

## 耳鼻咽喉科外来におけるブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の 検出率と抗微生物薬感受性について

栗山一夫・馬場廣太郎

奥沢裕二・古内一郎

独協医科大学耳鼻咽喉科

(昭和53年11月10日受付)

1976年12月から1977年11月までの1カ年間独協医科大学耳鼻咽喉科外来において検出し得た細菌のうち、緑膿菌を除くブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の占める比率と抗微生物薬感受性について検討した。

その結果、1) 非発酵菌の検出率は、咽頭(21.7%)、耳漏(13.1%)であった。

2) 検出菌種は咽頭、中耳ともに *Acinetobacter* sp. が最も多く、次いで *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Alcaligenes* sp. (耳漏からは検出せず)の順であった。

3) 薬剤感受性はいずれの菌種においても、TC系のminocycline(MINO), doxycycline(DOXY)に高い感受性を示し、aminoglycosides group, erythromycin(EM)がこれに次いだ。

PC系, cephalixin(CEX)についてはほとんど感受性が認められなかった。

### 緒 言

これまでは感染症という概念が、やや極言するならば、グラム陽性球菌(GPC)を主体とし成立していたものであることは従来の微生物学成書をひらいてみれば、ブドウ球菌やレンサ球菌を中核として詳述されていることから明らかである。

しかし最近になってグラム陰性桿菌(GNR)、それも病原菌として確固たる地位を占めている大腸菌群などではなく、従来は非病原性、もしくは弱病原性とされていた腸内細菌科(Family *Enterobacteriaceae*)に含まれるいくつかの属(*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* etc.)やブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌(glucose non-fermenting GNR, non-F GNR と略)による感染症の報告が各科領域で数多くみられるようになってきている。

ところでこのような感染形態はいわゆる opportunistic infection で表現されるものであり、一般に何らかの基礎疾患を有する宿主において感染に対する抵抗性の減弱がみられた場合、これらの弱毒菌が opportunists として病原性を発揮することであるとされている。

しかし1976年12月から1977年11月までの1カ年間においてわれわれの経験した症例群では、かならずしもこういった範疇に入るものばかりでなく、何らかの基礎疾患ももたず、全身状態も比較的良好と考えられるにもかかわらず、これら弱病原性菌が病巣から多量に検出される感染症例がかなりの数において認められた。

そこで今回われわれの外来における感染性疾患の検出

菌を検索し、それらのうちいわゆる opportunistic pathogens のなかでも現在広く問題提起のなされている non-F GNR の占める比率およびこれらに対する薬剤感受性について検討した。

### 対象症例

独協医科大学耳鼻咽喉科外来において、1976年12月から1977年11月までの1カ年間に、急性炎症または慢性疾患急性増悪症により受診したもののうち病巣から細菌の分離を行ったもの528例(年齢2~67才、男子213例、女子315例)について検討した。

対象疾患の内訳は化膿性中耳炎および咽頭炎である。

### 被検材料および実験方法

#### 1) 被検材料の採取

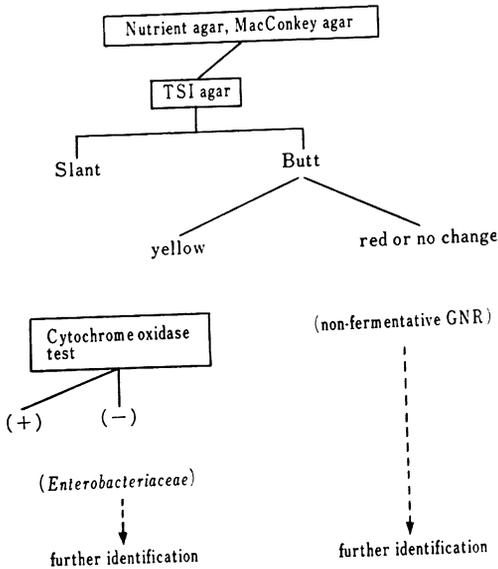
対象患者については、検体採取前48時間は何らの与薬もなされていないのを確認のうえ滅菌綿棒を用いて採取した。

採取にあたって、耳漏は外耳道を0.05%ヒピテン液で清拭のちethylene oxide gas 滅菌を施した耳鏡を挿入して採取し、咽頭粘液は滅菌精製水で充分含嗽させてから扁桃上窩から採取した。

採取した検体はブレインハートインフュージョン寒天培地(栄研)およびマッコンキー寒天培地(栄研)に塗抹し、37°C 20時間培養を行った。それと同時に colony counting による菌量測定を行い、 $10^6$  cells/ml 以上検出したものを検討対象とした。

