

慢性副鼻腔炎の細菌学的検査と薬剤感受性の検討

小川 晴子 秋田 茂樹 加藤 洋治 堀部 昌代
宮崎 貴子 白戸 弘道 宮田 英雄

岐阜大学耳鼻咽喉科学教室

加藤 直樹 渡辺 邦友

岐阜大学嫌気性菌実験施設

Bacteriology and antimicrobial susceptibility of chronic sinusitis

Haruko OGAWA, Shigeki AKITA, Yoji KATO, Masayo HORIBE, Takako MIYAZAKI, Hiromichi SHIRATO, Hideo MIYATA

Department of Otorhinolaryngology, Gifu University school of Medicine

Naoki KATO, Kunitomo WATANABE

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Bacteriology of chronic sinusitis has already been reported in several studies. But in most studies, the details about the techniques of collection, transportation and processing of clinical specimen have only rarely been described. And recently, low-dose and long-term administration of clarythromycin has been reported to be a very effective therapy for chronic sinusitis.

Therefore, this study was undertaken with attention to the above, and to obtain the information on appropriate antimicrobial therapy, we conducted a dilution antimicrobial susceptibility test of isolates.

The maxillary effusion obtained by endoscopic paranasal surgery of 16 cases of chronic sinusitis was examined microbiologically. 10 patients received systemic antimicrobial therapy for 1 month before operation. Macrolide was given to 9 patients, cefotiam to 1.

From effusion of specimens with antimicrobial therapy within 1 month before operation, anaerobic bacteria were isolated in 2 out of the 8 culture positive specimens. The total of 14 bacteria, including 2 anaerobic and 12 aerobic bacteria was isolated with an average 1.75 species per specimen. Cases without antimicrobial therapy 1 month before operation, which total of 24 bacteria, including 9 anaerobic and 15 aerobic was isolated with an average 4 species per specimen. The predominant anaerobic organisms were *Peptostreptococcus* spp. (36%), *Prevotella* spp. (18%).

On the basis antimicrobial susceptibility testing of isolates in vitro, the use of cefpodoxime, clarithromycin, tosfoxacin in prove to be clinically effective.

はじめに

慢性副鼻腔炎の遷延化には細菌感染も関与していると考えられ、種々の抗菌薬を用いて治療が行われている。特に近年はマクロライド系抗生物質の少量長期投与療法が有用であると報告され、手術前に投薬を受けている例が多くなってきた。マクロライドの有効性に関しては抗菌作用以外の薬理作用も指摘されているが、この治療が行われるようになってからの本疾患の嫌気性菌も含めた詳細な細菌学的検討は見られない。また近年手術方法も患者に負担の少ない内視鏡下鼻内手術が主流となり、その結果として手術時採取される培養検体の質が異なり、細菌学的検索結果が以前に報告されたものと異なってくる可能性が考えられる。今回我々は、当院で行っている内視鏡下鼻内手術中に採取した上顎洞膿を検体として詳細な細菌学的検討を行ったので報告する。

対象

1994年5月から1995年6月までの14カ月間に、慢性副鼻腔炎のため岐阜大学耳鼻咽喉科にて内視鏡下鼻内手術を行った14歳から61歳(平均45.1歳)の16例(男性12例,女性4例)より手術中に採取した上顎洞貯留液16検体である。

方法

1) 検体採取: 内視鏡下鼻内手術中に吸引採取した検体を手術室内で各培地に塗抹し、直ちに嫌気パウチに入れるなどして培養開始を行うか、もしくは直ちにケンキポーターへ入れ実験施設に輸送し1時間以内に培養処理を行った。
2) 分離培養, 同定: 菌の分離培養, 同定は本学嫌気性菌実験施設の方法に従い Fig. 1 に示したように行った。好気性菌検出にはチョコレート寒天培地, 血液寒天培地の2種類を用い

