

OH THE FREQUENCY OF ISOLATION OF β - LACTAMASE PRODUCING BACTERIA IN OTORHINOLOGICAL INFECTIONS.

Hiroshi Orita¹⁾, Hitoshi Ogino²⁾, Minoru Ishida³⁾, Hiroaki Miyamoto⁴⁾
Toshiyuki Miyoshi⁵⁾, Junici Yoshida⁶⁾, Shinichi Okumura⁷⁾, Mitsuhiro Sano⁸⁾
Kunitoshi Yoshino⁹⁾, Masuaki Okada¹⁰⁾, Masato Ito¹¹⁾, Kazuhiko Goto¹²⁾
Masahiro Morita¹³⁾, Toru Matunaga¹⁴⁾

- 1) Kinan General Hospital
- 2) Otemae Hospital
- 3) Osaka Prefectural Hospital
- 4) Kansai Rosai Hospital
- 5) Minoh City Hospital
- 6) Osaka Teishin Hospital
- 7) Osaka Rosai Hospital
- 8) Tondabayashi Hospital
- 9) The Center for Adult Disease, Osaka
- 10) Osaka Police Hospital
- 11) Osaka Kaisei Hospital
- 12) Osaka Kousei-nenkin Hospital
- 13) Osaka Seemen's Insurance Hospital
- 14) Osaka University Hospital

β -lactamase production capacity of causative bacteria in otorhinological infections was examined by the β -check due to acidimetry disk method.

A total of 105 strains were isolated. They were 63 strains of gram-positive bacteria, 23 strains of gram-negative bacteria, and 19 strains of anaerobic bacteria. The rates of β -lactamase production were 34.9%, 34.8% and 0% respectively, and

28.6% in total.

MICs of Sulperazon[®] (SBT/CPZ) and CPZ were also measured in the present study and the effects of β -lactamase inhibitor on the antibacterial activity were examined. The study of the bacterial effect of combination SBT and CPZ demonstrated a marked synergistic activity against β -lactamase producing bacteria

耳鼻咽喉科領域感染症における β -ラクタマーゼ 産生菌の分離頻度について

折田 浩¹⁾ 萩野 仁²⁾ 石田 稔³⁾ 宮本 浩明⁴⁾
 三好 敏之⁵⁾ 吉田 淳一⁶⁾ 奥村 新一⁷⁾ 佐野 光仁⁸⁾
 吉野 邦俊⁹⁾ 岡田 益明¹⁰⁾ 伊東 真人¹¹⁾ 後藤 和彦¹²⁾
 守田 雅弘¹³⁾ 松永 亨¹⁴⁾

- 1) 社会保険紀南総合病院
- 2) 大手前病院
- 3) 大阪府立病院
- 4) 関西労災病院
- 5) 箕面市立病院
- 6) 大阪通信病院
- 7) 大阪労災病院
- 8) 富田林病院
- 9) 大阪府立成人病センター
- 10) 大阪警察病院
- 11) 大阪回生
- 12) 大阪厚生年金病院
- 13) 大阪船員保険病院
- 14) 大阪大学医学部附属病院

I. はじめに

近年、抗生物質の進歩は著しい反面、 β -ラクタマーゼを産生する耐性菌の増加や、嫌気性菌に対する対策など大きな問題が生じている。

今回、我々は耳鼻咽喉科領域感染症における検出菌の β -ラクタマーゼ産生能について、アシドメトリー法による β -checkを用いて検討した。さらにCephem系抗生剤Cefoperazone（以下CPZと略す）に β -ラクタマーゼ阻害剤Sulbactam（以下SBTと略す）を1:1に配合し、 β -ラクタマーゼ産生耐生菌に対して抗菌力を高めた複合抗生物質製剤の

Sulperazon®（以下SBT/CPZと略す）およびCPZに対する最小発育阻止濃度（MIC）を測定し、 β -ラクタマーゼ阻害剤が抗菌力に及ぼす影響について検討したので報告する。