#### 2) ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の同定

Fig. 1 Screening of GNR



これらの菌の同定は主に坂崎<sup>1)</sup>の方法に準拠しながら五島<sup>2)</sup>, BERGEY's Manual<sup>3)</sup>, MACFADDIN<sup>4)</sup>, COWAN<sup>5)</sup>, BAILEY ら<sup>6)</sup>の記述を参考にして行った。

すなわち Fig. 1 のようにしてふるい分けを行い, non-F GNR としたものについては Fig. 2 による大まかな同定を行ったうえ, さらにそれぞれの細菌についての特有の生化学的性状の検討を API system (Analytab Products Inc.) を主体とする簡易同定法により行った。

3) 薬剤感受性測定

a) 使用薬剤

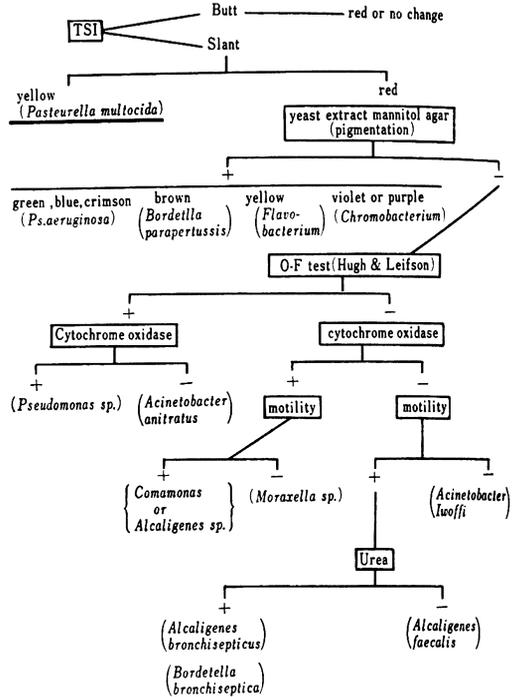
Ampicillin(ABPC), Carbenicillin(CBPC), Cephalexin (CEX), Erythromycin (EM), Doxycycline (DOXY), Minocycline (MINO), Dibekacin (DKB), Gentamicin (GM), Amikacin (AMK) の 9 種で, すべて力価の明瞭なものを使用した。

b) 測定方法

日本化学療法学会標準法に準じて最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

すなわち増菌用培地である Trypticase Soy Broth

Fig. 2 Identification of non-fermentative Enterobacteriaceae-like bacteria



(BBL) による 37°C 18 時間培養菌について GPC, GNR とも 10<sup>6</sup> cells/ml としたものをハートインヒュジョン寒天培地 (栄研) を測定用培地として, 寒天希釈法により 37°C 18 時間培養により感受性値測定を行った。

成 績

1) 検出率

non-F GNR のうち緑膿菌はその診断ならびに治療の面で, すでに多くの報告がなされているので除外した。

検出菌全体に対するいわゆる強毒菌と弱毒菌の比率は前者のほうがはるかに高率で, 咽頭において 78.3%, 耳漏では 86.9% を示した (Table 1)。

つぎに検出された non-F GNR の内訳であるが, 咽頭粘液, 耳漏ともに Acinetobacter sp. が最も多く, 次いで Pseudomonas sp., Flavobacterium sp. の順に検出された。なお Alcaligenes sp. は咽頭において 1 例の検出をみたが, 耳漏からは検出されなかった (Table

Table 1 Frequency of detected bacteria and their lesions

Lesion	Bacteria	Number of strains	Percentage (%)
throat	usual pathogens	288	78.3
	non-fermentative GNR	80	21.7
ear	usual pathogens	139	86.9
	non-fermentative GNR	21	13.1

Table 2 Nonfermentative GNR isolated from lesions

Lesion	Bacteria	Number of strains	
throat (80 strains)	<i>Acinetobacter</i> sp.	55	
	<i>Pseudomonas</i> *	<i>Ps. maltophilia</i>	10
		<i>Ps. putida</i>	7
		<i>Ps. cepacia</i>	3
		untypable	1
	<i>Flavobacterium</i> sp.	3	
<i>Alcaligenes</i> sp.	1		
ear (21 strains)	<i>Acinetobacter</i> sp.	12	
	<i>Pseudomonas</i> *	<i>Ps. maltophilia</i>	3
		<i>Ps. putida</i>	3
		<i>Ps. cepacia</i>	2
<i>Flavobacterium</i> sp.	1		

\* *Ps. aeruginosa* exceptedTable 3 Susceptibility of *Acinetobacter* sp.