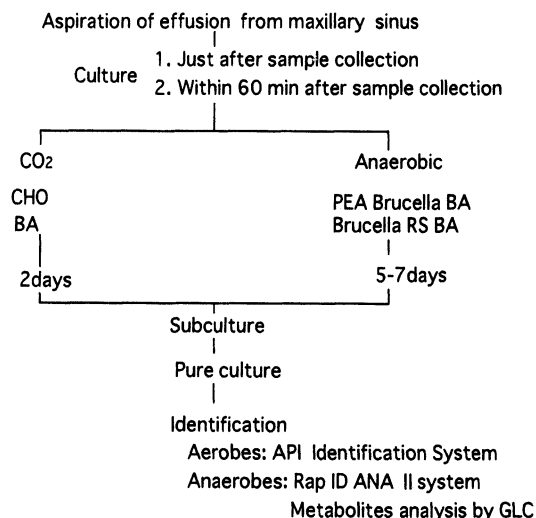


Fig. 1 Method for culture and identification

て2日間炭酸ガス培養を行い、嫌気性菌の検出にPEA (Phenylethylalcohol) 加 Brucella HK 寒天培地, Brucella HK (Hemin, Bitamin K) 寒天培地を用いて5-7日間嫌気培養を行った。3回継代培養し純培養菌とし同定に供した。同定はGram染色などを行ったあと好気性菌はAPI同定システムにより行い、嫌気性菌はRap ID ANA II systemなどにより行い、必要に応じてGas Liquid Chromatography (GLC) による代謝産物の分析も実施した。

3) 感受性検査: 分離同定された好気性菌, 嫌気性菌についてマイクロブロス希釈法を用いて薬剤感受性検査を行った。抗菌薬はセポドキシム (CPDX), クラリスロマイシン (CAM), トスフロキサシン (TFLX) を用い、最小阻止発育濃度 (MIC) を求めた。

結果

1) 細菌検査成績

Table 1 に手術前1カ月以内に抗菌薬を内服

Table 1 Bacterial isolates which were cases with antibiotic treatment within 1 month before operation

	Aerobe	Anaerobe	Antibiotic
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	ROX(4W) 1D*
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Propionibacterium granulosum</i>	CAM(4W) 1D*
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus cohnii</i> <i>Aerococcus viridans</i>	NG	ROX(1W) 1D*
4	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus constellatus</i>	NG	ROX(4W) 9D*
5	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus capitis</i>	NG	CAM(12W) 4W*
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	NG	CAM(3W) 1D*
7	<i>Aerococcus viridans</i>	NG	CAM(2W) 4W*
8	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NG	CTM(11D) 1D*
9	NG	NG	ROX(2W) 4W*
10	NG	NG	CAM(6W) 1D*

Duration of antibiotic-treatment is indicated in parentheses.

Abbreviations:NG, no growth; CAM, clarythromycin; ROX, roxithromycin; CTM, cefotiam.

* Days of sample collection, which were counted from the date of completing antibiotic treatment.

Table 3 Influence of antibiotic-treatment before sample collection on culture outcomes in 14 culture-positive cases

Antibiotic-treatment	Isolate		No. of isolate	Average no. of isolate per case
	Aerobe	Anaerobe		
+(n=8)	12	2	14	1.75
-(n=6)	15	9	24	4

していた症例より分離された菌を、Table 2 に内服していなかった症例より分離された菌を症例ごとに示した。

抗菌薬投与を受けていた10例のうち9例はニューマクロライド系抗生物質を内服しており、1例はセフェム系抗生物質を内服していた。2例は培養陰性であった。抗菌薬投与を受けていない6例は全例培養陽性で、1例を除く5例で好気性菌と嫌気性菌の複数菌が分離された。平均分離株数は、抗菌薬内服群で1.75株、

Table 2 Bacterial isolated which were cases without antibiotic treatment 1 month before operation

	Aerobe	Anaerobe
11	<i>Streptococcus mitis</i> <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>salivarius</i> <i>Streptococcus sanguis</i> <i>Aerococcus viridans</i>	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Peptostreptococcus magnus</i>
12	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> Gram-negative rod <i>Moraxella</i> sp.	<i>Streptococcus intermedius</i> <i>Peptostreptococcus micros</i>
13	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus</i> sp. <i>Streptococcus sanguis</i> Gram-negative rod	Gram-negative rod
14	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Prevotella buccae</i> <i>Propionibacterium acnes</i>
15	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Prevotella</i> sp. <i>Peptostreptococcus micros</i>
16	<i>Staphylococcus sanguis</i>	NG

非内服群で4株で、術前抗菌薬非内服群が2倍以上の高い値を示した (Table 3)。

2) 分離菌種成績

Table 4 に分離菌種を術前抗菌薬投与の有無にわけて示した。抗菌薬投与群では好気性菌のうち *Streptococcus* spp. の分離率が抗菌薬非投与群に比べ低く、逆に *Staphylococcus* spp. の検出率が高い値を示した。また抗菌薬非投与群では投与群に比べ嫌気性菌の検出率が高く *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Prevotella* spp. などが検出された。

