸菌, 赤痢菌などのグラム陰性桿菌に対するものであり, 従って主に尿路および腸管感染症に使用されている。

1970年代後半から1980年にかけて, これまでの本系統の基本骨格にフッ素原子 (F) とピペラジニ

ル基を導入した, いわゆるニューキノロンが開発されるに至り, その抗菌スペクトラムは緑膿菌を含むグラム陰性桿菌, 黄色ブドウ球菌, 肺炎球菌などのグラム陽性球菌にまで拡大された¹⁾²⁾。また組織内移行性の改良³⁾によって経口投与でもある程度重症の感染症を治療出来るようになった。

ニューキノロンの Norfloxacin (NFLX), Ofloxacin (OFLX), Enoxacin (ENX) のわが国での臨床導入前後における耐性菌発現に関する検討では高度耐性菌の頻度は少ないと報告されている⁴⁾。

今回, 我々は呼吸器感染症に OFLX および Cipro-

floxacin (CPFX) を単独または他剤と併用投与した場合、起炎菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)を測定し、耐性化および交叉耐性を検討したので報告する。

材料と方法

1. 対象症例

1985年9月から1986年6月の10カ月間にニューヨーク・コロンビア大学病院外来または入院の延べ14例の呼吸器感染症で検討した。その内訳はTable 1に一括して示した様に、Cystic fibrosis⁵⁾⁶⁾(CF)11例、慢性気道炎2例および気管支肺炎1例であった。

年齢は7～37歳、男子5名、女子8名(症例12と14は同一人)であった。喀痰分離菌はmucoidコロニー緑膿菌13株、roughコロニー緑膿菌6株、*P. maltophilia*, *S. liquefaciens*, *K. oxytoca*の各1株であった。これらの菌が単独または複数で分離された。

抗菌剤の投与量はOFLX 750mg, 2～3回/日、CPFX 750mg, 2～3回/日、TOB 2mg/kg, 3回/日、CAZ 2g, 3回/日およびAZPC 3g, 4回/日で、原則として14日投与とした。

2. 喀痰内細菌数の測定

抗菌剤治療前、中および後の喀痰内生菌数を計算した。使用培地はPseudosel agar, BTB寒天, チョコレート寒天, 血液寒天培地およびMacConkey寒天培地で、滅菌プラスチック容器に採取された喀痰を、予め10倍に希釈したsputalysinで液化後、滅菌生食水で 10^4 倍まで段階希釈し、その0.1mlをコンラージ棒を用いて接種した。37℃, 24～48時間培養後菌数を計算した。

3. 起炎菌の薬剤感受性試験

抗菌剤治療前、中および後の起炎菌に対する使用薬剤および対照薬(OFLX使用の場合はCPFX, CPFXの場合はOFLX)のMICを測定した。

菌数計算に使用した寒天培地から無作為に、原則として10コロニーを釣菌し、直接Mueller Hinton broth (MHB)に接種し、37℃一夜培養した。Mueller Hinton寒天培地(MHA)による寒天平板法で、接種菌量を 10^5 になる様に調整し、MICを測定した。薬剤濃度は128, 64, 32, 16, 8, 4, 2,

1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06, および0.03 μ g/mlであった。

4. OFLX および CPFX の喀痰内濃度

OFLX および CPFX が単独で投与された場合にはAgar well法で喀痰内薬剤濃度を測定した。

No. 5寒天(Difco) 8.9gを蒸溜水350mlに溶解し、121℃15分滅菌後、45℃に冷却し、予めMHBで37℃一夜培養の検定菌*K. pneumoniae* ATCC 13883 2.5mlを添加した。14×14インチスチールフレームとガラス板で作製した容器に流し込み、直径8mm、深さ3.6mmのWellを作製した。

菌数計算使用後の喀痰0.1mlを接種し、37℃, 18～20時間培養後、阻止円の直径を測定した。標準曲線はリン酸緩衝液(pH 7.0, 0.05M)を用いて作製した。

成 績

MICはその平均値で示した。抗菌剤投与後の値が4倍またはそれ以上に上昇した場合を有意と判定した。

1. OFLX 投与症例について

OFLXで治療された症例は6例(症例1, 2, 3, 4, 12および13)であった。

症例2ではOFLXの緑膿菌に対する投与前のMICは2 μ g/mlで、投与後は8 μ g/mlと4倍の上昇が認められた。それに連れて1 μ g/mlであったCPFXのMICは4 μ g/mlと4倍上昇した。症例4ではOFLXのMICは1から6.2 μ g/mlと上昇し、CPFXは0.25から2 μ g/mlへ4倍以上の上昇が認められた。