Lesion	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
		$\leq 0.20$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$\geq 100$
throat (55 strains)	ABPC							2	11	34	8
	CBPC							2	13	31	9
	CEX										55
	EM					7	29	15	3		1
	DOTC	25	17	10	2		1				
	MINO	43	10	1	1						
	DKB			1	18	28	6	2			
	GM		1	12	25	13	1	2			1
	AMK				18	24	12	1			
ear (12 strains)	ABPC								4	7	1
	CBPC								5	5	2
	CEX										12
	EM						6	3	2	1	
	DOTC	8	3	1							
	MINO	9	2		1						
	DKB				3	6	2				
	GM		1	3	5	1	2				
	AMK			1	4	5	2				

2).

2) 検出 non-F GNR に対する薬剤感受性

i) *Acinetobacter* sp.

TC 系薬剤である MINO, DOXY に最も高い感受性が認められた。次いで aminoglycosides の DKB, GM, AMK に中等度感受性がみられたが, PC 系および CEX にはほとんど感受性が認められず, EM もまた弱い抗菌力を示したにすぎなかった (Table 3)。

ii) *Pseudomonas* sp.

*Ps. maltophilia* は TC 系, ことに MINO に対して比較的高い感受性がみられたが, *Ps. putida* では TC 系よりも aminoglycosides のほうが, 1~2 希釈段階小さい MIC を示した。

*Ps. cepacia* は症例数が少ないため, 各薬剤についての抗菌力の検討は差し控える。

なお *Pseudomonas* sp. はいずれの菌株も PC 系および CEX にはほとんど感受性が認められなかった (Table 4, 5, 6)。

Table 4 Susceptibility of *Ps. maltophilia*

Lesion	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
		$\leq 0.20$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$\geq 100$
throat (10 strains)	ABPC										10
	CBPC									1	9
	CEX										10
	EM								1	2	7
	DOTC		2	1	4	3					
	MINO	2	5	1	1		1				
	DKB			1				1	1	2	5
	GM									1	9
	AMK					1		1			8
	ear (3 strains)	ABPC									
CBPC								1			2
CEX											3
EM											3
DOTC				1	2						
MINO				3							
DKB				1							2
GM									1		2
AMK											3

Table 5 Susceptibility of *Ps. putida*

Lesion	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
		$\leq 0.20$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$\geq 100$
throat (7 strains)	ABPC										7
	CBPC										7
	CEX										7
	EM								1		6
	DOTC				1	4	2				
	MINO				3	1	3				
	DKB		1	3	2		1				
	GM			1	4	1		1			
	AMK			4	2	1					
ear (3 strains)	ABPC										3
	CBPC										3
	CEX										3
	EM								1		2
	DOTC					3					
	MINO			1	2						
	DKB			1	2						
	GM				3						
	AMK		1	1	1						

Table 6 Susceptibility of *Ps. cepacia*

Lesion	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
		$\leq 0.20$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$\geq 100$
throat (3 strains)	ABPC										3
	CBPC								1		2
	CEX										3
	EM										3
	DOTC							2			1
	MINO					1	1			1	
	DKB										3
	GM								1		2
	AMK										3
	ear (2 strains)	ABPC									
CBPC											2
CEX											2
EM											2
DOTC										1	1
MINO						1		1			
DKB											2
GM											2
AMK											2

Table 7 Susceptibility of *Flavobacterium* sp.

Lesion	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
		$\leq 0.20$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$\geq 100$
throat (3 strains)	ABPC								1		2
	CBPC										3
	CEX									1	2
	EM		1		2						
	DOTC		1		1						
	MINO		2	1		1					
	GM									1	2
	AMK						1				2
	ear (1 strain)	ABPC									
CBPC											1
CEX											1
EM											1
DOTC					1						
MINO					1						
GM										1	
AMK											1

iii) *Flavobacterium* sp.

咽頭粘液から3例, 耳漏からは1例だけ検出された。これも検出例数が少ないので結論めいたことはさけるが, TC系とEMがほぼ等しい抗菌力を示したが, PC系, CEXにはどの株も高度耐性であった (Table 7)。

iv) *Alcaligenes* sp.

咽頭粘液から1例だけ検出された (Table 8)。

## 考 察

最近感染症の変遷は著しく, 従来のグラム陽性球菌に代ってグラム陰性桿菌による感染症の増加が目される

Table 8 Susceptibility of *Alcaligenes* sp.

