

病原性の明確な肺炎球菌の抗菌物質感受性と血清型別

松本慶蔵・渡辺貴和雄・鈴木 寛・宇塚良夫・岩崎温子

長崎大学熱帯医学研究所臨床部門, 内科

(昭和 52 年 7 月 5 日受付)

はじめに

呼吸器感染症の起炎菌としての肺炎球菌は1971~1976年にわたる東北大学第一内科, 長崎大学熱研内科における年次の成績¹⁾では 20~30% を占め, 依然として重要な位置にある。

しかし本菌が PC を始めとした抗生物質に高度感受性であるところから, 治療に極めて反応し易い病原菌とみなされ, 他の病原菌に比し軽視されてきた感がつよい。

最近, 小栗²⁾, 柳瀬³⁾らは相次いで臨床分離の本菌の抗生物質感受性を報告し, CP, PC および Macrolide 系抗生物質に対する耐性菌が出現したことを報告し注意を喚起した。

私共はその重要性に鑑み, 呼吸器感染症の起炎菌と確定した肺炎球菌について, 最近開発された抗生物質と化学療法剤を加えてその感受性を明らかにし, さらに肺炎球菌の血清型別の現況を把握することを目的として種々検討し, 興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

1. 細菌: 慢性気管支炎, 慢性細気管支炎, 気管支拡張症等の慢性呼吸器感染症を中心とし急性呼吸器感染症をも含む 26 症例の喀痰から $\geq 10^7$ /ml に分離された病原性の明確な肺炎球菌 64 株を研究対象とした。ただし同一症例の同一急性増悪期に 2 回以上得られた肺炎球菌は最初の病原菌 1 株だけを検討の対象とした。

2. 抗菌物質: PCG, ABPC, AMPC, Piperacillin, Ticarcillin, PC-904, CER, CEZ, CEX, CFX, CP, TP, DOTC, EM, JM, CLDM の 16 抗生物質と ST 合剤の計 17 薬剤であるが, 薬剤と被検菌数を Table 1 に示す。

3. 薬剤感受性の測定: 5% 馬脱纖維素血液加 HI 培地を用い化学療法学会標準法に準じて MIC を測定し薬剤感受性を検討した。接種菌液は 37°C 18 時間, 5% 馬脱纖維素血液加 HI broth にて肺炎球菌を培養後, 同培地にて 100 倍に希釈したものを用いた。接種は多目的タイピングアパラーツ D 型を用い点状接種法にて行なった。

4. 肺炎球菌型別法: 肺炎球菌の同定は菌形態, コロニーの性状, Optochin disk 感受性の 3 者によって行なった。さらに新鮮分離株を用い, Difco 社製肺炎球菌抗

血清 (I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI 型の 11 型) による膨化試験により型別した。

成績

1. 抗菌物質に対する感受性の分布 (Table 1)

i) PC 系抗生物質に対する感受性分布

PCG, ABPC, AMPC, Piperacillin, Ticarcillin, PC-904 の 6 剤について検討した成績を Fig. 1 に示す。すなわち AMPC, PC-904 は共に 0.013 μ g/ml にピークをもち 0.006~0.05 μ g/ml の幅をもつ高峰性の山が中心で大半を占め, 高度感受性分布を示している。これらから低感受性側に AMPC では 0.2 μ g/ml に PC-904 では 1.56 μ g/ml に各々 1 株ずつの分布がみられる。この両者は同一菌株の成績であった。

次に PCG, ABPC, Piperacillin の 3 剤は共に 0.025 μ g/ml にピークをもち前記群同様の 0.006~0.05 μ g/ml の幅をもつ大きな山が中心で大半を占める。各 1 株ずつが 0.39~0.78 μ g/ml に分布するがこれらの細菌は同一菌株であり先の AMPC, PC-904 低感受性菌と同一であった。

Ticarcillin は PC 系抗生物質中最も感受性が低いほうに分布し, 0.2, 0.39, 0.78 μ g/ml に平坦なピークをもつ 1 峰性分布としてみられるが, 本剤に関しては以上の分布から離れた低感受性株はみられていない。

