

# 口腔外科領域閉塞膿瘍からの検出菌の $\beta$ -lactamase 活性とその薬剤感受性

斎木 康正・中川 清昌・山本 悦秀

金沢大学医学部歯科口腔外科学講座\*

(平成6年2月3日受付・平成6年5月31日受理)

閉塞膿瘍が認められる口腔外科領域感染症 96 症例を対象とし、腫脹部位から needle aspiration 法にて採取した検体より 385 株を分離した。その分離菌株の  $\beta$ -lactamase 活性を、ニトロセフィン・ディスク法およびアシドメトリー・ディスク法により定性測定し、検討を行った。23 症例 (24.0%) から 26 株 (6.8%) の  $\beta$ -lactamase 産生菌を分離し、内訳は *Staphylococcus aureus* 6 株中 4 株 (66.7%), *Staphylococcus epidermidis* 3 株中 2 株 (66.7%) *Staphylococcus haemolyticus* 1 株 (100%), *Prevotella oralis* 14 株中 5 株 (35.7%), *Prevotella melaninogenica* 10 株中 2 株 (20.0%), *Prevotella intermedia* 26 株中 5 株 (19.2%), *Prevotella loescheii* 9 株中 1 株 (11.1%), *Bacteroides capillosus* 6 株中 1 株 (16.7%), *Enterobacter cloacae* 3 株 (100%), *Klebsiella oxytoca* 1 株 (100%), *Moraxella osloensis* 1 株 (100%) であった。抗菌剤の投与が認められていた 41 症例中 18 症例 (43.9%) から  $\beta$ -lactamase 産生菌が検出された。口腔領域感染症から検出される  $\beta$ -lactamase 産生菌に対しては clindamycin, ofloxacin が比較的安定した抗菌力を示した。

**Key words:**  $\beta$ -lactamase, 薬剤感受性, ニトロセフィン・ディスク法, アシドメトリー・ディスク法, 閉塞膿瘍

口腔外科領域感染症の多くが、口腔常在菌による内因感染で、一般に嫌気性菌を中心とした複数菌混合感染として認められる<sup>1-3)</sup>。我々がその治療に際して問題となるのが臨床上使用頻度の高い  $\beta$ -lactam 系抗菌剤を不活化する  $\beta$ -lactamase 産生菌の存在である。

$\beta$ -lactamase 産生菌について Maddocks ら<sup>4)</sup>が 1969 年に報告した呼吸器感染症における indirect pathogenicity (間接的病原性) の概念は、常在細菌叢から産出される  $\beta$ -lactamase の影響により病巣へ移行した  $\beta$ -lactam 系抗菌剤が加水分解され、病原菌に対する抗菌活性を低下もしくは失活させることにより、間接的病原性を発揮するというものであるが、この概念が提唱されて以後これらの検討報告が数多く認められる<sup>5-8)</sup>。複数菌感染症例が多い口腔外科領域において  $\beta$ -lactamase 産生菌による間接的病原性の検討は重要であると考えられるが、臨床分離菌の  $\beta$ -lactamase 産生性についての報告は少ない<sup>2,9,10)</sup>。そこで今回、当科にて口腔領域閉塞膿瘍から分離した細菌の  $\beta$ -lactamase 活性と抗菌剤感受性を検討した。

## I. 材料と方法

### 1. 対象

1991 年 7 月から 1993 年 5 月までの 23 か月間に金

沢大学医学部附属病院歯科口腔外科を受診した外来または入院患者のうち、閉塞膿瘍が認められた 10 歳から 75 歳までの男性 52 名、女性 44 名の計 96 名を対象に細菌検査を行った。96 例の疾患別内訳は、根尖性歯周炎による膿瘍が 36 例と最も多く、次いで術後性上顎嚢胞の 2 次感染 19 例、歯根嚢胞の 2 次感染 17 例、辺縁性歯周炎による歯肉および頬部膿瘍 13 例、その他の嚢胞 2 次感染 7 例、歯冠周炎 2 例、原因不明頬部膿瘍 2 例であった。

### 2. 試料の採取

炎症部位をポピドンヨードにて消毒後、2%塩酸リドカイン (1/80,000 エピレナミン含有) を用いて浸潤麻酔を行い、内容液を 18 ゲージ針付きディスプレイ注射器で needle aspiration 法にて採取した。採取した検体は速やかにケンキポーター<sup>®</sup> (クリニカルサプライ) に注入後、当科研究室に搬送し培養を行った。ただちに培養操作に移れない場合は、4°C 下で保管し 4 時間以内に操作を開始した。

