

原 著

## ウサギ前房内接種型腸球菌眼内炎に対する ガチフロキサシンの結膜下注射および点眼の抑制効果

井 上 克 洋

横浜市立大学医学部眼科学

**要 旨**：正常ヒト結膜から分離した腸球菌 (*Enterococcus faecalis*) をウサギ前房内に接種して眼内炎モデル (1群7匹7眼) を作製し, 0.3%ガチフロキサシン (GFLX) の点眼及び結膜下注射を用いた眼内炎抑制効果を, 生理食塩液を対照として検討した. 点眼は腸球菌前房内接種30分前, 直後及び1時間後, 翌日からは4時間間隔にて1日3回3日間投与した. 一方, 結膜下注射は腸球菌前房内接種直後に一回だけおこない前房混濁のスコア及び眼内の生菌数を比較検討した. 接種24時間後からみられた前房混濁を, GFLX 点眼および結膜下注射は同等にすべての観察時点で生理食塩液に比較して有意に抑制した. また生理食塩液点眼群および結膜下注射群では7眼のうち4眼ずつで房水から細菌が検出されたが, GFLX 点眼群および結膜下注射群ではそれぞれ1眼からも検出されなかった. 以上の結果から, GFLX の点眼および結膜下注射は術後眼内炎の発症抑制に有効であると考えられ, 方法としての結膜下注射は周術期感染予防のための抗菌薬使用法の一つの選択肢となりうることが示唆された.

**Key words**: ガチフロキサシン (gatifloxacin), 結膜下注射, 腸球菌, 術後眼内炎, 実験モデル

### 緒 言

日本において現在, 白内障手術の術式は確立されたといっても過言ではなく多くの症例で患者様方のご満足をいただいている. しかしながら細菌性の術後眼内炎は約0.07%から0.1%の頻度で発症し最悪の場合失明にいたる. この術後眼内炎は外眼部に常在する菌が, 手術中に眼内に侵入することが主たる原因であり, 主要な起原菌としては CNS, MRSA を含むブドウ球菌, 腸球菌などが知られている<sup>1)2)3)</sup>. その中でも腸球菌が原因菌である術後眼内炎は早期発症で急速に進行し予後不良である<sup>4)</sup>. 術野の完全な除菌と無菌操作は困難である. そこで外眼部に常在する菌に対する優れた細菌学的効果を持った薬剤を用いた術前の滅菌, および周術期の薬剤局所投与が術後眼内炎の発症抑制に有効であると考えられている. 現在のところ術前には0.3%オフロキサシン眼軟膏 (タリビット®眼軟膏) の点入あるいは塩酸セフメノキシム点眼液 (ベストロン®) の点眼を2ないし3日

間行い, 結膜囊内の細菌を減らすことが眼感染症学会においても推奨されており<sup>5)</sup>, 最近では0.3%オフロキサシン点眼液 (タリビット®点眼液) や0.5%レボフロキサシン (LVFX) 点眼液 (クラビット®点眼液) も多く使われている. また, 周術期に同様な薬剤で滅菌を維持することが日常的に行われている. しかしながら, これらフルオロキノロン系点眼薬もしくはセフェム系点眼薬は連鎖球菌の近属である腸球菌属に属する腸球菌に対する感受性において, セフェム系抗菌薬は低く, 従来のフルオロキノロン系抗菌薬も高くはない. さらに, 指示通りに薬剤を使用すれば効果が得られるとしても, 眼の手術を行った直後の高齢者に規則正しく正確に点眼していただくことを望むことは困難な場合がある. したがって, これらの方を対象にして周術期の滅菌を維持するために, 点眼以外の薬剤使用法も望まれている.