以上から, PC 系各抗生物質に対する肺炎球菌の感受性は現在も高いが, 上記のように 1 菌株だけ MIC 1 μ g/ml に達しない極めて軽度の耐性菌がみとめられている。

ii) Cephalosporin 系抗生物質に対する感受性分布

CER, CEZ, CEX, CFX の 4 剤について検討した成績を Fig. 2 に示す。感受性の高い順に並べると CER, CEZ, CFX, CEX であり, CER 0.025 μ g/ml; CEZ 0.1 μ g/ml; CFX 0.78~1.56 μ g/ml; CEX 3.13 μ g/ml にそれぞれピークをもつ 1 峰性の山が主体で, CER の感受性は CEX のそれよりも 125 倍高い。また最低感受性菌は CER 0.2 μ g/ml; CEZ 1.56 μ g/ml; CFX 6.25 μ g/ml, CEX 6.25 μ g/ml であり, MIC 主体分布の順に等しい。CEZ 1.56 μ g/ml の MIC を示した菌は PC 系抗生物質の項で示した軽度耐性菌と同一菌株であった。

iii) Macrolide, CLDM に対する感受性分布

Table 1 Distribution of MICs for antibiotics

Drugs	Strains	(μg/ml)																
		≤0.003	.006	.013	.025	.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200
PCG	61	1.6%	6.6	29.5	54.1	6.6			1.6									
ABPC	63			25.4	63.5	9.5				1.6								
AMPC	59	10.2		22	33.9	30.5	1.7											
Piperacillin	63		1.6	25.4	62	6.3		3.1		1.6								
PC-904	59	8.4	18.6	39	28.8	3.3					1.7							
Ticarcillin	60					1.6	1.6	28.3	30	36.6	1.6							
CER	59	5	1.7	8.5	62.7	15.3	5	1.7										
CEX	59					3.4		1.7	1.7	5.1	30.5	54.2	3.4					
CEZ	63			3.1*	1.6	35	49.2	6.3	3.1		1.6							
CFX	61				1.6		1.6	4.9	9.8	37.7	39.3	1.6	3.3					
DOTC	60		3.3	1.6	1.6	5	11.6	6.6	5	1.6	18.3	18.3	13.3	13.3				
CP	61							1.6*	4.9	13.1	16.4	6.5	11.5	42.6	3.3			
TP	64							3.1*	3.1	9.4	12.5	14			1.5	4.7	20.3	31.2
EM	62		1.6		8	25.8	48.3	14.5		1.6								
CLDM	62	1.6	8.1	4.8	29	56.5												
JM	62			1.6	11.3	19.4	25.8	41.9										
ST	56								1.8	14.3	12.5	28.6	10.7	23.2	8.9			

* : ≤

Fig. 1 Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* against penicillins

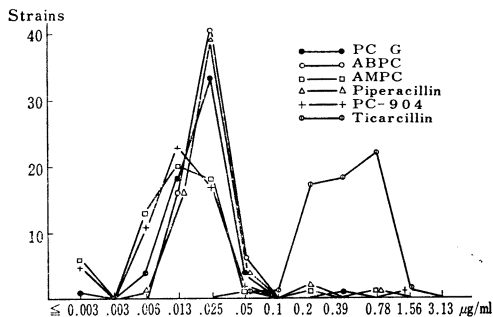
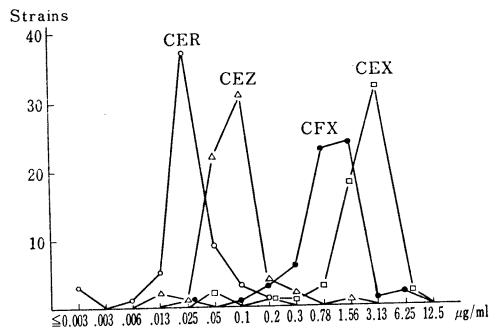
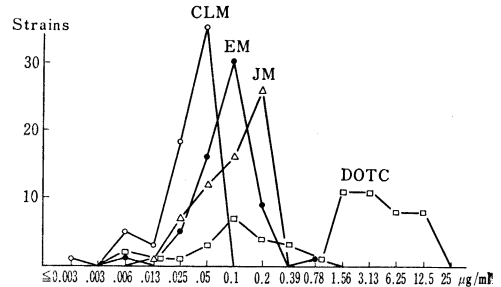