Lesion	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
		$\leq 0.20$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$\geq 100$
throat (1 strain)	ABPC										1
	CBPC										1
	CEX										1
	EM							1			
	DOTC				1						
	MINO			1							
	DKB					1					
	GM										1
	AMK										1

ようになってきている<sup>10,11,12)</sup>。

耳鼻咽喉科領域でも近頃はグラム陽性球菌用抗微生物薬では症状の改善が認められない症例にしばしば遭遇することから、咽頭および耳漏から分離した non-F GNR について、従来のおよび強毒菌に対する比率と抗微生物薬感受性について検討してみた。

#### 1) 検出率について

Table 1 に示したように、われわれの検討した範囲では、依然としていわゆる強毒菌の検出が高率を占めている。

そこで文献の考察による比較検討を行うため、耳鼻咽喉科領域における類似文献を探してみたが、われわれの検索し得た範囲では non-F GNR について記載したものは見出だせなかった。

そこで全科から集められた清水<sup>13)</sup>の資料を参照することにより、non-F GNR が、いわゆる強毒菌に対して占める全般的な比率とわれわれの検出比率とを比較検討した。

また小栗の論文<sup>14)</sup>を参考にして全科領域の集成から得られた non-F GNR とわれわれの検出率との比較検討を行った。

まず強毒菌に対する比率であるが、清水の表<sup>13)</sup>によれば、昭和 50 年 1 月から 6 月までの東大中央検査部の (グラム陽性球菌) + (*E. coli*) の検出総数は 205 株である。つぎに表中のグラム陰性菌の中から腸内細菌科の弱毒菌と緑膿菌を除いた non-F GNR の株数は *Pseudomonas* sp. 5 株, *Acinetobacter* sp. 2 株, *Alcaligenes* sp. 1 株の計 8 株で、これは強毒株 205 株に対して 3.9% を占めるにすぎない。そこで表中に G(-) Rods とだけ記されているものを仮に上記以外の non-F GNR と考えて加算してみてもその率は 8.8% である。

いっぽう、われわれの場合は、咽頭、耳漏を合せた強毒株に対する non-F GNR の比率は 19.1% を示した。

このような検出比率の差をもたらした原因を考えてみると、いくつかの要因があると思われ、その解明にはさらに十分な検討を必要とするが、あえてその 1 つを推測するならば、東大中央検査部の data が全領域を対象としているのに対し、われわれの場合は扁桃や乳突蜂巣のようにその解剖学的形態が複雑多岐であるために細菌の滞留を容易にしている器官だけを対象としたためかとも考えられる。

つぎに non-F GNR の検出率についてであるが、小栗<sup>14)</sup>は 1974 年 7 月から 1976 年 12 月までの 2 年 5 か月間において検出した non-F GNR について詳細な研究成績を発表している。

そこでわれわれの検討した結果をこれに照し合せて比較してみた。

ただし小栗は耳漏についてはおそらく「膿・分泌液」の項に入れていることと思うので、比較の容易な咽頭粘液についてだけ検討することとした。

いっぽう小栗の検出菌種にはわれわれの検出できなかった「属」および「種」が含まれているので、同一検出菌についてだけ比較した。

われわれの成績は、対象菌種の検出頻度では小栗の成績に一致し、また各菌種の検出率も 2 菌種を除いて (*Ps. cepacia*; 0.5% 「小栗」, 3.8% 「栗山」, *Flavobacterium* sp.; 16.2% 「小栗」, 3.8% 「栗山」), ほぼ近似した数値を示した。

さて異なる 2 施設で、しかも大都市 (東京) と農村地域 (栃木県下都賀郡) といった環境差があるにもかかわらず、ほぼ似かよった成績が得られたことについて考えてみた。

そのために次の 3 つの文献を参照した。

すなわち大阪市立大学の東の論文<sup>15)</sup>と金沢大学の舟田の論文<sup>16)</sup>、それにアメリカ Delaware 大学の BAILEY & SCOTT の著書である。

それぞれ遠く離れた環境の研究者達であるが、3者とも検出率に若干の差はあるものの、いずれも  $\alpha$ -*Streptococcus*, *Neisseria*,  $\gamma$ -*Streptococcus* を咽頭の固定的菌叢としてあげており、しかもこれらはいずれも弱病原性菌である。

また東<sup>15)</sup>は感染型気管支喘息患者と健康者の throat swab から分離した細菌を年間を通じて観察した結果、感染型喘息患者においては  $\beta$  溶連菌の有意の変動が認められるが、その他の細菌については変動の有意差はみられなかったと報告している。

さらに舟田<sup>16)</sup>は健康成人の咽頭好気性菌について検討しているが、 $\beta$ -*Streptococcus*, *Diplococcus pneumoniae* のような病原菌は、健康人においてはまったく検出されないか、検出されても低率であったと記述している。