そこで今回我々は, 従来キノロン系抗菌剤の弱点とされた連鎖球菌に対する抗菌力が増強され, 眼科臨床分離株において連鎖球菌属に対する抗菌力は LVFX の4倍

と報告されている第4世代のキノロン剤であるガチフロキサシン (GFLX) の効果を、ウサギの前房内に腸球菌を接種し発症させた眼内炎モデルを用いてその使用法を検討した。薬剤の使用法としては実際の白内障手術術前に一般的に用いられている術前からの点眼に加え、点眼のコンプライアンスが良くない方に有用であると考えられる術後一回だけの結膜下注射を用い、両使用法の比較検討をおこなった。

## 材料および方法

### A 使用薬剤

0.3%GFLX 点眼液 (千寿製薬, 日本) および生理食塩液には大塚生食注 (大塚製薬, 日本) を使用した。

### B 実験動物

日本白色種雄性ウサギ28匹 (体重約2.5kg, 北山ラベス, 日本) を使用し, 感染実験施設にて, 室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , 湿度 $55 \pm 5\%$ , 1ケージ当たり1匹で飼育した。生理食塩液点眼群7匹, GFLX 点眼群7匹, 生理食塩液結膜下注射群7匹, GFLX 結膜下注射群7匹に振り分け, 各ウサギの右眼を接種眼とした。

### C 使用菌種

非感染結膜囊から常在菌として分離した腸球菌 *E. faecalis* を用いた。この腸球菌をブレインハートインフュージョン培地 (BECTON DICKINSON, USA) にて18時間培養し比濁法で菌濃度を算出, 終濃度 $2.0 \times 10^8$  CFU/ml に希釈調整した。寒天平板培養法で確認した最終菌濃度は $2.3 \times 10^8$  CFU/ml であった。

### D 菌接種方法

塩酸ケタミン (ケタラール, 三共, 日本) 塩酸メドミジン (ドミツール, 明治製菓, 日本) の等量混合液1.4 ml を筋肉内注射麻酔後に角膜輪部で経角膜的に前房水を0.1ml 除去し, 前述の菌懸濁液0.05ml を前房内に接種した。したがって, 前房内に接種した菌量は一眼あたり $1.1 \times 10^8$  CFU であった。

### E 点眼方法 (生理食塩液点眼群, GFLX 点眼群)

0.3%GFLX 点眼液又は, 生理食塩液をマイクロピペットで50 $\mu$ l 右眼結膜囊内に点眼した。接種当日は腸球菌前房内接種の30分前, 接種直後, 1時間後に, 接種翌日 (2日目), 3日目, 4日目は4時間ごとに1日3回点眼した。

### F 結膜下注射方法 (GFLX 結膜下注射群, 生理食塩液結膜下注射群)

腸球菌前房内接種直後に生理食塩液または0.3%

GFLX の0.5ml を1回のみ30G 針を用いて結膜下注射した。

### G 前房混濁程度の評価を用いた眼内炎のスコアリング方法

手持ち式細隙灯顕微鏡 (SL-14, 興和株式会社, 日本) を用いて接種後24時間, 48時間, 72時間, および96時間目に眼内炎の評価を下記のスコアリング法に基づく前房混濁の程度で判定した。

#### ・眼内炎のスコアリング

スコア0: 浸出物無し

スコア1: 浸出物が1象限分

スコア2: 浸出物が2象限分

スコア3: 浸出物が3象限分

スコア4: 浸出物が4象限分

スコア5: 浸出物が4象限分に広がり, 瞳孔の透見不可能

### H 眼内生菌数の測定方法

接種96時間目に塩酸ケタミン (ケタラール, 三共, 日本) 塩酸メドミジン (ドミツール, 明治製菓, 日本) の等量混合液1.4ml を筋肉内注射, 麻酔下の安楽死の後, 前房内の生菌数を測定した。全前房水に前房内の浸出物や蓄膿を加え, さらに滅菌生理食塩液を加えて全量を1 ml とした。各液を200xg で5分間遠心後上清を回収, その上清を適宜希釈後にエンテロコッコセル寒天培地 (BECTON DICKINSON, USA) に0.05ml 接種し24時間培養後に発育したコロニー数をカウントした。生菌数は前房全容積あたりに換算し算出した。

#### 1 統計解析

各群間の比較には Mann-Whitney's U test 検定を用い危険率5%未満を有意差ありとした。

## 結果

### A 眼内炎のスコアリング (表1, 図1, 図2)

#### 1 生理食塩液点眼群

24時間後のスコアは $2.9 \pm 0.9$  (平均値 $\pm$ 標準偏差), 48時間後は $4.0 \pm 1.0$ , 72時間後は $3.9 \pm 0.9$ , 96時間後は $3.9 \pm 0.9$ であった。