Fig. 2 Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* against cephalosporin C



EM, JM, CLDM について検討した成績を Fig. 3 に示す。すなわち CLDM, EM, JM は各々 0.025 μg/ml, 0.1 μg/ml, 0.2 μg/ml にピークをもつ著明な 1 峰性の

Fig. 3 Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* against DOTC and macrolides



山が分布の中心をなし集中して認められる。EM に 1 株だけが 0.78 μg/ml の MIC を示しているが耐性菌とは決定し難いと思われる。

iv) DOTC に対する感受性分布

検討した成績をiiiと共に Fig. 3 に示してある。すなわち DOTC 感受性は明らかに大きく 2 群は分かれており、1 群は 0.1 μg/ml に低いピークをもち幅広く (0.06~0.78 μg/ml) 分布するが、他の 1 群は 1.56~12.5 μg/ml に広く丘状に分布している。前者は感受性菌群で後者は耐性菌群と考えられるが耐性菌の占める率は 62.3% (38 株) にも達している。

v) CP, TP に対する感受性分布

2 剤について検討した成績を Fig. 4 に示す。CP, TP に対する感受性分布は明らかに両者共に大きく 2 群に分かれている。すなわち CP では 1.56 μg/ml にピーク

Fig. 4 Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* against CP, TP and ST combination product

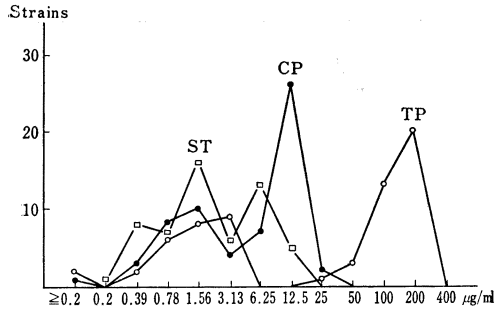
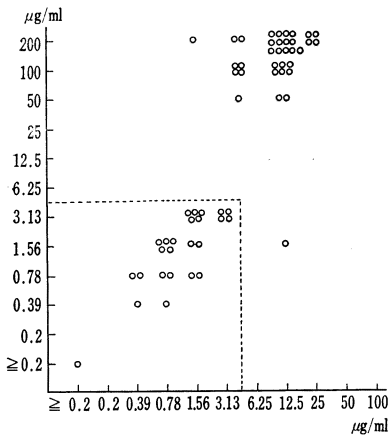


Fig. 5 MIC Cirrelogram of CP and TP against clinically isolated *Streptococcus pneumoniae*



をもつ低峰群と 12.5 $\mu\text{g/ml}$ にピークをもつ高峰群に分かれ、最低感受性は図示のように 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。TP では 0.78, 1.56, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に平坦なピークをもつ低峰群と最低感受性が 200 $\mu\text{g/ml}$ の高峰群に分かれている。両抗生物質に対し後者群は耐性獲得群と考えられるがその各々の占める率は CP 57.4%, TP 57.8% とほぼ同率であった。

CP と TP の感受性相関について検討した成績が Fig. 5 である。枠内は感受性菌に属するものの分布であり、感受性菌群内においては両者感受性は MIC でみてほぼ等値であるが、耐性化した菌株は 2 菌をのぞき、大半が CP 感受性が 25 $\mu\text{g/ml}$ 以下にあるに対し TP では 50~200 $\mu\text{g/ml}$ と対応しており、TP に対する耐性度が CP に比し高いことが確認された。

vi) ST 合剤に対する感受性分布

ST 合剤について検討した成績は前項と共に Fig. 4 に示してある。すなわち 0.2~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に幅広く分布し大きなピークは 1.56 $\mu\text{g/ml}$ と 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に認められている (なお ST 合剤は既に発表した私共の方法に従

