

7価肺炎球菌結合型ワクチン導入前の 小児鼻咽腔細菌叢の検討

林 達哉¹⁾ 佐々木卓也^{1,2)} 小林祐希^{1,3)}
駒林優樹¹⁾ 岸部 幹¹⁾ 原 遡 保明¹⁾

1) 旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

2) 釧路労災病院耳鼻咽喉科

3) 旭川厚生病院

Nasopharyngeal flora of children with acute otitis media before introduction of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Japan

Tatsuya HAYASHI¹⁾, Takuya SASAKI^{1,2)}, Yuki KOBAYASHI^{1,3)},
Yuki KOMABAYASHI¹⁾, Kan KISHIBE¹⁾, Yasuaki HARABUCHI¹⁾

1) Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Asahikawa Medical University

2) Department of Otolaryngology, Kushiro Rosai Hospital

3) Department of Otolaryngology, Asahikawa-Kosei General Hospital

Serotype distribution of *S. pneumoniae* isolated from nasopharynx of pediatric patients with acute otitis media treated at Nemuro City Hospital was determined by the slide agglutination test just before the widespread use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine (PCV 7) approved in 2010 by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Out of 35 pneumococcal isolates, 37% were serotype 19 and 31% were serotype 23. Only one isolated strain was found to be penicillin resistant *S. pneumoniae* (PRSP) and it was serotype 6. Twenty-three isolates (66%) were penicillin intermediately resistant *S. pneumoniae* (PISP), and 95.7% of PISP were serotype 19 or 23. There was no area-specific difference in the serotype distribution in Japan.

Although this serotyping test does not tell any information on subtypes of capsular serotypes, it could offer an easy option to obtain the outline of serotype distribution and its change following introduction of PCV7.

はじめに

米国におくれること10年、ようやく本邦でも7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7, プレベナー®)が2010年から利用可能となった。肺炎、髄膜炎などの侵襲性肺炎球菌感染症の予防を目的とした認可であるが、海外報告からも小児急性中耳炎に対する予防効果が期待されることである。このワクチンに含まれる7つの血清型抗原は開発国である米国の肺炎球菌分離状況により決定されたが、血清型分布は国あるいは地域ごとに異なる可能性がある。本邦ではHotomiらがワクチンカバー率を含め詳細な報告を行っている¹⁾。しかし、この報告で示されたペニシリン耐性肺炎球菌の分離状況は、われわれが調査対象としてきた北海道根室市とは大きく異なっており、同様に血清型分布も異なる可能性がある。そこで、今回われわれは根室市立病院における肺炎球菌の血清型分布を明らかにし、従来の報告との比較検討を試みた。

対象と方法

対象：平成22年4月28日から同年7月7日の期間に北海道根室市立病院にて中等症以上の急性中耳炎と診断された小児36名の鼻咽腔から分離同定された肺炎球菌株36検体を対象とした。全例調査は時間と予算上の制約から困難であったため1週間につき週の最初の3分離菌肺炎球菌株に関してのみ血清型判定検査を施行した。

分離肺炎球菌の莢膜血清型をスライド凝集法により判定した。判定には市販の肺炎球菌莢膜型別用免疫血清「生研」(デンカ生研株式会社, 東京)を用いた。この製品は8種類の混合血清と39種類の単味血清から成る(Table 1)。培地に発育

した肺炎球菌をスライドグラス上で先ず混合血清と反応させ、1分以内に強い凝集を認めたものを陽性と判定した。この時、対照の生理食塩水では凝集が生じないことを確認した。続いて、混合血清に含まれる単味血清を順番に反応させ、同じく凝集の生じた単味血清の型を菌株の血清型と判定した。