#### 2 GFLX 点眼群

24時間後のスコアが $0.9 \pm 0.7$ , 48時間後は $0.7 \pm 0.8$ , 72時間後は $0.7 \pm 0.8$ , 96時間後は $0.4 \pm 0.3$ であり, 生理食塩液点眼群に比べて有意な眼内炎の抑制効果を認めた。

#### 3 生理食塩液結膜下注射群

24時間後のスコアは $2.5 \pm 0.8$ , 48時間後は $4.0 \pm 0.6$ , 72時間後は $3.4 \pm 0.8$ , 96時間後は $3.6 \pm 0.8$ で

表1 生理食塩液点眼, GFLX 点眼, 生理食塩液結膜下注射, GFLX 結膜下注射群の眼内炎スコア分布

投与群	スコア	接種後時間 (時間)			
		24	48	72	96
生理食塩液点眼	5		2	1	1
	4	2	4	5	5
	3	2			
	2	3	1	1	1
	1				
	0				
点眼 GFLX	5				
	4				
	3				
	2	1	1	1	
	1	4	3	3	3
	0	2	3	3	4
結膜下注射生理食塩液	5		1		
	4		5	4	5
	3	4	1	2	1
	2	2		1	1
	1	1			
	0				
結膜下注射 GFLX	5				
	4				
	3				
	2			1	1
	1	5	3	2	2
	0	2	4	4	4

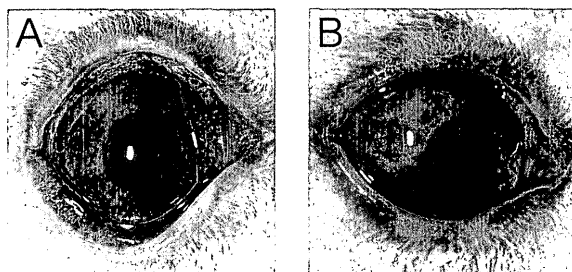


図1 ウサギ前房内接種型腸球菌眼内炎典型例における前眼部写真。

A:スコア0 (前房内に滲出物は認められない), B:スコア3 (前房内の浸出物が3象限に及ぶ)

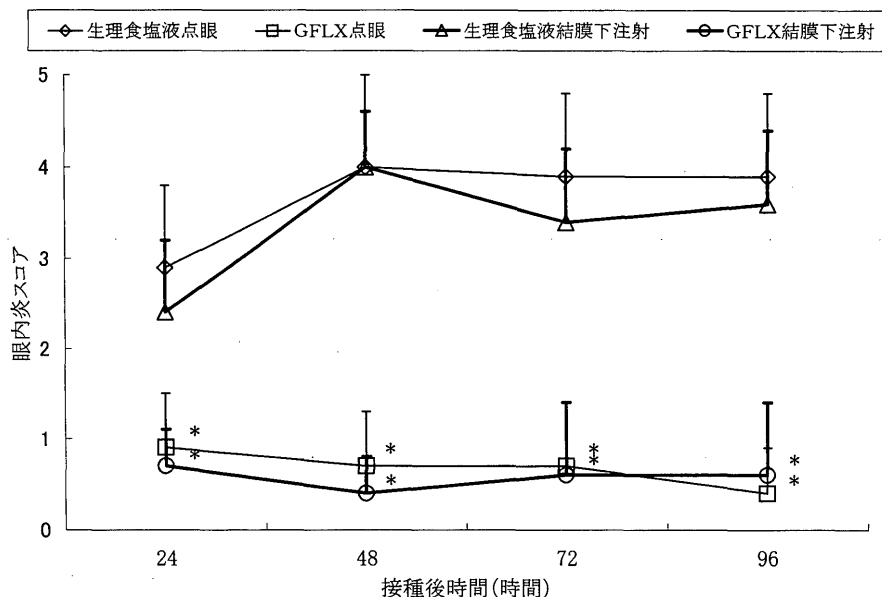


図2 ウサギ眼内炎モデルに対する, GFLX の点眼および結膜下注射を用いた炎症抑制効果

接種24時間以降, GFLX 結膜下注射群では GFLX 点眼群と同様に生理食塩液使用群に対して有意に眼内炎のスコアは軽減した. \*: P<0.05 (Mann-Whitney's U test)