### 3. 細菌の培養・分離

採取した試料は、嫌気培養には変法 GAM 寒天培地 (ニッスイ) および PV (パロモマイシン-バンコ

\* 石川県金沢市宝町 13 番 1 号

マイシン)加ブルセラ HK 血液寒天培地 (極東製薬工業) の 2 枚に画線塗抹し 4 日から 7 日間, 好気培養には 5% 羊血液寒天培地 (ニッスイ) に塗抹し 2 日から 3 日間それぞれ 37°C で培養した。

#### 4. 細菌の同定

細菌の同定は Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology<sup>11)</sup> および嫌気性菌の分離と同定法<sup>12)</sup> に従って行った。また, 同定の参考として *Streptococcus* については RapID STR System を, 嫌気性菌は RapID ANA II System (Innovative Diagnostic Systems, Inc.) を使用した。

細菌名は, 1991 年までに International Journal of Systematic Bacteriology で発表された菌名を使用した。

#### 5. $\beta$ -lactamase 検出法

$\beta$ -lactamase 産生性の測定は, ニトロセフィン・ディスク法の Cefinase (BBL) および benzylpenicillin (PCG) と cefazolin (CEZ) の各々を基質としたアシドメトリー・ディスク法の  $\beta$ チェック (ファイザー製薬) を併用した。

なお,  $\beta$ -lactamase の分類法であるが, その呼称は研究者によって様々で, 今回使用した  $\beta$ チェックでは詳細な分類ができないため, PCG ディスクに陽性であった株を PCG ディスク反応株, CEZ ディスクに陽性を示した株を CEZ ディスク反応株とした。

#### 6. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

MIC の測定は, 日本化学療法学会の推奨する方法<sup>13,14)</sup> に準じて, 寒天平板希釈法により行った。菌液の接種は, 接種菌量の  $10^6$  CFU/ml とし, GAM 寒天培地 (ニッスイ) を使用した。

供試薬剤は, ampicillin (ABPC, ファイザー製薬), cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬), clindamycin (CLDM, 日本アップジョン), ofloxacin (OFLX, 第一製薬) の 5 薬剤を使用した。

#### 7. 薬剤耐性の breakpoint

今回使用した耐性の breakpoint は, 嫌気性菌については宮内ら<sup>15)</sup> に従い, その他の細菌については National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)<sup>16,17)</sup> により提示されている耐性 breakpoint を参考に以下のように決定した。

ABPC で *Staphylococcus* の場合は  $0.39 \mu\text{g/ml}$ , 好気性グラム陰性桿菌は  $12.5 \mu\text{g/ml}$ , 嫌気性菌では  $6.25 \mu\text{g/ml}$  とした。残りの 4 剤は, CEZ  $12.5 \mu\text{g/ml}$ , FMOX  $12.5 \mu\text{g/ml}$ , CLDM  $3.13 \mu\text{g/ml}$ , OFLX  $3.13 \mu\text{g/ml}$  とし, これらの値よりも高い場合を耐性とした。

## II. 結 果

### 1. 検出菌の内訳

96 症例から総分離菌 385 株が分離され, 混合感染症例が 71 例 (74.0%), 嫌気性菌感染症例が 17 例 (17.7%) で, 嫌気性菌は 88 症例 (91.7%) から検出された。菌種別では, *Streptococcus constellatus* 41 株 (10.6%), *Peptostreptococcus micros* 38 株 (9.9%), *Fusobacterium nucleatum* 31 株 (8.1%), *Prevotella intermedia* 26 株 (6.8%) などが多く検出された。属レベルでは, *Streptococcus* が 91 株 (23.6%) ともっとも多く, 以下 *Prevotella* 80 株 (20.8%), *Peptostreptococcus* 51 株 (13.2%), *Fusobacterium* 51 株 (13.2%) などとなった (Table 1)。

### 2. $\beta$ -lactamase 産生菌検出率

$\beta$ -lactamase 産生菌は 96 症例中 23 症例 (24.0%) から検出された。23 症例すべてが複数菌感染で, 嫌気性菌と好気性菌の混合感染が 18 例 (78.3%), 嫌気性菌感染が 2 例 (8.7%), 好気性菌感染が 3 例 (13.0%) で嫌気性菌は 87.0% に関与していた。 $\beta$ -lactamase 産生菌株は 26 株で総分離菌 385 株に占める割合は 6.8% であった (Table 2)。

