

気道の常在細菌叢が産生する β -ラクタマーゼに関する検討

第1報 上気道

出口 浩一・横田のぞみ・古口 昌美・中根 豊
鈴木由美子・深山 成美・石原 理加・小田 清次
東京総合臨床検査センター研究部*

(平成3年4月22日受付・平成3年7月18日受理)

急性上気道感染症における主な起炎菌は、*Streptococcus* spp. などの β -ラクタマーゼ非産生株であるが、単独菌感染と推定された200症例における患者採取咽頭スワブからは、好気性の「常在細菌」と考えられる菌種の β -ラクタマーゼ産生株が、高い割合で検出された。

1. 推定起炎菌は β -streptococci 59.5%, *Haemophilus influenzae* 12.5%, *Streptococcus pneumoniae* 4.5% などであるが、これらの菌種が単独で推定起炎菌と考えられた患者の咽頭スワブからは、72.0%~84.6%の「常在菌」から β -ラクタマーゼ産生株が検出された。

2. 推定起炎菌以外の菌種、すなわち「常在菌」で β -ラクタマーゼを産出する菌種は、*Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Branhamella catarrhalis*, *Haemophilus parainfluenzae* が高い割合に認められた。

3. 上気道感染症における「常在菌」の産出する β -ラクタマーゼは、indirect pathogenicity (間接的病原性) を構成する因子になりうる可能性が示唆された。

Key words: direct pathogenicity, indirect pathogenicity, 上気道感染症, 上気道常在菌の β -ラクタマーゼ産生株

Maddocksらが1969年に報告した下気道および肺実質感染症における“indirect pathogenicity”は、常在細菌叢が産出する β -ラクタマーゼの影響により感染病巣に移行した β -ラクタム系薬剤が活性化され、それによって生じる「間接的病原性」の概念であるが¹⁾、その後においては、国の内外でこれらの検討成績が数多く報告されている²⁻⁶⁾。しかし、国内における報告に共通することは、下気道および肺実質系感染症を対象にしていること、 β -ラクタマーゼ産出株の検討は比較的限定された菌種の範囲であり、気道系感染症を広く対象にした検討、常在細菌叢の多菌種を対象にした報告は少ない。

そこで我々は1989年以降において、気道系の各分野の感染部位における常在細菌叢が産生する β -ラクタマーゼの検討を実施しているが、この度、上気道を対象にした成績を第1報として報告する。

I. 検討方法

1. 推定起炎菌と常在菌の検索

1989年11月~1990年10月に、市中の急性上気道感染症で外来を受診した患者の咽頭スワブを用いて、

常法に従って推定起炎菌を検索し、合わせて「常在菌」の分離・同定を行った。対象症例は推定起炎菌単独検出例とし、以下の条件を満たす乳児から高齢者をできるだけ均一配分した200症例を集積した。

推定起炎菌は血液寒天培地、チョコレート寒天培地上のいずれかまたは両方において、定着正常常在菌叢を構成する菌種 (α -streptococci, *Neisseria* spp., etc)^{9,10)}とは異なる性状を示す集落が、2/3以上に認められた菌種を推定起炎菌とした。そして、推定起炎菌と考えられた集落とは異なる性状の集落を、ていねいに一つひとつ鉤菌して純培養した。

一方、上記の初回培養に用いたスワブをNHM-Broth (極東)にて、37°C一夜増菌培養を行い、そこから vancomycin (VCM) 3 μ g/ml, colistin (CL) 8 μ g/ml を各々添加した血液寒天平板とチョコレート寒天平板などに接種して、推定起炎菌とは異なる性状の集落をさらに検索した。これにより、初回培養時には分離できなかった多菌種の「常在菌」の分離が可能となった。

* 東京都足立区千住仲町14-4

2. β -ラクタマーゼ産生性

上記1.で分離・同定した推定起炎菌と「常在菌」の β -ラクタマーゼ産生性は、benzylpenicillin (PCG), cefazolin (CEZ) の各々を基質とした Acidimetry disc method (β -チェック, ファイザー製薬) にて行った。