II. 対象および方法

(1) 対象

対象は昭和63年12月より平成元年5月までの6ヶ月の間に、大阪大学附属病院耳鼻咽喉科の関連施設、計13施設（Table. 1）を受診した耳鼻咽喉科領域感染症で、対象患者は、Table. 2に示す如く、急性炎症31症例、慢性炎症55症例、計86症例である。

- Osaka University Hospital
- Osaka Prefectural Hospital
- Kansai Rosai Hospital
- Minoh City Hospital
- Osaka Teishin Hospital
- Osaka Rosai Hospital
- The Center for Adult Disease, Osaka
- Osaka Police Hospital
- Osaka Kaisei Hospital
- Osaka Kousei-nenkin Hospital
- Osaka Seemen's Insurance Hospital
- Tondabayashi Hospital
- Kinan General Hospital

Table.1 Participating Hospitals (13)

Group	Disease	No. of subjects
Acute inflammation	Otitis media	8
	Angina	16
	Others	7
	Sub total	31
Chronic inflammation	Otitis media	36
	Sinusitis	16
	Others	3
	Sub total	55
Total		86

Table.2 Subject Disease.

1.Measuring Method

- ① Disk of penicillin G (including pH indicator)+ Isolated bacteria
↓ Judgement after 5-15 min
Turn Yellow: Excessive penicillinase producing bacteria
- ② Disk of cefazolin (including pH indicator) + Isolated bacteria
↓
Turn Yellow: Excessive cephalosporinase producing bacteria
- ③ Disk loaded pH indicator only + Isolated bacteria
↓
Turn Yellow: Unevaluable

2. Meaning

- ① This method judges presence or absence of β -lactamase production in a short time such as 5-15 minutes.
- ② This method can judge presence or absence penicillinase and cephalosporinase simultaneously.
- ③ This method made it possible to select a drug which is stable to β -lactamase before results of sensitivity tests are turned out.

Fig.1 Detection of β -lactamase Acidimetry Disk Method

(2) β -ラクタマーゼ産生能の測定方法およびMIC (Fig. 1)

ファイザー製薬(株)新薬開発センター細菌研究室において、 β -ラクタマーゼ (ペニシリナーゼ/セファロスポリナーゼ) 産生能をアシドメトリーディスク法 (β -check) により測定した。同時に日本化学療法学会標準法によりSBT/CPZおよびCPZのMIC測定を行った。

なお今回検討した細菌学的検査では、全例に嫌気性菌の培養を施行し、分離された細菌は、常在菌と考えられるものでも評価の対象とした。

III. 結 果

(1) 感染部位別分離菌 (Table. 3)

分離菌陰性が18症例のため、68症例を単独菌感染と複数菌感染に区分し、耳、鼻、咽喉頭その他の感染部位別に分類した。耳感染症は、単独菌感染が26/38例68.4%で、グラム陽性菌、グラム陰性菌、嫌気性菌と多彩な検出菌から成り立っている。今回対象とした中耳炎疾患の大部分が慢性炎症の

	Isolated bacteria	Infection site						
		Ear	Nose	Pharynx and Larynx	Others	Total		
Infections by single pathogen	Aerobic bacteria	G(+)	<i>S.aureus</i>	13		1		14
			<i>S.epidermidis</i>		1		1	2
			<i>S.hominus</i>	1				1
			<i>S.pyogenes</i>			1		1
			<i>S.sanguis</i>		1	1		2
		<i>S.constellatus</i>				1	1	
		<i>S.mitis</i>		1			1	
		<i>Streptococcus MG.</i>			1		1	
		G(-)	<i>P.aeruginosa</i>	2	1			3
			<i>P.marabillis</i>	3				3
	<i>P.stuartii</i>		2				2	
	<i>A.xylosoxidans</i>		1				1	
	An-aerobic bacteria		<i>Propionibacterium acnes</i>	3	1		1	5
G(+)	<i>Peptostreptococcus micros</i>	1				1		
<i>Lactobacillus spp.</i>			1		1			
Sub total		26	5	5	3	39		
Infections by multiple pathogens	G(+)+G(+)	5	3	2		10		
	G(-)+G(-)	2	2			4		
	G(+)+G(-)	3		1		4		
	G(+)+Anaerobic bacteria	1	2	7		10		
	G(-)+Anaerobic bacteria	1				1		
	Sub total	12	7	10		29		
Negative of isolated bacteria	12	5	1		18			
Total		50	17	16	3	86		