Table 2 MICs against one strain isolated from sputum of patient with malignant lymphoma

Drugs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
P C G	0.39
A B P C	0.78
A M P C	0.2
Piperacillin	0.78
PC-904	1.56
C E R	0.1
C E X	3.13
C E Z	1.56
C F X	3.13
D O T C	6.25
C P	1.56
T P	0.78
E M	0.05
C L D M	0.013
J M	0.013
S T	1.56

って作製した)。後者のピークが耐性菌か否かについては対比すべき適切な資料がなく不明と考えている。

2. 耐性菌に関する検討

i) 悪性淋巴瘤に合併した肺炎から分離された肺炎球菌

Table 2 はこの肺炎球菌の抗菌物質感受性のまとめである。この 1 株だけが PC 系抗生物質に最低感受性であり、CEZ にも 1.56 $\mu\text{g/ml}$ と最低感受性で DOTC にも表示のように耐性菌であった。ただし本菌は CEZ 投与により消失した。本菌出現前は ABPC, AMPC を投与されており、長期にわたり副腎皮質ホルモンが投与されていた。

ii) CP, TP, DOTC 3 剤耐性菌について

CP と TP 間に耐性の完全一致がみられなかった。CP 6.25 $\mu\text{g/ml}$; TP 25 $\mu\text{g/ml}$; DOTC 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC をもつ菌を 3 剤耐性菌として検討すると、被検 57 菌中 30 株がこれに当り 52.6% にも達する。DOTC 耐性で CP や TP に耐性化していないものは 8 株 (14%) であった。逆に TP に耐性で DOTC に感受性の菌数は 4 株にすぎなかった。これを要するに CP, TP のような Chloramphenicol 系抗生物質と DOTC 耐性は肺炎球菌において共上りする傾向がよいことを示していると解されよう。

iii) 耐性菌出現と症例の関係について

27 症例の経過中繰返しの急性増悪にさいし 2 回以上本菌を病原菌として分離し得た症例につき、耐性菌出現の様相を検討すると、気管支拡張症の重症 2 症例におい

て耐性菌の連続出現がみられたが、その他の症例では耐性菌は感受性菌出現の中間期に見出され、特定の抗生物質との関連も確定し得なかった。ただしこれらの耐性菌も PC 系, Cephalosporin C 系抗生物質の投与により消失している。

3. 血清型別について

54菌種にき型別を行なったが5株だけ可能ですべて第Ⅲ型に型別し得た。残り49株は型別不可能であった。第Ⅲ型5株は前記のすべての抗生物質に感受性であった。

考 察

肺炎球菌は現在なお細菌性肺炎の最も重要な起炎菌⁴⁾であり、慢性呼吸器感染症において急性増悪を惹起する主要な細菌であることは私共も既に型告したが諸外国の報告⁵⁾もこれと一致している。本菌の抗生物質耐性について HANSMAN 等⁶⁾の報告が1967年にあり注目されたが、最近小栗等²⁾は中検で分離した本菌の抗生物質感受性の年次の追求を行ない、柳瀬ら³⁾は小児科において患児の咽頭から分離された本菌の抗生物質感受性を検討し、両者共に CP, TC, Macrolide に対する耐性菌の出現を指摘した。この報告は上記の理由により感染症学的にも化学療法上極めて重要なものであるが、これらの研究の対象となった肺炎球菌は臨床分離菌であり起炎菌に止まらず口腔内常在細菌叢も含まれているものと推測される。

そこで私共は①最近における呼吸器由来の病原性の明白な肺炎球菌に限定して検討することとし、②長崎地区と東京地区における比較を行ない地域特性があるか否かを吟味し、③新抗生物質も加えて検討を試み、④血清型別の現況の把握と型と感受性の関係を明らかにすることの4点を基本として検討した。