3. 推定起炎菌と「常在菌」のMIC測定

上記1.で分離・同定した「常在菌」から、 β -ラクタマーゼ産生株が検出された割合の高い *Staphylococcus aureus* 38株, coagulase-negative staphylococci (CNS) 10株, *Haemophilus influenzae* 10株, *Haemophilus parainfluenzae* 10株, *Branhamella catarrhalis* 10株, *Klebsiella pneumoniae* 10株, *Acinetobacter calcoaceticus* 10株を対象に, ampicillin (ABPC), sultamicillin (SBTPC), cephalixin (CEX), cefaclor (CCL) の minimum inhibitory concentration (MIC) を, 本学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定標準法に従い¹¹⁾, 10^8 cfu/ml 接種の寒天平板希釈法にて測定した。

なお, *H. influenzae* の「常在菌」として検出された β -ラクタマーゼ産生株は7株, また推定起炎菌として検出された25株中の3株が β -ラクタマーゼ産生株だったので, それらの3株を加えた計10株をMIC測定に供試した。

II. 成 績

Table 1 に推定起炎菌と β -ラクタマーゼ産生常在細菌が検出された割合, Table 2 に推定起炎菌と主な

β -ラクタマーゼ産生常在菌種, Table 3 に主な菌種の β -ラクタマーゼ産生性, そして Table 4 に主な β -ラクタマーゼ産生株に対する4薬剤のMIC分布を示した。

1. 推定起炎菌と β -ラクタマーゼ産生常在細菌が検出された割合

Table 1 は200症例から検出された推定起炎菌と, 各々の推定起炎菌が検出された症例における, β -ラクタマーゼ産生「常在菌」が検出された割合である(推定起炎菌はいずれも単独検出例)。推定起炎菌は *Streptococcus pyogenes* などの β -streptococci の占める割合が59.5%と最も高く, 次いで *S. aureus* 23.5%, *H. influenzae* 12.5%, *Streptococcus pneumoniae* 4.5%の割合だった。

各々の推定起炎菌検出症例における, β -ラクタマーゼ産生「常在菌」が検出された割合は, *S. pyogenes* 検出症例からは84.6%, *Streptococcus anginosus* 検出症例82.4%など, 各々の推定起炎菌検出症例からは, 平均して74.0%の β -ラクタマーゼ産生「常在菌」が検出された。

なお, 推定起炎菌とした *H. influenzae* の25株中3株, *S. aureus* の47株中41株は β -ラクタマーゼ産生株だった。

2. 推定起炎菌と主な β -ラクタマーゼ産生常在菌種

Table 2 は横軸が推定起炎菌, 縦軸に各々の推定起炎菌が検出された症例における β -ラクタマーゼ産生

Table 1. Suspected causative organisms and ratio of isolated β -lactamase-producing indigenous bacteria (total 200 cases)

Suspected causative organisms*1			Ratio of isolated β -lactamase producing indigenous bacteria*2	
Organism	Isolated cases (A)	% of total	Isolated cases (B)	Ratio (B/A)
<i>S. pyogenes</i>	78	39.0 (%)	66	84.6 (%)
<i>S. agalactiae</i>	13	6.5	10	76.9
Group C-G β -streptococci	11	5.5	9	81.8
<i>S. anginosus</i>	17	8.5	14	82.4
<i>S. pneumoniae</i>	9	4.5	7	77.8
<i>H. influenzae</i>	25	12.5	18	72.0
<i>S. aureus</i>	47	23.5	24	51.0
Total of cases	200	100	148	74.0

*1 Direct pathogenicity

*2 Indirect pathogenicity

Table 2. Suspected causative organisms and major β -lactamase producing indigenous bacteria