Table.3 Isolated Bacteria by Infection Sites

ためか、グラム陽性菌は*S.aureus*が13例と半数を占めた。一方、鼻および咽喉頭感染症では、複数菌感染が各々7/12例58.3%、10/15例66.7%であったが、これらは、*Neisseria*, *Corynebacterium*などの常在菌が高率に認められた。なお、分離菌陰性18例中、耳感染症は12例、鼻感染症は5例であり咽喉頭感染症では1例のみであった。

(2) 炎症形態別分離菌 (Table. 4)

急性、慢性炎症いずれにおいてもグラム陽性菌、グラム陰性菌、嫌気性菌のすべてが分離された。グラム陽性菌分離率は、急性および慢性炎症でそれぞれ62%、58.2%であったが、慢性炎症でそれぞれ62%、58.2%であったが、慢性炎症では、ブドウ球菌属が32例中24例75%と高率であった。一方、*P.aeruginosa*や*Proteus spp*を主としたグラム陰性菌は、急性炎症(14%)に比較し、慢性炎症では高率(29.1%)に分離され、嫌気性菌は急性炎症において高率に

Group	Isolated bacteria	No. of isolated bacteria from acute inflammation (%)	No. of isolated bacteria from chronic inflammation (%)	Total (%)
Gram-positive bacteria	<i>S.aureus</i>	8	16	24
	<i>S.epidermidis</i>	1	4	5
	<i>C.N.S.</i>	2	2	4
	<i>Staphylococcus spp.</i>	1	2	3
	<i>S.pyogenes</i>	1	1	2
	<i>S.mitis</i>	1	3	4
	<i>S.constellatus</i>	4	4	8
	<i>S.sanguis</i>	2	2	4
	<i>Streptococcus MG.</i>	1	2	3
	<i>S.salivarius</i>	3	3	6
	<i>Streptococcus spp.</i>	3	3	6
	<i>Corynebacterium spp.</i>	4	1	5
	Sub total	31 (62.0)	32 (58.2)	63 (60.0)
Gram-negative bacteria	<i>P.aeruginosa</i>	3	4	7
	<i>Proteus spp.</i>	1	4	5
	<i>Providencia spp.</i>	1	3	4
	Others	2	5	7
	Sub total	7 (14.0)	16 (29.1)	23 (21.9)
Anaerobic bacteria	<i>Propionibacterium spp.</i>	2	3	5
	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	1	3	4
	<i>Lactobacillus spp.</i>	7	7	14
	Others	2	1	3
	Sub total	12 (24.0)	7 (12.7)	19 (18.1)
Total	50 (100.0)	55 (100.0)	105 (100.0)	

Table.4 Isolated Bacteria by Inflammatory Type

Group	Isolated bacteria	No. of isolated strains	No. of strains produced β -lactamase	Producing rate of β -lactamase(%)
Gram-positive bacteria	<i>S.aureus</i>	24	19	79.2
	<i>S.epidermidis</i>	5	2	40.0
	<i>C.N.S.</i>	4	1	25.0
	<i>Staphylococcus spp.</i>	3	—	—
	<i>S.pyogenes</i>	1	—	—
	<i>S.mitis</i>	4	—	—
	<i>S.constellatus</i>	4	—	—
	<i>S.sanguis</i>	4	—	—
	<i>Streptococcus MG.</i>	3	—	—
	<i>S.salivarius</i>	3	—	—
	<i>Streptococcus spp.</i>	3	—	—
	<i>Corynebacterium spp.</i>	5	—	—
	Sub total	63	22	34.9
Gram-negative bacteria	<i>P.aeruginosa</i>	7	3	42.9
	<i>Proteus spp.</i>	5	1	20.0
	<i>Providencia spp.</i>	4	—	—
	Others	7	4	57.1
Sub total	23	8	34.8	
Anaerobic bacteria	<i>Propionibacterium spp.</i>	5	—	—
	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	4	—	—
	<i>Lactobacillus spp.</i>	7	—	—
	Others	3	—	—
Sub total	19	—	—	
Total	105	30	28.6	