結果

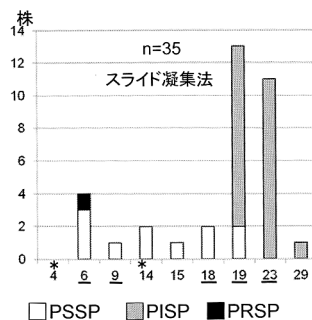
対象の年齢分布：対象の年齢は1歳に大きなピークと5歳に小さなピークを持つ二峰性の年齢分布を示し、年齢の中央値は2歳、2歳以下の症例が全体の53%を占めた。

分離菌の薬剤感受性分布：肺炎球菌35株のうち、ペニシリン感受性株(PSSP)が11株(31%)、ペニシリン中等度耐性株(PISP)が23株(66%)、ペニシリン高度耐性株(PRSP)が1株(3%)であった。

血清型分布：血清型が判定困難であった1例を除いた計35株の結果を薬剤感受性結果と共にFig. 1に示す。19型と23型に分類される株がそれぞれ13株(37.1%)、11株(31.4%)と最も多く70%を占め、他に6型が4株(11.4%)、9型、15型、29型がそれぞれ1株(2.9%)、14型、18型がそれぞれ2株(5.7%)であった。また、ペニシリン耐性菌(PRSP)は6型のみ、ペニシリン中等度耐性菌(PISP)の95.7%は19型と23型に認めた。

Table 1 Serotyping with the slide agglutination test

混合血清	単味血清								
混合1	1型	2型	3型	4型	5型				
混合2	6型	8型	9型	10型					
混合3	11型	12型	14型	15型	16型				
混合4	17型	18型	21型	22型					
混合5	20型	29型	31型	33型	34型	35型	47型		
混合6	23型	25型	28型	41型	46型				
混合7	27型	32型	36型	38型	39型				
混合8	7型	19型	24型	40型					



*: PCV7に含まれる血清型 -: 亜型がPCV7に含まれる血清型

Fig. 1 Serotype distribution with penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae*

Table 2 Difference in distribution of each susceptible strains of *S. pneumoniae* from different communities of Japan in 2007.

	PSSP	PISP	PRSP
宇野ら ⁴⁾	330 (26.1%)	466 (36.8%)	470 (37.1%)
根室市立病院	300 (45.9%)	345 (52.8%)	9 (1.4%)

考 察

2010年、本邦においても7価肺炎球菌結合型ワクチンが発売された。7価とは90種以上あるとされる肺炎球菌莢膜血清型のうち、血清型4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23Fの7種の莢膜多糖体抗原を用いたワクチンであることを示す。

既に10年の使用実績がある欧米からは、ワクチンに含まれる血清型の肺炎球菌保菌率の減少が報告される一方、ワクチンに含まれない血清型の肺炎球菌株保菌率の増加²⁾やインフルエンザ菌による難治性中耳炎の増加³⁾、即ち菌の交替(replacement)が報告されるようになった。今後、本邦でもワクチン接種が一般化するに従い、検出菌の血清型分布が変化する可能性が高い。この変化を追跡するためには、PCV7が普及する前、即ち現時点における肺炎球菌の血清型分布を知っておくことは重要である。本邦の肺炎球菌血清型分布に関してはHotomiらが詳細に報告している¹⁾。しかし、Table 2⁴⁾に示す如く肺炎球菌の薬剤耐性化率は地域により大きく異なる。それと同様に、血清型分布にも地域差がみられる可能性がある。この地域差の有無を明らかとするため、われわれは北海道根室市において小児急性中耳炎患者(中等症以上)の鼻咽腔から分離された肺炎球菌の血清型分布を調査した。

検討の結果、Hotomiらの報告同様、血清型19および23が多く分離され、6型がこれらに続いた。14型の検出は比較的少なかったが、何れの血清型の頻度とも従来の報告と有意な差を認めなかった(カイ二乗検定, Fisher直接確率検定)。