症例12ではOFLXのMICは一定であったが、CPFXは0.125から0.5 μ g/mlへ4倍上昇した。症例13では喀痰から*S. liquefaciens*と*K. oxytoca*が分離され、これらの菌に対するOFLXのMICはいずれも当初0.06 μ g/ml以下であったが、投与後は2 μ g/mlと上昇した。それに連れてCPFXのMICも0.125から4 μ g/ml, 0.06から1 μ g/mlへと上昇が認められた。

2. CPFX 投与症例について

CPFX単独で投与されたのは2例(症例11および14)、他剤との併用は6例(症例5, 6, 7, 8, 9および10)であった。

Table 1 Patients with pulmonary infections investigated

Case No	Age & Sex	Diagnosis	Drugs administered	MIC(μ g/ml) Initial $\rightarrow$ End	Organisms	Viable counts Initial $\rightarrow$ End	Cross Resistance (MIC) Initial $\rightarrow$ End	Clinical effect
1	19F	CF	OFLX (3.7)	OFLX 0.5 $\rightarrow$ 0.5	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$2 \times 10^7 \rightarrow 6.6 \times 10^8$	CPFX 0.5 $\rightarrow$ 0.25	Poor
2	20F	CF	OFLX (5.8)	OFLX 2 $\rightarrow$ 8	<i>P. aeruginosa</i> (R)	$2.3 \times 10^8 \rightarrow 5.6 \times 10^7$	CPFX 1 $\rightarrow$ 4	Poor
3	23M	CF	OFLX (5.2)	OFLX 2 $\rightarrow$ ≤ 0.03	<i>P. aeruginosa</i> (M ₁)	$1.2 \times 10^8 \rightarrow 6.8 \times 10^8$	CPFX 2 $\rightarrow$ ≤ 0.06	Good
				OFLX 1 $\rightarrow$ 1	<i>P. aeruginosa</i> (M ₂)	$1 \times 10^7 \rightarrow 8 \times 10^4$	CPFX 2 $\rightarrow$ 2	
4	29M	CF	OFLX (4)	OFLX 1 $\rightarrow$ 6.2	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$9.6 \times 10^8 \rightarrow 2.2 \times 10^8$	CPFX 0.25 $\rightarrow$ 2	Good
5	20F	CF	CPFX + CAZ	CPFX 1 $\rightarrow$ 1.8	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$2.2 \times 10^8 \rightarrow 1.8 \times 10^7$	OFLX 8 $\rightarrow$ 8	Good
				CPFX 2.9 $\rightarrow$ 3.2	<i>P. aeruginosa</i> (R)	$6.1 \times 10^8 \rightarrow 6 \times 10^8$	OFLX > 16 $\rightarrow$ > 16	
6	36F	CF	CPFX + TOB	CPFX 4 $\rightarrow$ 4	<i>P. aeruginosa</i> (M ₁)	$2.7 \times 10^8 \rightarrow 9 \times 10^7$	OFLX 16 $\rightarrow$ 4	Good
				CPFX 1 $\rightarrow$ 4	<i>P. aeruginosa</i> (M ₂)	$6.6 \times 10^7 \rightarrow 6 \times 10^4$	OFLX 4 $\rightarrow$ 16	
7	37M	CF	CPFX + TOB	CPFX 1.1 $\rightarrow$ 2.5	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$6 \times 10^8 \rightarrow 7.6 \times 10^7$	OFLX 6.6 $\rightarrow$ > 10.1	Good
8	7M	CF	CPFX + AZPC	CPFX 0.5 $\rightarrow$ 0.3	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$2 \times 10^7 \rightarrow 1.5 \times 10^8$	OFLX 4 $\rightarrow$ 2.7	Excellent
				CPFX 0.6 $\rightarrow$ 0.06	<i>P. aeruginosa</i> (R)	$2 \times 10^8 \rightarrow < 10^8$	OFLX 4.8 $\rightarrow$ 1	
9	21F	CF	CPFX + CAZ	CPFX > 0.5 $\rightarrow$ 0.9	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$1.7 \times 10^7 \rightarrow < 10^8$	OFLX 4.8 $\rightarrow$ 7.3	Good
				CPFX 1.5 $\rightarrow$ 0.9	<i>P. aeruginosa</i> (R)	$1.6 \times 10^7 \rightarrow 4.2 \times 10^8$	OFLX 12.8 $\rightarrow$ 7.2	
10	29F	CF	CPFX + TOB	CPFX 2 $\rightarrow$ 2.5	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$8 \times 10^8 \rightarrow 4 \times 10^8$	OFLX 13.7 $\rightarrow$ 11.6	Good
11	9F	CF	CPFX (2.1)	CPFX 0.3 $\rightarrow$ 0.3	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$2.7 \times 10^8 \rightarrow < 4 \times 10^8$	OFLX 1.8 $\rightarrow$ 1	Good
				CPFX > 16 $\rightarrow$ > 16	<i>P. maltophilia</i>	$3 \times 10^8 \rightarrow 9.6 \times 10^8$	OFLX > 16 $\rightarrow$ > 16	
12*	20F	CRTI	OFLX (0.5)	OFLX 0.5 $\rightarrow$ 0.5	<i>P. aeruginosa</i> (R)	$2.4 \times 10^7 \rightarrow 1.8 \times 10^7$	CPFX 0.125 $\rightarrow$ 0.5	Fair
13**	37M	Pneumonia	OFLX (5.2)	OFLX ≤ 0.06 $\rightarrow$ 2	<i>S. liquefaciens</i>	$1.3 \times 10^8 \rightarrow 2.3 \times 10^8$	CPFX 0.125 $\rightarrow$ 4	Good
				OFLX ≤ 0.06 $\rightarrow$ 2	<i>K. oxytoca</i>	$4.6 \times 10^4 \rightarrow 8 \times 10^4$	CPFX ≤ 0.06 $\rightarrow$ 1	
14	20F	CRTI	CPFX (3.6)	CPFX 0.25 $\rightarrow$ 1.9	<i>P. aeruginosa</i> (M)	$2.9 \times 10^8 \rightarrow 7.2 \times 10^7$	OFLX 1 $\rightarrow$ 7.6	Fair
				CPFX 0.2 $\rightarrow$ 2	<i>P. aeruginosa</i> (R)	$9.5 \times 10^8 \rightarrow 5 \times 10^4$	OFLX 1 $\rightarrow$ 16	