Table.5 Producing Rate of β -lactamase by Isolated Bacteria

分離された。

(3) 分離菌別β-ラクタマーゼ産生率

(Table. 5)

β-ラクタマーゼ産生菌は、グラム陽性菌、陰性菌ともに約35%で、嫌気性菌は0%であった。特に*S.aureus*では79.2%と高率に認められた。

(4) 臨床分離株に対する抗菌作用

SBT/CPZ (1 : 1) 合剤の臨床分離株24株に対するMIC分布を検討した。対照薬剤はCPZ単独を用いた。Fig. 2は*S.aureus* 24株の成績で左にβ-ラクタマーゼ産生菌を19株、右に非産生菌5株を示す。上段に累積百分率を、下段にMIC分布を示した。

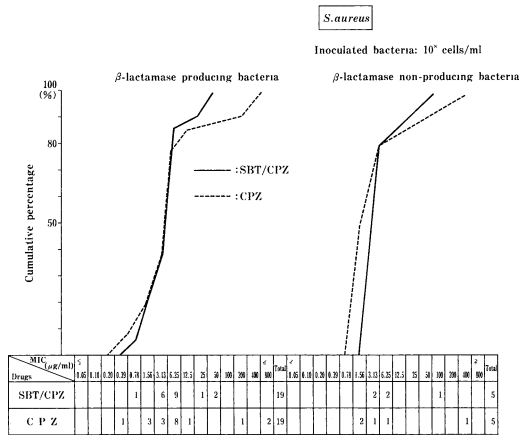


Fig.2 Comparison of Antibacterial Power

β-ラクタマーゼ産生菌について、CPZのMICは0.39~800 μg/ml以上に分布し、MIC₈₀は6.25 μg/mlであった。また、SBT/CPZのMICは、0.78~50 μg/ml域にあり、MIC₈₀は6.25 μg/mlであった。一方、β-ラクタマーゼ非産生菌のSBT/CPZのMICは、3.13~100 μg/ml域であった。

Fig. 3はCPZの抗菌力がSBTを加えることでどれだけ増強するかをCPZ濃度に換算して線で結んだものである。β-ラクタマーゼ産生株は14/19株がSBTを加えることに

より2~4管程度の抗菌力の増強を認めた。一方、β-ラクタマーゼ非産生菌では、CPZでMIC6.28 μg/ml以上の2株は、SBT/CPZのMICで小さくなる傾向を示したが、他の3株は不変であった。Fig.には示していないが、グラム陽性菌全体でも*S.aureus*と同様の成績を示した。

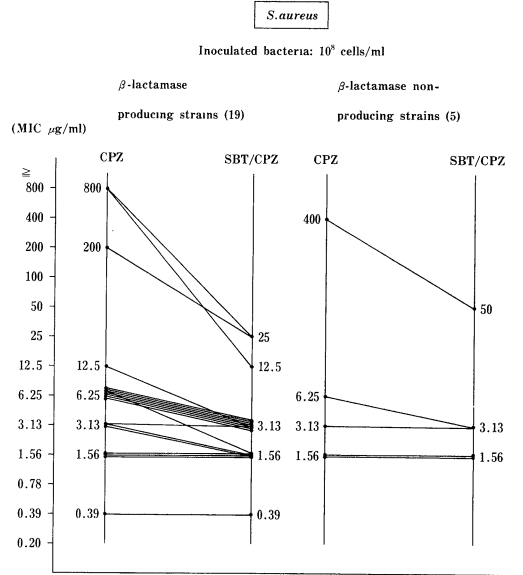


Fig.3

(5) SBT/CPZの血中濃度と臨床分離株のMIC₈₀ (Fig. 4)