今回、われわれは血清型の同定が簡便なスライド凝集法により血清型を決定した。この方法は血清型検査として最も一般的な莢膜膨化試験と比較

すると、安価であること、判定が容易で時間を要しないことが利点であり、特別な施設以外でも血清型を知ることが可能である⁵⁾。しかし、最大の欠点はこの方法では血清型の亜型を判定できない点である。米国ではワクチンに含まれない19A型がワクチン血清型である19F型に置き換わるように増加したことが報告された⁶⁾。この19A型は抗菌薬感受性が低いため難治性中耳炎を招くことから臨床的に重要な血清型の交替現象として注意が必要である。しかし、亜型の判定ができないスライド凝集法では捉えることのできない変化である。

Hotomiらの報告では19F型と23F型にPRSPおよびPISP株が最も多く、次に14, 6A, 6B型で耐性株が多く分布していた。根室市立病院ではPRSPの検出率が他の地域に比べて低いためPRSPを指標に比較することはできなかったが、PISPまで含めると、19および23型に耐性株が多く分布する傾向に差はなかった。

根室市立病院における上咽頭分離菌のワクチンカバー率は亜型が不明のため正確に算出することはできなかった。そこで、亜型の分布がHotomiらの報告と同じと仮定しワクチンカバー率を計算すると、6B型は2.22株、9V型は0.67株、19F型が11.33株、23F型が8.94株となるので、ワクチンカバー率は66.2%と推定され、概ねHotomiらの結果(60.6%)と一致した。

今回、肺炎球菌血清型の検討では、明らかな地域差を観察することはできなかった。各地域における血清型分布状況に関する報告は少ないため、今回の結果がどの地域にもあてはまるか否かの結論は今後の検討を待たなければならない。また、スライド凝集法による肺炎球菌血清型検査は亜型の検出ができないため、本邦でも今後観察されることが予想される亜型間の分布変化の観察には不向きであることが改めて示された。しかし、実施が簡便であるため施設を限定せずにデータの収集が可能である点は重要な利点であり、この点を活かすことにより各地域における血清型分布の変化

をモニターする一次手段としては有効な方法であろうと考えられた。

ま と め

1. 北海道根室市立病院にて中等症以上の急性中耳炎と診断された小児36名の上咽頭から分離された肺炎球菌株の莢膜血清型をスライド凝集法により判定した。
2. 19型, 23型, 6型が多い点, 19型と23型に薬剤耐性株が多い点が過去の報告と一致し, 血清型分布の地域差を明らかにすることはできなかった。
3. スライド凝集法は亜型を検出することができないが施設を選ばず施行可能であり, 地域間の血清型分布の比較やPCV7導入前後の血清型分布の変化をモニターする一次手段として有効であると考えられた。

文 献

- 1) Hotomi M, Billal DS, Kamide Y, et al : Serotype distribution and penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates from middle ear fluids of pediatric patients with acute otitis media in Japan, *J Clin Microbiol* 46 : 3808-3810, 2008.
- 2) Eskola J, Kilpi T, Palmu A, et al : Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media, *N Engl J Med* 344 : 403-409, 2001.

- 3) Brunton S : Current face of acute otitis media : microbiology and prevalence resulting from widespread use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine, *Clin Ther* 28 : 118-123, 2006.
- 4) 宇野芳史 : 小児上気道感染症患児の鼻咽腔から検出された肺炎球菌の薬剤感受性の変化, *小児耳鼻咽喉科* 30 : 232-247, 2009.
- 5) 藤本秀士, 小島夫美子, 中上佳子, et al : スライド凝集法及び免疫ドットプロット法による肺炎球菌莢膜型別の試み, *九州大学医学部保健学科紀要* : 39-45, 2004.
- 6) Pichichero ME, Casey JR : Emergence of a multiresistant serotype 19A pneumococcal strain not included in the 7-valent conjugate vaccine as an otopathogen in children, *JAMA* 298 : 1772-1778, 2007.

連絡先 : 林 達哉

〒078-8510

北海道旭川市緑が丘東2条1-1-1

旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

TEL 0166-68-2554 FAX 0166-68-2559

E-mail thayashi@asahikawa-med.ac.jp