Suspected causative organisms & their cases	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. agalactiae</i>	Group C-G β -streptococci	<i>S. anginosus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>S. aureus</i>	Total
Indigenous bacteria & no. of strains	78	13	11	17	9	25	47	200
<i>S. aureus</i>	26	3	3	5	2	8		47
CNS*1	6	2	2	2		2	1	16
<i>H. influenzae</i>	3			1	1		2	7
<i>H. parainfluenzae</i>	8	2	2	2	2	4	5	25
<i>B. catarrhalis</i> *2	10	2	2	2	2	3	6	27
<i>K. pneumoniae</i>	5	1		2			2	10
<i>A. calcoaceticus</i>	3	1	1	1		2	2	10
<i>Enterobacter</i> spp.	6			1			4	11
<i>P. aeruginosa</i>	3							3
Others	2						3	5
No. of strains of β -lactamase producing indigenous bacteria	72	11	10	16	7	19	26	161
No. of cases of β -lactamase producing bacteria isolated	66	10	9	14	7	18	24	148

*1 Coagulase-negative staphylococci

*2 *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis*

Table 3. β lactamase production of major species

Result of PCG hydrolysis		Acidimetry						
		+++		++		+		-
Result of CEZ hydrolysis		+	++	+++	++	+	-	
<i>S. aureus</i>	n=38	29	5	4				
CNS ^{*1}	n=10	3	1	5		1		
<i>H. influenzae</i>	n=10	2	5	1	2			
<i>H. parainfluenzae</i>	n=10	1	4	4	1			
<i>B. catarrhalis</i> ^{*2}	n=10	2	4	2	2			
<i>K. pneumoniae</i>	n=10	3		7				
<i>A. calcoaceticus</i>	n=10				1	4	1	4

+++ high ++ moderate + low - no production

*1 Coagulase-negative staphylococci

*2 *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis*

PCG, benzylpenicillin; CEZ, cefazolin.

「常在菌」の、菌種ごとの株数を並記したものである。これで見ると、*S. aureus*, *B. catarrhalis*, *H. parainfluenzae*, CNSの β -ラクタマーゼ産生株が、いずれの推定起炎菌検出症例に平均して混在していた。

3. 主な菌種の β -ラクタマーゼ産生性

Table 3はMIC測定に供試した主な β -ラクタマーゼ産生「常在菌」の β -ラクタマーゼ産生性を、Acidimetry disc methodのPCG, CEZの各基質別にその反応をまとめたものである。これで見ると、*S. aureus*, CNS, *K. pneumoniae*はPCGのみを分解する株が多く、*A. calcoaceticus*はCEZのみを分解する株が多かった。

一方、*H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, そして*B. catarrhalis*はPCGを高度に分解し、加えてCEZを中程度から低度に分解する株が多い傾向が認められた。

4. 主な β -ラクタマーゼ産生株に対する4薬剤のMIC分布

Table 4は主な β -ラクタマーゼ産生「常在菌」に対する、ABPC, SBTPC, CEX, CCLのMIC-Range, 50% MIC (MIC₅₀), 80% MIC (MIC₈₀), 90% MIC (MIC₉₀)である。

これで見ると、いずれの菌種に対しても sulbactamの β -ラクタマーゼ阻害効果が発揮されるSBTPCのMICが、ABPC単独のMICに勝っていた。CEX, CCLのMICはTable 4に示した通りであるが、*H. parainfluenzae*に対するCEXのMICはCCLに比較

して高く、*B. catarrhalis*に対するCCLのMICはCEXに比較して高い傾向が認められた。

III. 考 察

1969年にMaddocksらが提唱した“indirect pathogenicity”の概念は、喀痰中に含まれる常在性のグラム陰性桿菌の産生する β -ラクタマーゼがABPCを加水分解する。この結果*H. influenzae*などに対するABPCの抗菌活性が低下もしくは失活することにより、間接的病原性を発揮するとしているが、Maddocksらの検討における対象常在菌は、Enterobacteriaceaeと*Pseudomonas aeruginosa*であった¹⁾。そしてBurnsが1974年に報告した対象菌種もMaddocksらと同様である²⁾。しかし、1980年にはEllisが喀痰中の常在菌だけでなく、上気道の β -streptococci感染症における*K. pneumoniae*, *Staphylococcus* spp.の産生する β -ラクタマーゼを取り挙げている³⁾。