グラム陽性菌MIC₈₀が6.25 μg/ml、グラム陰性菌と嫌気性菌MIC₈₀が12.5 μg/mlであった。

SBT/CPZ 2g静注時のCPZ血中濃度曲線

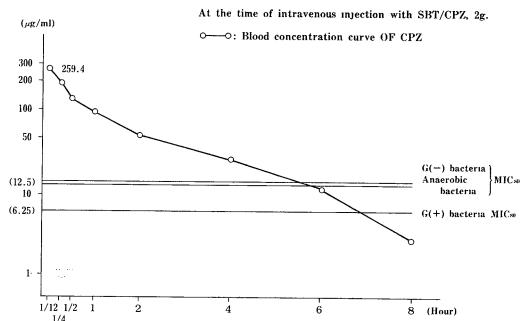


Fig.4 Blood Concentration of SBT/CPZ and MIC₈₀ Clinically Isolated Strains

が、臨床分離株のMIC₈₀を上回っていたのは、グラム陰性菌、嫌気性菌で、静注後約6時間まで、グラム陽性菌では約7時間までであることが認められた。

IV. 考 察

① 耳鼻咽喉科領域感染症の検出菌の動向

耳鼻咽喉科領域は感染症の好発部位であるが、感染巣から摘出される菌種は常在菌とはやや異なる。中耳感染のうち、急性化膿性中耳炎からの検出菌は*S.aureus*, *H.Influenzae*などであるが、慢性化膿性中耳炎からは*S.aureus*が首位を占めるようになり、*P.aeruginosa* *Proteus spp*などのグラム陰性桿菌の検出率が増加する^{1),2)}。本試験全体の分離菌から*H.Influenzae*が検出されなかった理由は、大部分が慢性化膿性中耳炎であったためと考えられる。

急性副鼻腔炎では、急性化膿性中耳炎に比較的類似した傾向を示すが本疾患に多い一側性病変側の場合、嫌気性菌の検出率が50%近くも占めている³⁾。慢性副鼻腔炎は、グラム陽性球菌では、*S.aureus*, *S.pneumoniae*が、またグラム陰性桿菌では*H.Influenzae*および*P.aeruginosa*の検出頻度が高いとともに、嫌気性菌の検出頻度も高いと報告されている^{3),4)}。

扁桃炎を主体とした咽喉頭感染巣からの検出菌は、*Streptococcus*属が約50%を占める¹⁾。

この他、*S.aureus*, *H.Influenzae*, 嫌気性菌などが検出される。本試験ではグラム陰性菌は全く認められず、嫌気性菌の検出は8/15例53.3%であった。嫌気性菌検出率は急性炎症24%、慢性炎症12.7%、全体分離菌の18.1%で馬場¹⁾の検出率とほとんど同じ結果であった。

これらの分離菌頻度は、検体採取条件や各施設検査機関の特徴など様々な条件によって左右されるため、一概には言えないが耳

鼻咽喉科領域感染症において嫌気性菌の占める割合は、比較的高いと考えられ、今後日常臨床上化学療法剤を選択する上において注意しなければならない。同様に嫌気培養の重要性を再認識させられた。

外耳道、鼻腔、咽頭、扁桃および口腔から検出される細菌の種類は、全体的にみて口腔内に最も多く、次いで咽頭、扁桃、鼻腔、外耳道の順である⁵⁾。明らかに分泌物や膿汁のみられる検体でも、1度のみ細菌検査では耳と鼻に関しては、12/50例24%および5/17例29.4%と20%以上の確率で細菌が検出されなかった。しかし咽喉頭の場合では、大部分のうち何らかの細菌が同定された。耳の感染巣からはほとんど好気性菌が検出されているのに対し、口腔、鼻、咽喉からは好気性ならびに嫌気性菌の検出がみられ、これら多くは二菌種以上の複数菌検出例であると言われている⁵⁾。今回の検討でも分離菌すべてを対象としたため、複数菌感染の中には多種多様の常在菌が分離同定され、鼻と咽喉頭感染症では複数菌感染が高率に認められた。