CF : Cystic fibrosis

M : Mucoid colony

R : Rough colony

() : Peak sputum level(μ g/ml)

*Hypogammaglobulinemia

**On respirator, spinal cord injury

No 12 and No 14 are same Patients

CRTI : Chronic Respiratory Tract Infection

症例6より分離された mucoid 型緑膿菌に対する CPFX の MIC は 1 から $4\mu\text{g/ml}$ と上昇し、それにつれて OFLX の MIC は 4 から $16\mu\text{g/ml}$ へ上昇した。症例14の慢性気道炎では mucoid および rough 型緑膿菌に対する CPFX の MIC は、それぞれ 0.25 から $1.9\mu\text{g/ml}$, 0.2 から $2\mu\text{g/ml}$ へと上昇し、OFLX の MIC も 1 から $7.6\mu\text{g/ml}$, 1 から $16\mu\text{g/ml}$ へと上昇した。

3. OFLX および CPFX の喀痰内移行

OFLX および CPFX の最高喀痰内移行濃度を Table 1 の () 内に示した。OFLX は $0.5\sim 5.8\mu\text{g/ml}$, CPFX は $2.1\mu\text{g/ml}$ と $3.6\mu\text{g/ml}$ であった。

症例呈示

次に症例を 3 例呈示する。

症例 8 P.S. 7 歳男子。

診断：慢性気道炎 (Cystic fibrosis)。

主訴：咳嗽・喀痰，呼吸困難。

現病歴：幼小時より Cystic fibrosis と診断され，咳嗽・喀痰，呼吸困難が増強するためコロンビア大小児病院に入院した。喀痰から mucoid 型緑膿菌 $2.9 \times 10^8/\text{ml}$, rough 型 $1.4 \times 10^8/\text{ml}$ が検出され，CAZ と TOB で治療されたが著明な改善は認められず，Fig. 1 下段に示すように良好な抗菌力の CPFX と AZPC の併用に変更したところ，4 日目から両菌株は除菌され，喀痰膿性度も改善し，4 月 4 日に軽快退院した。

Fig. 1 Case No. 8 Dx Cystic Fibrosis. P. Scannell 7 y.o. M

(): No. of colonies tested

Fig. 3 Case No. 13 Dx Bronchopneumonia (Spinal cord injury), J. Valenzuela
37 y.o. M