3) 分離された菌の薬剤感受性検査成績

成績を Table 5 に示した。好気性菌では抗菌薬投与を受けていた症例ではセフトロキムとクラリスロマイシンに耐性を示す株が認められたが、トスフロキサシンに耐性の株は認められなかった。嫌気性菌では検討株数が少なかったが好気性菌と同様の傾向が認められた。

Table 4 Bacterial isolated from effusion of maxillary sinus of 14 patients with chronic sinusitis

Isolate	Antibiotic-treatment		No. of isolates
	+(n=8)	-(n=6)	
AEROBIC BACTERIA			
Gram-positive cocci			
<i>Staphylococcus aureus</i>	3		3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		3	6
<i>Staphylococcus capitis</i>	1		1
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1		1
<i>Staphylococcus hominis</i>		2	2
<i>Micrococcus sp.</i>		1	1
<i>Streptococcus salivarius</i>		1	1
ssp. <i>salivarius</i>			
<i>Streptococcus sanguis</i>		3	3
<i>Streptococcus constellatus</i>	1		1
<i>Streptococcus mitis</i>		1	1
<i>Aerococcus viridans</i>	2	1	3
Gram-negative rods			
<i>Moraxella sp.</i>		1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1		1
Others		2	2
Subtotal	12	15	27
ANAEROBIC BACTERIA			
Gram-positive cocci			
<i>Streptococcus intermedius</i>		1	1
<i>Peptostreptococcus micros</i>		2	2
<i>Peptostreptococcus magnus</i>		1	1
<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	1		1
Gram-positive rods			
<i>Propionibacterium acnes</i>		2	2
<i>Propionibacterium granulosum</i>	1		1
Gram-negative rods			
<i>Prevotella buccae</i>		1	1
<i>Prevotella sp.</i>		1	1
Others		1	1
Subtotal	2	9	11
Total	14	24	38

考 察

1) 細菌検出成績と検出菌種について

本疾患の培養陽性率や嫌気性菌分離率については、国内文献と外国文献の間に差のあることは以前より指摘されている。馬場¹⁾は208例と247株の細菌を分離し、全分離株数のうち嫌気性菌が25%を占めたと報告している。当科のIto, et al²⁾は上顎洞根本手術例の上顎洞貯留液8検体を検体採取から処理までの時間の短縮と、選択培地を併用した適正な分離培養を行うなど方法に細心の注意を払い再検討し、28株の細菌を分離して、全分離株数のうち嫌気性菌が82%を占めたと報告している。外国文献ではBrook, et al³⁾が67例より183株の細菌を分離し、そのうち嫌気性菌が123株67%を占めたと報告している。しかし今回の我々の結果では、抗菌薬投与群8例より14株の細菌を分離

Table 5 Antimicrobial activity of cefpodoxime, clarithromycin, and tosufloxacin against isolates from 14 cases with chronic sinusitis

Aerobes

Antibiotic	MIC(μg/ml)							total	
	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16		32
CPDX									
Drug(+) case	2	2	3	2					2
Drug(-) case	9	1	2	1					13

Antibiotic	MIC(μg/ml)							total	
	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16		32
CAM									
Drug(+) case	6	1	2						2
Drug(-) case	8	2	1	2					13

Antibiotic	MIC(μg/ml)							total	
	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16		32
TFLX									
Drug(+) case	7	1	3						11
Drug(-) case	7	6							13

Anaerobes

Antibiotic	MIC(μg/ml)							total	
	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16		32
CPDX									
Drug(+) case					1				1
Drug(-) case	4		1		1				6

Antibiotic	MIC(μg/ml)							total	
	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16		32
CAM									
Drug(+) case							1	1	2
Drug(-) case	5		1						6

Antibiotic	MIC(μg/ml)							total	
	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16		32
TFLX									
Drug(+) case	1		1						2
Drug(-) case	4		2						6

Abbreviations: CPDX, cefpodoxime; CAM, clarithromycin; TFLX, tosufloxacin.