② β-ラクタマーゼ産生菌の動向

近年、β-ラクタム剤など種々の抗生物質の開発とともに、耐性菌の増加が临床上重要な問題となっている。β-ラクタム剤に対する耐性機構としてはいくつか知られているが、現実にはβ-ラクタマーゼ産生による耐性菌が大部分を占めている。馬場⁶⁾は、*S.aureus*, *B.catarrhalis*, *H.Influenzae*の耐性機構はβ-ラクタマーゼ産生性によるとしており、また慢性副鼻腔炎などから分離される*Bacteroides*属にもβ-ラクタマーゼ産生菌が多いと述べている。公文⁷⁾は、岡山大学泌尿器科での分離菌1,368株の74%がβ-ラクタマーゼ産生菌で、中でも*Serratia*は100%産生株、*P.aeruginosa*は、52%が非産生株であるが、ここ数年で

*P.aeruginosa*は急激に耐性化しており、新しいデータでは86%がβ-ラクタマーゼを産生していると報告している。本試験における*S.aureus*のβ-ラクタマーゼ産生率が79.2%と高率であることから、β-ラクタマーゼ産生菌増加による耐性菌の存在は、将来的な問題ではなく現時点の問題といっても過言ではないと思われる。

③ SBT/CPZ合剤の抗菌作用

β-ラクタマーゼ産生による細菌の耐性機構に対する臨床上の策として、β-ラクタマーゼ阻言剤を既存のβ-ラクタム剤と併用使用することが考えられ^{6),8)}、SBT/CPZもその目的で作られたものの一つである。

SBT/CPZはSBTとCPZとの配合剤(1:1)である。SBTは1977年米国Pfizer社で開発されたβ-ラクタマーゼ阻害剤で、抗菌力は弱い、各種の細菌が産生するペニシラーゼ型β-ラクタマーゼを強く、セファロスポリナーゼ型β-ラクタマーゼを中等度に不可逆的に不活性化し、安定な物質で安全性も高い。CPZはきわめて広範囲の抗菌スペクトラムを持ってはいるが、β-ラクタマーゼの一部に対しては不安定⁹⁾なのでこの欠点を補うためにSBTとCPZの配合剤が作られた。SBT/CPZは、CPZの優れた抗菌スペクトラム、抗菌力および安全性を低下させることなく、β-ラクタマーゼに対する抵抗性を強化した薬剤で、優れた抗菌活性を示すとされている¹⁰⁾。

本剤の特徴であるβ-ラクタム剤とβ-ラクタマーゼ阻害剤(SBT)との配合による抗菌力の増強をみるために、*S.aureus*に対するMICをCPZ単独と比較してみたが、β-ラクタマーゼ非産生菌に対してはCPZ単独とほぼ同等であり、β-ラクタマーゼ産生菌に対してはCPZ単独より2~4管程度強い抗菌力を示し本剤の配合意義を裏付

ける成績であった。これとほぼ同一の傾向は、西野ら¹¹⁾、松本ら¹²⁾、大山ら¹³⁾、岡本ら¹⁴⁾により確認されている。つまり、SBTのβ-ラクタマーゼ阻害作用は、*S.aureus*には強力に発揮されることが今回の検討でも確認された。SBT/CPZの血中濃度と臨床分離株MIC₈₀からみると臨床使用に関しては、1日量4g分2の点滴静注または静注が良いと考えられる。杉盛¹⁵⁾は、臨床的にも複数菌感染によると考えられる上気道感染症に対し、SBT/CPZの2g×2回/日の投与が有効であると述べている。しかしながら、出口ら¹⁶⁾が現状で検出される耐性菌は、SBTのβ-ラクタマーゼ阻害作用が十分に発揮されない性質を持つ耐性菌も無視できない程度に検出されていることを忠告していることは興味深いことである。