呼吸器病原肺炎球菌は PC 系抗生物質に対してはこれまでの報告と等しく、1株をのぞき新抗生物質である Piperacillin や PC-904 も含めてすべて高度感受性であった。Ticarcillin は肺炎球菌に対する抗菌力が上記の6 PC 剤中最も低く他の PC 剤と対照的であった。Ticarcillin を除く5薬剤に達し 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC を示した菌は1株だけでいずれも MIC は 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 内に入る。ただしこの菌は悪性リンパ腫に合併した肺炎症例で ABPC, AMPC の頻回使用中に得られた起炎菌であることが注目される。治療上困難のない菌ではあるが、耐性化の今後の発展には厳重な監視が必要である。Cephalosporin C 系抗生物質に対する感受性は PC 同様に耐性菌はほとんどないといつて良い。しかしこの系の4剤の感受性には著しいずれがみられた。CER は感受性の面で CEZ より4倍すぐれ、CEZ のそれは CFX よりも8~16倍すぐれ、CEX は CEZ より128倍劣る。この成

績が単純にそのまま臨床の場で反映されるとは考え難いが、大きな影響をもつと考えるのは当然であろう。Cephalosporin C 系抗生物質中 PC と比肩し得る感受性は CER だけであり、CER が現在なお肺炎球菌に高い抗菌力をもつことは注目に値する。

Macrolide 系抗生物質について 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性菌は認められず、この点小栗らの報告と明白に異なる。この原因として私共の対象が呼吸器病原菌に限定したためか或いは地域特性かのいずれかがあげられようが、柳瀬の報告が小児気道感染症由来のものであることを勘案すると地域特性の可能性が高い。CLDM に対する感受性は EM, JM よりすぐれているが、小栗らも LCM に対しての耐性菌を認めず Macrolide との交叉もないことを指摘していることと考え合せ興味がある。

TC 系抗生物質は DOTC だけしか検討しなかったが明白な耐性菌群を認め、その耐性菌率は 62.3% と高率であり、同時に TC, CP, TP 3剤耐性菌も 52.6% に達し、この点小栗らと一致した。しかも TP の耐性化は CP のそれに比し高度である。

肺炎球菌の薬剤耐性機構について CP では Chloramphenicol acetyl transferase⁷⁾ によるものとされるが、さらに Macrolide における耐性機構の解明が待たれる。

最近注目される話題として肺炎球菌の Optochin 耐性菌の出現がある。私共は Optochin 感受性を本菌の同定の1つとしているために、こういう肺炎球菌の存在に気付いていなかったので今後この地方における Optochin 耐性菌の有無について明らかにしたいと考えている。

さて肺炎球菌性肺炎の起炎菌が論じられる場合、抗生物質の開発以前には病原性を反映するものとして、またワクチン療法の基礎を得るものとして肺炎球菌の血清型別⁸⁾は甚だ重要であった。しかし今日こういう検討が少なくなり今日の動向を把握し得ない。私共はこの点を明らかにするためにも血清型別を試み少数の第Ⅲ型だけを型別し得た。この成績が果して正確に現状を把握し得たか否かはなお充分ではなく、血清型の決定法が従来のように膨化試験にだけよるべきものかも含め今後検討を重ねたいと考えている。

以上、呼吸器感染症の起炎菌としての肺炎球菌の重要性に鑑み、臨床的・疫学的究明のための型別の明確化と共に抗生物質耐性化の実態をますます明らかにすること、さらに耐性機構の解明の重要性を強調しておきたい。

結 論

慢性呼吸器感染症の急性増悪、急性呼吸器感染症の喀痰から $\geq 10^7/\text{ml}$ に分離された病原性の明確な肺炎球菌 64 株につき、抗生物質 16 種、ST 合剤、計 17 薬剤に対する感受性と血清型別を検討し、次の結果を得た。