しそのうち嫌気性菌2株14%、抗菌薬非投与群6例でも24株の分離株のうち嫌気性菌は9株37%と従来の報告より低い値を示した。手術法の変化に伴い検体の採取方法が異なったことが大きな原因と考えられるが、今後症例を増やして検討が必要と思われる。

検出菌に関しては、好気性菌では*Streptococcus* spp. が*Staphylococcus* spp. より高い検出率を示すと報告されている^{1,2)}。嫌気性菌については*Peptostreptococcus* spp. の検出が多いとされているが、Ito, et alやBook, et alはこのほかに*Prevotella* spp. を高率に分離している。これは選択培地を併用し長時間培養することによりslow growingな本菌の分離率が高まった

ためと考えられる。我々の症例からも2株(8%)が分離されており、今後本疾患における本菌の役割について注目する必要があると思われる。

2) 薬剤感受性検査について

Spangler, et al⁴⁾、長手ら⁵⁾によるクラリスロマイシンの好気性菌、嫌気性菌に対する抗菌力成績をTable 6に示した。我々の成績と同様に好気性菌の中には耐性を示す株があるが、嫌気性菌には優れた抗菌力を示している。このことからマクロライドは慢性副鼻腔炎に関連すると思われる好気性菌及び嫌気性菌に対し有効であることが示唆された。

Table 6 Susceptibilities of aerobes and anaerobes to clarithromycin

Organism	MIC 50 (μ g/ml)	MIC 90 (μ g/ml)	% susceptible at breakpoint
Aerobe			
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.2	>100	58
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.2	>100	68
Anaerobe			
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	0.25	64	80
<i>Prevotella melanogenica</i>	2	64	70
<i>Prevotella intermedia</i>	0.5	4	90
<i>Peptostreptococci</i>	2	8	93
Gram-positive non-spore-forming rods*	0.12	1	93

Data adapted from the references (Spangler et al.1994, Nagate et al.1988)

**Propionibacterium acnes* (n=18),*Lactobacillus fermentum* (n=1),

Lactobacillus acidophilus (n=2),*Actinomyces naeslundii* (n=2),

Actinomyces naeslundii (n=2),etc.

ま と め

- 慢性副鼻腔炎16例の内視鏡下鼻内手術中に吸引採取した上顎洞貯留液について嫌気性菌を含む詳細な細菌検索を行い、分離菌の薬剤感受性を測定した。
- 16例のうち培養陽性であったものは14例であった。手術前1カ月以内に抗菌薬を内服していた10例中9例はマクロライド系抗生物質の内服をしており、うち培養陽性は8例で、1症例あたりの平均分離株数は1.3株であった。一方、抗菌薬を服用していない6例は全例培養陽性で1症例あたりの平均分離株数は4株と高い値を示した。

- 検出された嫌気性菌は11株で、*Peptostreptococcus* spp. 4株に加え*Prevotella* spp. 2株(8%)が分離された。これは検体採取後直ちに選択培地を使用し長時間培養を行ったことにより、酸素暴露により死滅しやすくして slow growing な本菌が分離できたものと考えられた。*Prevotella* spp. の慢性副鼻腔炎における役割に関しては今後注目する必要があると思われる。

- 薬剤感受性検査をCPDX, CAM, TFLXの3剤を用いて行った。手術前に抗菌薬治療を受けていた症例ではCPDX, CAMに耐性を示す株が認められたが、TFLXに耐性を示す株は認められなかった。

参 考 文 献

- 馬場駿吉: 慢性副鼻腔炎における嫌気性菌に関する臨床的ならびに実験的研究。市大医誌 20: 800-852, 1970.
- Ito K, et al : Bacteriology of chronic otitis media, chronic sinusitis, and paranasal mucopyocele in Japan. CID 20 (Supple 2) : s214-s219, 1995.
- Brook I, et al : Microbiology and management of chronic maxillary sinus. Arch otolaryngol head and neck surg 120 : 1317-1320, 1994.
- Spangler SK, et al : Effect of CO₂ on susceptibilities of anaerobes to erythromycin, azithromycin, clarithromycin, and roxithromycin. Antimicrobial agents and chemotherapy 38 : 211-216, 1994.
- 長手尊俊 他: 新マクロライド系抗生物質 TE-031の抗菌作用について。Chemotherapy 36: 129-154, 1988.

質 疑 応 答

質問 松原茂規（厚生連中濃）

- ① 嫌気性菌感受性結果がわかるまでに時間がかかり臨床への寄与が少ないのではないか。
- ② 手術すること自身が鼻内の嫌気的環境を変え、手術時の検査が活かされないことはないのか。

応答 小川晴子（岐阜大）

- ① 正確な菌検査を実施することで今後動物実験も併用し、慢性副鼻腔炎の成因・遷延化の病態を探ることを目的としている。
- ② 手術により上顎洞が好気的な状態になったからといって、嫌気性菌がすぐに消失しているとは思えない。各症例の追跡した菌検査を行っているので、後日報告する。

（連絡先：小川晴子
〒500 岐阜県岐阜市司町40
岐阜大学耳鼻咽喉科学教室）