以上より、SBT/CPZは临床上、有用性の高い薬剤であると考えられた。

ま と め

1. 耳鼻咽喉科領域感染症の起炎菌について検討した。
2. 単独菌感染症は57.4%で、複数菌感染症は42.6%であった。
耳感染症では単独菌感染が、鼻感染症および咽喉頭感染症では複数菌感染が多かった。
3. 急性感染症、慢性感染症ともにG(+)菌の分離頻度は60%であったが慢性感染症では、ブドウ球菌属はG(+)菌の75%を占めた。
4. 臨床分離株のβ-ラクタマーゼ産生率はG(+)菌、G(-)菌ともに約35%であり、特に*S.aureus*では79.2%の産生率であった。
5. β-ラクタマーゼ産生菌に対してSBT/CPZの抗菌力はβ-ラクタマーゼ阻害剤(SBT)を配合することによりCPZの抗菌力を2~4倍増強した。

謝 辞

稿を終えるに当り、参加された臨床施設および担当医に深甚なる謝意を表します。また起炎菌の分離、同定、さらにMICの測定に御協力いただいたファイザー製薬株式会社細菌研究室の諸氏に深謝する。

本論文の要旨は、第20回日本耳鼻咽喉科感染症研究会において発表した。

参 考 文 献

- 1) 馬場駿吉：耳鼻咽喉科領域の感染症－その検出菌の動向と薬剤選択－，JOHNS vo 1. 4 : 525-528, 1988
- 2) 浅野公子，他：術前の感染菌種，JOHNS vo 1. 3 : 25-28, 1987
- 3) 粟田口敏一，他：各科領域における化学療法の実際－耳鼻咽喉科－，臨床と研究65 : 64-69, 1988
- 4) 藤巻 豊：慣性副鼻腔炎と細菌，JOHNS vo 1. 3 : 167-171, 1987
- 5) 坂部 孝：抗菌剤の選択，JOHNS vo 1. 4 : 529-536, 1988
- 6) 馬場駿吉：耳鼻咽喉科領域感染症，Today's Therapy 86.4th : 11-15, 1986
- 7) 公文裕巳：泌尿器科領域におけるβ-ラクタマーゼ産生菌の現況についてSULPERAZON, Highlights of Symposia 28, 1987
- 8) ALDRIDGE, K. E., et al : Variation in the potentiation of β-lactam antibiotic activity by clavulanic acid and sulbactam against multiple antibiotic-resistant bacteria. J. Antimicrob. Chemother. 17 : 463-469, 1986
- 9) Mouton, R. P., et al : Activity and specific beta-lactamase susceptibility of cefoperazone and moxalactam. Comparison with other cephalosporins, Chemotherapy (Basel) 27 : 318-324, 1981
- 10) 第30回日本化学療法学会，新薬シンポジウム II Sulbactam/Cefoperazone, 東京, 1982
- 11) 西野武志，他：SulbactamとCefoperazoneの併用による*in vitro*抗菌作用について，Chemotherapy 32 (S-4), 51-65, 1984
- 12) 松本文夫，他：Sulbactam/Cefoperazoneに関する基礎的，臨床的検討，Chemotherapy 32 (S-4), 272-280, 1984
- 13) 大山 馨，他：Sulbactam/Cefoperazoneの臨床的検討，Chemotherapy 32 (S-4), 281-287, 1984
- 14) 岡本緩子，他：Sulbactam/Cefoperazoneに関する基礎的ならびに臨床的研究，Chemotherapy 32 (S-4), 305-315, 1984
- 15) 杉盛 恵：スルペラゾンの扁桃組織移行の検討：SULPERAZON, Highlights of Symposia, 宇都宮, 1987
- 16) 出口浩一，他：新鮮臨床分離株に対するSulbactam/Cefoperazoneの抗菌力，THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS 40 (10), 1752-1761, 1987