考 察

最近、ニューキノロンの発展はめざましく、新しい製剤が次々と開発され、優れた臨床成績が報告されている。

本系統に対する臨床分離株の耐性化についての研究によれば高度耐性は認められないと言われている⁴⁾。

今回、我々は常染色体劣性遺伝病で白人に多発し、難治性緑膿菌性慢性気道炎がその予後を左右する cystic fibrosis^{5)~7)}の11例、難治性肺炎および慢性気道炎の各1例の計13例について、OFLX および CPFX 投与前後における MIC の変動、対照薬に対する交叉耐性の発現などを検討した。

OFLXが投与された緑膿菌6株、*S. liquefaciens*

1株および *K. oxytoca* 1株の中で、緑膿菌2株、*S. liquefaciens* および *K. oxytoca* に対する MIC が有意に上昇し、それにつれて CPFX の MIC も有意に上昇した。いわゆる交叉耐性が認められた。OFLX の MIC は不変であった1例でも CPFX の緑膿菌に対する MIC が有意に上昇した。

一方、CPFX が投与された緑膿菌13株および *P. maltophilia* 1株では CPFX の MIC が有意に上昇したのは緑膿菌3株に認められ、それにつれて OFLX の MIC も上昇し、交叉耐性が認められた。

しかし、高度耐性株の出現は認められず、最高 OFLX 16 μ g/ml、CPFX 7.6 μ g/ml の MIC であった。我々の検討した気道感染症では喀痰内薬剤移行濃度は低く、高度耐性菌の出現も低頻度で

あったと考えられるので、移行濃度の高い尿路感染症での検討が待たれる。

文 献

- 1) 松本純一：ニューキノロンの構造と薬理—合成・構造活性。診断と治療，74：1316—1321，1986.
- 2) 佐藤謙一，三橋 進：ニューキノロンの構造と著理—キノロン系誘導体の作用機序。診断と治療，74：1322—1327，1986.
- 3) 斎藤 篤：ニューキノロンの構造と薬理—吸収・排泄・分布。診断と治療，74：1343—1347，1986.
- 4) 横田 健：ニューキノロンの構造と薬理—耐性。診断と治療，74：1338—1342，1986.
- 5) Matthews, L.W. & Drotar, D.: Cystic fibrosis—A challenging long-term chronic disease. Pediatric Clinics of North America, 31: 133—152, 1984.
- 6) Dolan, T.F.: Cystic fibrosis. Pediatric Annals, 15: 296—304, 1986.
- 7) Wilmott, R.W., Tyson, S.L. & Matthew, D.J.: Cystic fibrosis survival rates. A.J.D.C., 139: 669—671, 1985.

Clinical Study on Development of Resistance of Respiratory Bacterial Pathogens to Ofloxacin and Ciprofloxacin

Masao NAKATOMI

Health Care Administration Center, University of the Ryukyus, Japan

Harold C. NEU

College of Physicians and Surgeons of Columbia University, USA

Clinical study on development of resistance and cross resistance of respiratory pathogens to ofloxacin (OFLX) and ciprofloxacin (CPFX) was carried out in 11 patients with cystic fibrosis, 1 patient with chronic respiratory tract infection having congenital hypogammaglobulinemia and 1 patient with bronchopneumonia secondary to controlled respiration because of spinal cord injury.

Causative organisms isolated from the expectorated sputum were 13 strains of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, 6 of rough *P. aeruginosa* and each one of *P. maltophilia*, *Serratia liquefaciens* and *Klebsiella oxytoca*.

Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of OFLX and CPFX was performed by using agar plate method for 10 colonies of each isolate.

OFLX was administered to a total of 6 cases infected with *P. aeruginosa*. MICs of OFLX against *P. aeruginosa* increased 4 time or more in two cases in comparison with initial values and MICs of CPFX increased 4 times or more in same strains simultaneously.

In another case, MIC of OFLX was not changed, however MIC of COFX increased 4 times afterwards.

MICs of OFLX against *S. liquefaciens* and *K. oxytoca* in one case increased, MICs of CPFX against both strains also increased significantly. Two patients were treated with CPFX alone and 6 were treated with CPFX and other antibiotics in combination.

MIC of CPFX against mucoid *P. aeruginosa* in case No. 6 increased and MIC of OFLX against same strain increased. In case No. 14, both mucoid and rough *P. aeruginosa* became resistant to CPFX and OFLX after CPFX treatment.

It is considered that among new quinolones, cross resistance could be developed easily, however there is no strains which become highly resistant to both OFLX and CPFX.