1. PC 系抗生物質に臨床上留意すべき耐性菌を認めなかった。感受性の高さは次の順である。

AMPC≡PC-904≧PCG≡ABPC≡Piperacillin>
Ticarcillin

2. Cephalosporin C 系抗生物質に臨床上留意すべき耐性菌を認めなかった。感受性の高さは次の順である。

CER>CEZ>CFX>CEX

CER 感受性域は ABPC のそれに等しい。

3. CP, TP, DOTC に耐性菌が認められ、その耐性菌出現率は CP 57.4%, TP 57.8%, DOTC 62.3%で、上記3剤耐性菌の出現率は 52.6% に達する。

4. CLDM, EM, JM に耐性菌はなく、感受性の高さは次の順である。

DLDM>EM≧JM

5. ST 合剤の耐性菌の存在は明確でなかった。

6. 54菌株につき血清型別を行ない、5株だけ第Ⅲ型に型別され他は型別不能であった。

文 献

1) 松本慶蔵：第74回内科学会総会シンポジウム細菌感染症の化学療法 追加発言。東京，1977

2) 小栗豊子，小酒井望：臨床材料から分離された肺炎球菌の抗生物質感受性。Chemotherapy 25：633～634，1977

3) 柳瀬義男，生方公子，紺野昌俊，藤井良知：小児の急性気道感染症における肺炎球菌検出の現況と薬剤感受性（第3報）。第25回日本化学療法学会発表，東京，1977

4) 松本慶蔵，宇塚良夫，野口行雄，今岡 誠，本田一陽，木村久男，西岡きよ：最近の肺炎107例の解析。日本医事新報 No.2699：27～31，1976

5) DAVIDSON, M. ; B. TEMPEST, & D. L. PALMER: Bacteriologic diagnosis of acute pneumonia. J. A. M. A. 235 : 158～163, 1976

6) HANSMAN, D. & G. ANDREWS: Hospital infection with pneumococci resistant to tetracycline. Med. J. Austr. 1 : 498, 1967

7) 生方公子，高橋洋子，紺野昌俊：肺炎球菌によるChloramphenicolの不活化。Chemotherapy 24：1459～1460，1976

8) FIALA, M. : A study of the combined role of viruses, Mycoplasmas and bacteria in adult pneumonia. Am. J. Med. Sci. 257 : 44～51, 1969

SUSCEPTIBILITY TO ANTIBIOTICS AND SEROTYPE OF RESPIRATORY PATHOGENIC *STREPTOCOCCUS* *PNEUMONIAE*

KEIZO MATSUMOTO, KIWAO WATANABE, HIROSHI SUZUKI,

YOSHIO UZUKA and HARUKO IWASAKI

Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine,
Nagasaki University

Streptococcus pneumoniae is, even now, important pathogen of respiratory infections. It annually forms 20 to 30 per cent of the causative bacteria of respiratory infections determined by our quantitative sputum culture method. And recently resistant strains against some antibiotics were reported. Therefore 64 strains of respiratory pathogenic *Streptococcus pneumoniae* isolated more than 10⁷ ml from sputa were studied on the susceptibility to 17 antibacterial agents and serotype, with following results:

1. There was no noticeable resistant strain against penicillins. Antibacterial activities of penicillins were in order Amoxycillin≡PC-904≧Benzylpenicillin≡Ampicillin≡Piperacillin>Ticarcillin.

2. There was no resistant strains against cephalosporins. Antibacterial activities were Cephaloridine>Cefazolin>Cefoxitin<Cephalexin.

3. Resistant strains against Chloramphenicol, Thiamphenicol and Doxycycline were respectively 57.4%, 57.8% and 62.3%. 52.6% of 64 strains were resistant against all of them.

4. There was no resistant strain against Clindamycin, Erythromycin and Josamycin. Antibacterial activities were Clindamycin>Erythromycin≧Josamycin.

5. Serotypes of 54 strains were examined, and only 5 strains were type III and the others were non-typable.