

急性中耳炎児上咽頭から検出された肺炎球菌の耐性割合の推移

藤澤 嘉郎¹⁾ 山内 智彦²⁾ 市村 恵一³⁾

1) 芳賀赤十字病院耳鼻咽喉科

2) 福島県立南会津病院耳鼻咽喉科

3) 自治医科大学医学部耳鼻咽喉科

Drug susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from nasopharynx of rural children with acute otitis media

Yoshiro FUJISAWA¹⁾, Tomohiko YAMAUCHI²⁾, Keiichi ICHIMURA³⁾

1) Department of Otorhinolaryngology, Haga Red Cross Hospital

2) Department of Otorhinolaryngology, Fukushima Prefectural Minamiaizu Hospital

3) Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Jichi Medical University School of Medicine

Recently, there has been a rapid increase in penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* cultured from children with acute purulent otitis media in urban Japanese centers. However, there have been few reports dealing with the rate of antibiotic-resistant bacteria in rural children with various infectious diseases including acute otitis media. *S. pneumoniae* isolated from nasopharyngeal specimens of children affected with acute otitis media who lived in secluded mountain areas were determined. The subjects included all patients ≤ 6 years of age who had acute purulent otitis media and were seen in to the Fukushima prefectural Minamiaizu Hospital from April 2005 to March 2008. Nasopharyngeal specimens obtained from almost all patients (382 cases) were cultured.

One hundred and eighty six *S. pneumoniae* were isolated and their PCG sensitivities were determined. Among the 186 strains of *S. pneumoniae*, 80 (44%) were PISP, and 47 (25%) were PRSP. Among the 70 strains isolated in 2005, 28 (40%) were PISP, and 23 (33%) were PRSP. Among the 68 strains isolated in 2006, 29 (43%) were PISP, and 24 (35%) were PRSP. On the other hand, among the 48 strains isolated in 2007, 25 (52%) were PISP, and PRSP was not isolated. From 2005 to 2006, PCG sensitivities were judged by the laboratory of our hospital. However, in 2007 specimens were outsourced and, as a result,

susceptibility analysis was performed by the subcontract laboratory, thus, the panel used for sensitivity was different. Thirty five strains isolated in 2006 and 21 strains isolated in 2007 were analyzed the gene characteristics of penicillin binding protein (PBP) by PCR. Among the 35 strains isolated in 2006, 33 (94%) had the PBP gene mutations; 17 (48%) expressed three PBP gene mutations, 6 (17%) expressed two PBP gene mutations, and 10 (29%) expressed one PBP gene mutation. Among the 21 strains isolated in 2007, 19 (90%) had the PBP gene mutations; 9 (43%) expressed three PBP gene mutations, and 10 (48%) expressed one PBP gene mutation. The rate of drug resistance in 2007 reduced greatly compared with that in 2006, but the rates of PBP gene mutations in both years were similar. However, the decrease in the bacteria which had more than two PBP gene mutations, may lead to decrease in drug resistance of *S.pneumoniae*.

As with the results of urban surveys, the frequency of resistant *S.pneumoniae* (PISP and PRSP) and the expression rate of PBP gene mutations were equally high.

はじめに

1990年代後半から耐性肺炎球菌が増加してきたが、第4回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランスで耐性化に歯止めがかかり減少に転じ始めている可能性が示唆された¹⁾。これは2006年に小児急性中耳炎診療ガイドライン²⁾が示され、同時期に高用量クラブラン酸配合アモキシシリン (CVA/AMPC=1:14) が発売されたことが大きく関係すると思われる。福島県南会津郡は神奈川県と同じ広さに人口3万人程度のへき地(医療過疎地)である。南会津病院(以下本文中では当院)は郡内唯一のへき地中核病院であり唯一の耳鼻咽喉科標榜医療機関である。当地でも2001年以降、薬剤耐性菌による小児急性中耳炎が増加し治療に難渋するようになった。当地のような医療過疎地でも小児急性中耳炎起因菌の薬剤耐性がどの程度なのか検討するためこの調査を行った。

対象と方法

2005年4月1日より2008年3月31日まで、当院を受診し急性中耳炎と診断した6歳以下の児、全例を対象とし382例より重症度は問わず経鼻的に上咽頭より検体採取した。2005年度と