与によって、フルオロキノロン系点眼薬とセフェム系点眼薬を用いているが、上記の *E. faecalis* に対する感受性から考えると、より細菌学的効果（感受性と前房内移行）の良好な抗菌点眼薬が望まれる。

一方 GFLX はキノロン骨格の 8 位にメトキシ基を導入した新規構造のフルオロキノロン系抗菌薬で、従来のフルオロキノロン系抗菌点眼薬の弱点であった連鎖球菌に対する抗菌力が增強されている。他のグラム陽性菌をはじめ広範囲の細菌に強力な抗菌活性を有することから第 4 世代のキノロン剤と呼ばれている。GFLX は眼科臨床分離株 *E. faecalis* に対して、 $0.78\mu\text{g/ml}$  以下で全ての株の発育を阻止するという優れた抗菌力を示している<sup>9)</sup>。また眼内移行性の指標である房水内最高濃度値 (maximum aqueous concentration: AQCmax) は  $2.30\mu\text{g/ml}$  と高い値を示し<sup>10)</sup>、前房内の腸球菌を含む細菌に対する強い抗菌力が期待される。

今回の腸球菌前房内接種を用いた眼内炎モデルは、秦野らが作成した緑膿菌を用いた実験モデル<sup>11)</sup><sup>12)</sup>を参照し、腸球菌の前房内接種量は和田らの報告をもとにして実施した<sup>13)</sup>。今回の実験では生理食塩液群で全例眼内炎を発症したのに対して、GFLX 投与の点眼群および結膜下注射群で、発症の予防あるいは眼内炎症状の軽減が可能であった。GFLX の前房内濃度は点眼投与 10 分後には  $0.89\mu\text{g/ml}$  に達し、30 分後に  $2.52\mu\text{g/ml}$ 、2 時間後に  $1.62\mu\text{g/ml}$ 、4 時間後に  $0.28\mu\text{g/ml}$  となることが知られており MIC 以上の濃度を 4 時間近く保つことが可能である。今回の実験では、接種前 30 分に点眼されているので、接種時には既に前房内に MIC を上回る濃度の GFLX が移行していたと推定された。そして接種翌日から 1 日 3 回 4 時間ごとに点眼をおこなうことで、より確実に抗菌力を示したと考えられた。白内障手術周術期の抗菌薬の点眼状況は殆どの施設で手術前約 2 時間の点眼と、手術翌日からの一定期間の点眼である。今回の点眼設定条件は白内障周術期の点眼方法に近く、臨床現場での実際の使用で、その有用性が期待される。

一方、結膜下注射では、今回接種直後に 1 回の注射をおこなっただけであったが 4 日間にわたる点眼と同等の効果がみられた。1 回の結膜下注射では接種翌日からは抗菌効果が減弱すると考えられ結果の正否は未知であった。今回の GFLX 結膜下注射の効果は接種直後の抗菌効果によるものと考えられた。臨床経験上、結膜下注射のほうが点眼の 1 回投与より、長時間にわたり高濃度の薬液が前房内に移行していると考えられるが、今後は GFLX の結膜下注射後の前房内濃度を実際に測定し本実験結果を裏づけていきたい。フルオロキノロン系抗菌薬の抗菌作用は濃度依存性であり、投与回数は減ずるものの 1 回投与量を高める結膜下注射は GFLX に適した投与方法の一つであると考えられた。GFLX の 1 回の結膜

下注射が 4 日間にわたる点眼と同等の抑制効果を示した結果の一因が、濃度依存性の抗菌作用にあると考えられた。したがって GFLX の結膜下注射は白内障手術後の眼内炎予防および眼内炎発症時、特に点眼指導をおこなうもののコンプライアンスが良くない患者さんにおいて有用であると考えられた。