1980年代の後半になると、気道系の感染症における常在菌を広く対象にした報告がみられる。1986年におけるBrookの報告は肺炎、咽頭炎、扁桃炎、化膿性中耳炎における起炎菌と常在菌が産生する β -ラクタマーゼを対象にしているが、そこで取り挙げている β -ラクタマーゼ産生常在菌は*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *H. parainfluenzae*, *B. catarrhalis*, さらに*Bacteroides fragilis* group, *Bacteroides melaninogenicus* group, *Bacteroides oralis*などである⁴⁾。そしてBrookは“direct and indirect path-

Table 4. MIC distribution of four antibiotics against β -lactamase producing strains

Organism	No. of strains	Drug	MICs ($\mu\text{g/ml}$)			
			Range	50%	80%	90%
<i>S. aureus</i>	38	ABPC	1.56 ~ 100	12.5	50	100
		SBTPC	0.2 ~ 25	1.56	6.25	12.5
		CEX	1.56 ~ >100	3.13	12.5	>100
		CCL	0.78 ~ >100	3.13	12.5	100
CNS* ¹	10	ABPC	0.78 ~ 100	3.13	12.5	100
		SBTPC	0.1 ~ 12.5	3.13	6.25	12.5
		CEX	1.56 ~ 25	3.13	12.5	25
		CCL	1.56 ~ 25	3.13	12.5	25
<i>H. influenzae</i>	10	ABPC	3.13 ~ >100	25	100	100
		SBTPC	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56	1.56
		CEX	12.5 ~ >100	25	50	100
		CCL	1.56 ~ 100	6.25	25	50
<i>H. parainfluenzae</i>	10	ABPC	3.13 ~ >100	100	>100	>100
		SBTPC	1.56 ~ 6.25	1.56	1.56	3.13
		CEX	12.5 ~ >100	100	>100	>100
		CCL	3.13 ~ >100	25	100	>100
<i>B. catarrhalis</i> * ²	10	ABPC	3.13 ~ >100	12.5	25	50
		SBTPC	0.05 ~ 0.39	0.2	0.2	0.2
		CEX	3.13 ~ 25	6.25	12.5	25
		CCL	3.13 ~ 100	6.25	25	50
<i>K. pneumoniae</i>	10	ABPC	25 ~ >100	100	>100	>100
		SBTPC	3.13 ~ 12.5	3.13	12.5	12.5
		CEX	6.25 ~ 12.5	6.25	12.5	12.5
		CCL	1.56 ~ 6.25	1.56	3.13	3.13
<i>A. calcoaceticus</i>	10	ABPC	3.13 ~ >100	50	100	>100
		SBTPC	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13	6.25
		CEX	12.5 ~ >100	>100	>100	>100
		CCL	12.5 ~ >100	>100	>100	>100

*¹ Coagulase-negative staphylococci*² *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis*

ABPC, ampicillin; SBTPC, sultamicillin; CEX, cephalexin; CCL, cefaclor.

ogenicity”の概念を提唱して、*B. catarrhalis*は“direct”と“indirect”の両方の性状を持つと述べている。

一方国内においては、千葉らの喀痰内の β -ラクタマーゼ活性に関する研究⁵⁾、中浜らの慢性気道感染症における化学療法⁶⁾、西岡らの*B. catarrhalis*の薬剤感受性に関する報告⁷⁾、そして砂川の小児を対象にしたA群レンサ球菌感染症に共存していた*H. influenzae*の β -ラクタマーゼ産生株による治療経過報告⁸⁾などにおいて“indirect pathogenicity”の検討報告や概念を述べているが、気道系の広い分野における感染症を対象にした“indirect pathogenicity”に関する検討報告は少ない。