2006年度は院内検査部で培養同定後、微量希釈法(DADE BEHRING社, MICroFASTシリーズ ストレプトパネル)による感受性検査を行った。2007年度はS社への外注検査により培養同定を行い、微量希釈法による感受性検査(栄研ドライプレート)を行った。382例から186株の肺炎球菌を同定し対象とした。薬剤感受性は米国臨床検査標準委員会の基準に従い(髄膜炎以外の外来内服治療)³⁾、ペニシリンG(PCG)MIC 0.06 μ g/ml以下をPSSP(penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae*), 0.12 μ g/ml以上1 μ g/ml以下をPISP(penicillin-intermediate *S.pneumoniae*), 2 μ g/ml以上をPRSP(penicillin-resistant *S.pneumoniae*)とした。さらに2006年10月1日~2007年3月31日までの35例と、2007年12月1日~2008年3月31日までの21例についてはペニシリン結合タンパクの構造変化をきたすpbp遺伝子変異を明治製菓仙台支店学術部に依頼しpolymerase chain reaction法(以下PCR法)により検索した。

結 果

1) 薬剤感受性検査による耐性率

3年間通算ではPISP 82株(44%), PRSP 47

株 (25%) であり、耐性率は 69% であった。PCG の MIC 分布を年度比較すると 2005 年度は MIC 0.12 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株の割合が 73% (うち PRSP33%), 2006 年は 78% (うち PRSP35%) であり耐性率・MIC 分布とも類似していた。しかし 2007 年は MIC 2 $\mu\text{g/ml}$ 以上の PRSP 株を認めず、耐性率も 52% であった (Fig. 1)。

2) PCR 法による pbp 遺伝子変異検査結果

pbp 遺伝子検索の対象とした 2006 年度 35 例と 2007 年度 21 例の薬剤感受性を Fig. 2 A にしめす。各年とも pbp 遺伝子検索を行った群と対象母集団との間で PSSP・PISP・PRSP の割合について統計学的に有意差を認めなかった (T 検定)。2006 年度は pbp 遺伝子変異を 94% に認め、pbp 1 a+2 b+2 x 変異が 17 株 (48%) と最も多

く、次いで pbp 2 x 変異が 10 株 (29%) であった。一方、2007 年度の pbp 遺伝子変異は 91% であり、pbp 1 a+2 b+2 x 変異 9 株 (43%) と pbp 2 x 変異 10 株 (48%) のみ検出された (Fig. 2 B)。統計学的に 2006 年度と 2007 年度とで pbp 2 x 変異割合および pbp 1 a+2 b+2 x 変異割合に有意差を認めなかったが、pbp 遺伝子変異を 2 個以上有する割合には有意差を認めた (T 検定 $P < 0.05$)。

pbp 遺伝子変異を PCG MIC 分布に重ねると、2006 年度は PCG MIC 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 以下はすべて変異なし株または pbp 2 x 変異株であった。また pbp 1 a+2 b+2 x 変異株はすべて MIC 1 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布している。これに対して 2007 年度は pbp 1 a+2 b+2 x 変異株を PCG MIC 0.06 ~ 1 $\mu\text{g/ml}$ に認めた (Fig. 3)。

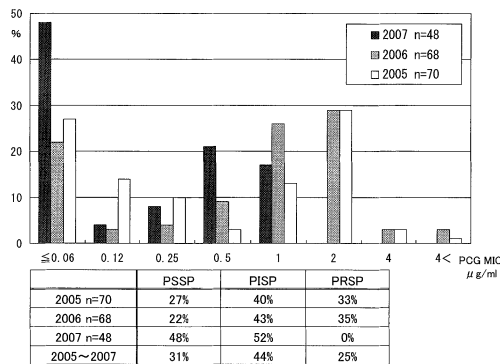


Fig. 1 PCG MIC distribution of *Streptococcus pneumoniae*

考 察

私は 2001 年に当院に赴任したが大学病院での経験以上に耐性肺炎球菌による難治性小児急性中耳炎が多く治療に難渋しこの統計を開始した。当地のような医療過疎地においても耐性肺炎球菌は従来の報告と同様に高値で 70% 程度であった。しかし CVA/AMPC (1:14 製剤) が発売となり小児急性中耳炎診療ガイドラインが示された 2006 年度ごろから PRSP による急性中耳炎でも治療に難渋するケースは少なくなってきた印象があり、2007 年度は PCG 耐性が 50% 程度に劇的に