今回の実験動物を使用した研究は、横浜市立大学医学部動物実験センターの課題番号 0482 で許可されたものである。

## 文 献

- 1) 秦野 寛, 井上克洋, 的場博子他: 日本の眼内炎の現状—発症動機と起炎菌. 日眼会誌, **95**: 369-376, 1991.
- 2) 原 二郎: 眼科手術と術後眼内炎—起炎菌の変遷と術後消毒の効果, 眼科手術, **11**: 159-164, 1998.
- 3) 原 二郎: 発症時期からみた白内障術後眼内炎の起炎菌—*Propionibacterium acnes* を主として—, あたらしい眼科, **21**: 657-660, 2003.
- 4) 清水直子, 清水公也: 白内障術後眼内炎の発症頻度と予防. 臨床眼科, **51**: 211-214, 1997.
- 5) 北野周作: 白内障手術, 戦略のたてかた—白内障術前無菌法. 眼科手術, **8**: 717-719, 1995.
- 6) 田中ともゑ, 和佐野利記子, 久富智郎, 山中一郎, 吉富文昭, 石橋達郎: マイボーム腺分泌物の細菌培養の結果. あたらしい眼科, **19**: 1609-1611, 2002.
- 7) 大橋秀行, 福田昌彦, 大鳥利文: 高齢者 1000 眼の結膜囊内常在菌. あたらしい眼科, **15**: 105-108, 1998.
- 8) 内山和久, 瀧藤克也, 山上裕機: 知っておくべき周術期管理—腸球菌感染症の現状とバンコマイシン耐性腸球菌感染症への対策. 外科, **64**: 1615-1621, 2002.
- 9) 宇野敏彦, 秦野 寛, 大橋裕一: ガチフロキサシンの眼科臨床分離株に対する抗菌力, あたらしい眼科, **21**: 1547-1553, 2004.
- 10) 福田正道, 高橋信夫: ガチフロキサシン点眼薬の家兎眼内移行動態—房水内最高濃度 (AQCmax) の測定. あたらしい眼科, **21**: 1109-1112, 2004.
- 11) 秦野 寛, 佐々木隆敏, 田中直彦: 緑膿菌性眼内炎の実験的研究. 日眼会誌, **92**: 1758-1764, 1988.
- 12) Hatano H, Inoue K, S Shia, W Liping: Application of topical lomefloxacin against experimental *Pseudomonas* endophthalmitis in rabbits. ACTA OPHTHALMOLOGICA, **71**: 666-670, 1993.
- 13) 和田智之, 榊秀之, 秦野 寛: ガチフロキサシン点眼液のウサギ前房内接種型腸球菌眼内炎に対する抑制効果. あたらしい眼科, **21**: 1525-1529, 2004.

**Abstract**

GATIFLOXACIN TREATMENT BY TOPICAL AND SUBCONJUNCTIVAL INJECTION AGAINST  
EXPERIMENTAL ENTEROCOCCUS FAECALIS ENDOPHTHALMITIS IN RABBITS

Katsuhiro INOUE

*Department of Ophthalmology, Yokohama City University School of Medicine.*

Two methods, eye drops and subconjunctival injection, of topical use of gatifloxacin were compared in a rabbit experimental endophthalmitis model. *Enterococcus faecalis* isolated from the normal human conjunctiva was inoculated into the rabbit anterior chamber to induce endophthalmitis. Test drugs were topically applied with eye drops 0.5 hours before inoculation, just after inoculation and at 1 hour after inoculation, then 3 times a day at 4-hour intervals for 3 subsequent days. In the case of subconjunctival injection, drugs were applied just after inoculation. Anterior chamber opacity and viable bacterial count in the aqueous humor were evaluated. Both methods significantly suppressed the inflammation at almost all the time points, in comparison with physiological saline. Viable bacteria were detected in the aqueous humor from 4 of 7 eyes receiving physiological saline, but non in the eyes treated with gatifloxacin. These results suggest that subconjunctival injection of gatifloxacin lowers endophthalmitis risk, as well as topical application with eye drops. Subconjunctival injection of gatifloxacin might be useful protect from post surgical endophthalmitis.