我々は、気道系各分野における感染症の多くがendogenous infectionであることから、感染症の成立にはBrookの提唱した“direct and indirect pathogenicity”の関与が高い確率でありうると考え、気道系の各分野における推定起炎菌(direct pathogenicity)と β -ラクタマーゼを産生する「常在菌」(indirect pathogenicity)の検討を開始した。

今回の検討成績、すなわち上気道感染症における β -ラクタマーゼ産生常在菌は、*S. aureus*、*B. catarrhalis*、*H. parainfluenzae*の割合が高く、Brookの報告を支持する結果だった。しかし、我々の検討成績では、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa*の割合は比較的低く、代わりにCNSの割合が高い。さらに*A. calcoaceticus*、*Enterobacter* spp.なども検出された。我々は、今回の検討においては嫌気性菌は除外したが、Brookの報告にある*B. melaninogenicus* group、*B. oralis*などは上気道の優勢な常在菌なので、これらを含めると大部分の患者の上気道には、 β -ラクタマーゼを産生する「常在菌」が定着していることが考えられる。

ところで今回の検討において“direct”、“indirect”の両方に登場した菌種は*S. aureus*、*H. influenzae*であるが、*B. catarrhalis*は“direct”として判定できる成績は1例もなかった。これは検討対象を急性に限ったことも考慮に入れなくてはならないが、上気道感染症における*B. catarrhalis*は、“indirect”の可能性が高いことが示唆された。さらに*S. aureus*においては、“direct”と判定したのは200症例中の47症例(23.5%)であるが、それと同数の“indirect”な検出症例が認められることから、上気道感染症における*S. aureus*は“direct and indirect”であること、*H. influenzae*は“direct”の可能性が高いことが示唆された。

なお、今回の検討における常在菌の β -ラクタマーゼ産生株は、有意細菌との比較においては相対的に菌量は少ない菌種も対象とした。これらは上気道感染症においては感染部位が限局されること、さらに咽頭採取物には量的限界があることによるが、こうした「少量も含めた β -ラクタマーゼ産生常在菌種」が臨床においてどのように影響するかについては、今後の検討課題と考えられた。

上述したことから、上気道感染症を対象にした抗菌性物質の投与は、“direct and indirect”を考慮して選択することが大切であること、具体的には β -ラクタマーゼに対する安定の有無が基準となりうる。しかしこの場合においては、上気道には*S. aureus*が高い割合で常在しており、それらの*S. aureus*の多くが β -ラクタマーゼ産生株であることに関心を持たざるを得ない。なぜなら、増加しているmethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)は、誘導によって産生されたpenicillin-binding protein 2' (PBP-2')が規定するが、penicillinase (PCase) プラスミドはPBP-2'の誘導に必要とされていること¹²⁾、さらにPBP-2'をコードする遺伝子mecAは大部分の臨床分離株が保有しており¹³⁾、mecAを保有する*S. aureus*のPBP-2'は、多くのセフェム系薬剤によって容易に誘導されるからである¹⁴⁾。これらのことから上気道感染症に対する第一次選択剤は、 β -ラクタマーゼに安定だけでなく、*S. aureus*のPBP-2'の誘導が低い薬剤を選択すべきと考えられる。

以上により、上気道感染症においては β -ラクタマーゼを産生する「常在菌」が、大部分の症例において“indirect pathogenicity”を構成する因子になりうる可能性が示唆された。これにより上気道感染症に対する化学療法学には“direct and indirect pathogenicity”の概念が重要であるとの結論を得た。

本検討成績の一部は第37回日本化学療法学会東日本支部総会、会長橋本 一、東京(第39回日本感染症東日本地方総会との合同学会)で発表した。

文 献

- 1) Maddocks J L, May R J: “indirect pathogenicity” of penicillinase-producing enretrobacteria in chronic bronchi infections. *Lancet* i: 793~795, 1969
- 2) Burns M W: indirect pathogenicity of gram-negative bacilli in the bronchi: The valune of colistin aerosol. *Brit. J. Dis. Chest* 68: 95~102, 1974
- 3) Ellis C J: Indirect pathogenicity. *J. Antimicrob Chemoth* 6: 307~309, 1980
- 4) Brook: Direct and Indirect pathogenicity of Bran-