以上のことからみて、これはあくまで推論であるが、咽頭では病原性の強い細菌はその通過変動が激しいが弱病原性菌というものは一定のバランスを保っての暫住住が高く、そのため異なった場所において検出しても、その data には比較的共通性があるのではないかと考える。

## 2) 薬剤感受性について

どの検出菌種についても、だいたい同じような感受性傾向が認められた。すなわち MINO, DOXY に最も高い感受性を認め、それに次いで aminoglycosides が中等度感受性を示したが、PC系, CEX に対してはすべてが高度耐性株であった。

本論文の要旨は第 79 回日本耳鼻咽喉科学会総会で発表した。

## 文 献

1) 坂崎利一：腸内細菌とその類似菌の簡易なしらべかた。栄研学術叢書第 1 集, 9~47 頁, 栄研化学

(株), 1974

- 2) 小酒井望編：臨床検査技術全書 7, 緑膿菌および類似菌 (五島瑳智子), 231~246 頁, 医学書院, 1976
- 3) BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Ed., (Williams & Wilkins), 1974
- 4) MACFADDIN, J.F.: Biochemical tests for identification of medical bacteria. (Williams & Wilkins) pp.235~267, 1976
- 5) COWAN, S. T.: Manual for the identification of medical bacteria. 2nd Ed., (Cambridge University Press) pp.77~93, 1977
- 6) BAILEY, W. R. & E. G. SCOTT: Diagnostic microbiology. 4th Ed., (C. V. Mosby Company) pp. 162~166, 1974
- 7) 石山俊次：日和見感染。臨床医 1: 576~579, 1975
- 8) 國井乙彦：Opportunistic infectionとグラム陰性桿菌。日本臨床 35: 1366~1372, 1977
- 9) 小沢淳, 坂崎利一, 玉能正悦, 波岡茂郎, 松本文夫編：臨床細菌学 (講義篇), ヒトの常在細菌叢 (朝田康夫), 24~33 頁, 講談社, 1977
- 10) 斎藤篤：グラム陰性桿菌感染症。臨床医 1: 28~31, 1975
- 11) 清水喜八郎：病原菌の最近の推移, グラム陰性桿菌。最新医学 31: 1300~1305, 1976
- 12) 真下啓明：グラム陰性桿菌感染症の動向とその危険性。日本臨床 35: 2~7, 1977
- 13) 清水喜八郎：感染症原因菌としてのグラム陰性桿菌。日本臨床 35: 21~25, 1977
- 14) 小栗豊子：緑膿菌以外のブドウ糖非酸酵グラム陰性桿菌の検出率と薬剤感受性。最新医学 32: 2056~2068, 1977
- 15) 東朋嗣：気管支喘息と気道感染との関連性に関する研究。アレルギー 16: 750~779, 1967
- 16) 舟田久：健康成人咽頭好気性菌叢の構成にかんする研究。日本内科学会雑誌 64: 19~30, 1975

ISOLATION OF GLUCOSE-NONFERMENTATIVE GRAM-NEGATIVE  
RODS FROM THE PATIENTS OF OTOLARYNGEAL INFECTIONS  
AND THE ANTIBIOTIC PATTERN OF THE ISOLATES

KAZUO KURIYAMA, KOHTARO BABA, KOHJI OKUSAWA and ICHIRO FURUUCHI

Department of Oto-laryngology, Dokkyo Medical College

In this paper, the isolation rate and sensitivity to several antibiotics of glucose-nonfermentative gram-negative rods (nonfermentative GNR) except for *P. aeruginosa* which were isolated from the ears and throats of the outpatients who visited the hospital of Dokkyo Medical College were investigated in the past year, from December 1976 to November 1977.

And the following results were obtained :

1) The isolation rates of nonfermentative GNR obtained in this study to traditional pathogens were 21.7% in throats and 13.1% in ears.

To be more specific, *Acinetobacter* sp. was most frequently detected, and next *P. maltophilia*, *P. putida*, *P. cepacia*, *Flavobacterium* sp. and *Alcaligenes* sp. were isolated—in this descending order of frequency.

The isolation rates obtained in this study were comparatively low as compared with the reports in other clinical fields, one of the reasons being that the latter data was obtained for in-patients who were treated with various antibiotics and immunosuppressive agents.

2) In the susceptibility test of nonfermentative GNR to antibiotics, most of the isolates were highly sensitive to minocycline and doxycycline, and moderately sensitive to aminoglycosides.

$\beta$ -lactam group was quite inactive.