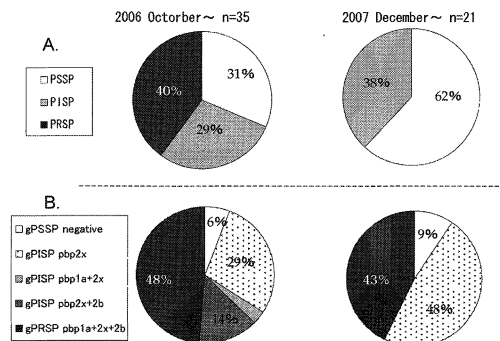


Fig. 2 Isolation frequency of *Streptococcus pneumoniae*
 A. Susceptibility to PCG
 B. PCR results for pbp genes mutation

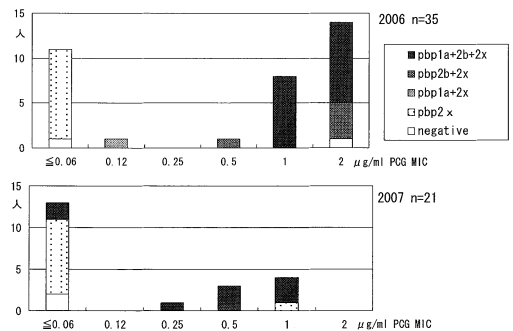


Fig. 3 Susceptibility to PCG and expression of pbp genes mutations of *Streptococcus pneumoniae*

減少し PRSP がまったく検出されなかった。ガイドラインに従いペニシリン系抗菌薬を中心に高用量投与するようになった結果と考えたかったが、2007年度は当院院内検査部の人員不足のため培養同定・感受性検査をS社への外注としており、感受性検査に使用しているパネルが異なっていた。そこで院内検査とS社の検査結果を比較するため肺炎球菌の pbp 遺伝子変異を検索した。検出株保存上の理由で全株の検索を行うことができず2006年度は10月～3月までの6ヶ月間、2007年度は12月から2008年3月までの4ヶ月間の検索を行った。その結果 pbp 遺伝子変異を2個以上有する割合に有意差を認め、遺伝子変異で比較すると薬剤耐性株が減少している可能性がある。

pbp 遺伝子変異を PCG MIC 分布に重ねて検討すると2006年度は PCG MIC 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 以下の PSSP 全例が pbp 変異なし株か pbp 2x 変異株であるが、2007年度は PCG MIC 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 以下に pbp 1a+2b+2x 変異株が15%含まれていた。また2006年度の pbp 1a+2b+2x 変異株はすべて PCG MIC 1 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布するが、2007年度の pbp 1a+2b+2x 変異株は PCG MIC 0.06～1 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。過去の報告⁴⁾では pbp 1a+2b+2x 変異株は PCG MIC 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布し PCG MIC 1～2 $\mu\text{g/ml}$ に分布数が多い。遺伝子変異と表現型が必ずしも一致するわけではないが、S社の PCG 薬剤感受性結果は院内検査結果に比べ PCG MIC で1管程度かそれ以上感受性がよいほうに偏移しているのではないかと疑っている。

2年間の比較ではあるが、pbp 遺伝子変異を2個以上有する割合が減少し薬剤耐性が改善している可能性がある。しかし pbp 遺伝子変異率は90%と高く PSSP の大部分は pbp 2x 変異株であり、pbp 1a+2b+2x 変異株の検出も多いためペニシリン系抗菌薬を中心としたガイドラインの遵守が重要であると再確認できた。

参 考 文 献

- 1) 鈴木賢二, 黒野祐一, 小林俊光ら: 第4回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランス結果報告. 耳鼻咽喉科感染症研究会誌 26: 15-26, 2008
- 2) 日本耳科学会・日本小児耳鼻咽喉科学会・日本耳鼻咽喉科感染症研究会: 小児急性中耳炎診療ガイドライン. Otol Jpn 16(3): 補1-34, 2006
- 3) 斎藤昭彦: 肺炎球菌のペニシリン感受性基準の変更. 小児耳 30(1): 79-80, 2009
- 4) 生方公子: 細菌検査の立場から. Jpn J Antibiol 52 Suppl B: 4-13, 1999

連絡先: 藤澤嘉郎

〒321-4306

栃木県真岡市台町2461

芳賀赤十字病院耳鼻咽喉科

TEL 0285-82-2195 FAX 0285-84-3332

E-mail fujisaw@jichi.ac.jp