- hamella catarrhalis. *Drugs* 31 (Suppl.3):97 ~ 102, 1986
- 5) 千葉潤一, 加藤美和, 渡辺 彰, 大泉耕太郎, 本宮雅吉: 喀痰内の β -lactamase 活性に関する研究 (I)。喀痰分離株および喀痰内の β -lactamase 活性の相関と間接的病原性の意義。 *Chemotherapy* 37: 1031 ~ 1039, 1989
 - 6) 中浜 力, 山田真理恵, 副島林造: 慢性気道感染症における化学療法。 *化学療法の領域* 6: 246 ~ 255, 1990
 - 7) 西岡きよ, 丹野恭夫, 瀧島 任: (プランハメラカタラーリス) 感受性とその変動。 *化学療法の領域* 7: 688 ~ 694, 1991
 - 8) 砂川慶介: 各領域で話題の感染症。 *小児科領域。治療* 72: 2228 ~ 2234, 1990
 - 9) 小沢 敦: 呼吸器系常在菌叢。 *臨床細菌学一講義篇*。小沢 敦, 坂崎利一, 玉熊正悦, 波岡茂夫, 松本文夫編集。 pp.33 ~ 50, 講談社, 1977
 - 10) 出口浩一: 臨床細菌学の現場から見た細菌感染症の様相。 *気道・呼吸器感染症患者採取材料からの検出菌*。 pp.15 ~ 19, ビーチャム薬品 (非売品), 1983
 - 11) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76 ~ 79, 1981
 - 12) 平松啓一: MRSA. *医学細菌学* 5 巻。三輪谷敏夫監修。 pp.131 ~ 144, 菜根出版, 1990
 - 13) Ubukata K, Nonoguchi R, Matsushashi M, Konno M: Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the mecA gene which encodes a methicillin-resistant *S. aureus* specific penicillin-binding protein. *J. Bacteriol.*, 171: 2882 ~ 2885, 1989
 - 14) 野々口律子: 血液培養から分離されたメチシリン耐性ブドウ球菌について。一菌の免疫的特徴と β -ラクタム系薬によるペニシリン結合蛋白-2' の誘導一。 *Chemotherapy* 38: 90 ~ 101, 1990

BETA-LACTAMASE PRODUCTION BY INDIGENOUS BACTERIA IN THE RESPIRATORY TRACT

(1. UPPER RESPIRATORY TRACT)

Koichi Deguchi¹⁾, Nozomi Yokota¹⁾, Masami Koguchi¹⁾, Yutaka Nakane¹⁾,
Yumiko Suzuki¹⁾, Shigemi Fukayama¹⁾, Rika Ishihara¹⁾ and Seiji Oda²⁾

¹⁾ Research Section, Tokyo Clinical Research Center, 14-4 Senjunakamachi Adachi-ku,
Tokyo 120, Japan

²⁾ Clinical Laboratory, Second Department, Tokyo Clinical Research Center (Department of Microbiology)

The causative organisms in upper respiratory tract infections are β -lactamase non-producing strains such as *Streptococcus* spp., while β -lactamase-producing strains were frequently isolated as so-called aerobic "indigenous bacteria" from throat swabs of 200 patients with upper respiratory tract infections caused by a single organism.

1. The suspected causative organisms were mainly β -streptococci (59.5%), *Haemophilus influenzae* (12.5%), *Streptococcus pneumoniae* (4.5%). However, β -lactamase-producing strains were detected in 72.0—84.6% of the indigenous bacteria isolated from the throat swabs of patients with infection by a single causative organism.

2. The β -lactamase-producing strains of the indigenous bacteria colonized with suspected causative organisms were mainly *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Branhamella catarrhalis* and *Haemophilus parainfluenzae*.

3. We suggest that the β -lactamase produced by indigenous strains may be one of the factors of "indirect pathogenicity" in upper respiratory tract infections.