疾患別の  $\beta$ -lactamase 産生菌の検出率は, 根尖性歯周炎から 27.8%, 歯根嚢胞 2 次感染 29.4%, 術後性上顎嚢胞 2 次感染 26.3% で, この 3 疾患からはほぼ同じ検出率であった。症例数は少ないが, 歯冠周囲炎 50.0%, 原因不明頬部膿瘍 50.0%, その他の嚢胞 2 次感染からは 14.3% であった。また, 辺縁性歯周炎症例からは  $\beta$ -lactamase 産生菌は検出されなかった。

### 3. $\beta$ -lactamase 産生菌の菌種別内訳

菌種別の  $\beta$ -lactamase の産生菌検出率を Table 3 に示した。好気性菌では 6 菌種 12 菌株が検出され, 66.7~100% と高い確率で産生菌が認められた。嫌気性菌では 5 菌種 14 株の産生菌が検出され, 各菌種 11.1~35.7% の検出率を認めた。Cefinase には 26 株すべて陽性であったが,  $\beta$ チェックにはその中の 2 株が反応せず, Cefinase の感度の方が良好という結果であった。その中で PCG ディスクにのみ陽性を示した株は 7 株 (29.2%), CEZ ディスクのみに反応した株は 13 株 (54.2%), CEZ と PCG ディスク両方に陽性を示した株は 4 株 (16.4%) であった。

### 4. 検体採取前の抗菌剤投与の有無

検体採取前 1 週間以内に抗菌剤の投与を受けていた症例は 41 例 (42.7%) であった (Table 4)。その中の 18 例 (43.9%) から  $\beta$ -lactamase 産生菌を分離したが, 非投与群 55 症例からは 5 例 (9.1%) のみの分

Table 1. Bacteriologic results of 385 strains isolated from 96 patients

Organisms and No. of strains (%)					
aerobes			anaerobes		
Gram-positive bacteria					
			Chemo [+]		Chemo [+]
<i>Streptococcus constellatus</i>	41 (10.6)	[12]	<i>Peptostreptococcus micros</i>	38 (9.9)	[22]
<i>S. intermedius</i>	11 (2.8)	[6]	<i>P. prevotii</i>	4 (1.0)	[3]
<i>S. anginosus</i>	1 (0.3)		<i>P. anaerobius</i>	7 (1.8)	[3]
<i>S. mitis</i>	19 (4.9)	[6]	<i>P. asaccharolyticus</i>	1 (0.3)	[1]
<i>S. sanguis</i>	8 (2.1)	[4]	<i>P. magnus</i>	1 (0.3)	
<i>S. oralis</i>	11 (2.8)	[4]	<i>Gemella morbillorum</i>	18 (4.7)	[9]
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 (1.5)	[4]	<i>Eubacterium lentum</i>	4 (1.0)	[1]
<i>S. epidermidis</i>	3 (0.8)	[1]	<i>E. aerofaciens</i>	2 (0.5)	
<i>S. haemolyticus</i>	1 (0.3)	[1]	<i>Eubacterium</i> sp.	1 (0.3)	[1]
<i>Corynebacterium</i> sp.	9 (2.3)	[1]	<i>Propionibacterium acnes</i>	6 (1.5)	[3]
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2 (0.5)	[1]	<i>P. propionicus</i>	1 (0.3)	[1]
			<i>Actinomyces meyeri</i>	3 (0.8)	[2]
			<i>Bifidobacterium</i> sp.	3 (0.8)	[1]
			<i>Lactobacillus</i> sp.	1 (0.3)	
Gram-negative bacteria					
<i>Neisseria mucosa</i>	2 (0.5)		<i>Prevotella intermedia</i>	26 (6.8)	[11]
<i>N. cinerea</i>	1 (0.3)	[1]	<i>P. melaninogenica</i>	10 (2.6)	[7]
<i>Neisseria</i> sp.	6 (1.5)	[4]	<i>P. corporis</i>	9 (2.3)	[1]
<i>Haemophilus segnis</i>	1 (0.3)		<i>P. loescheii</i>	9 (2.3)	[4]
<i>H. paraphrophilus</i>	1 (0.3)	[1]	<i>P. buccae</i>	7 (1.8)	[4]
<i>Haemophilus</i> sp.	1 (0.3)		<i>P. oralis</i>	14 (3.6)	[4]
<i>Moraxella osloensis</i>	1 (0.3)	[1]	<i>P. oris</i>	5 (1.3)	[1]
<i>Enterobacter cloacae</i>	3 (0.8)	[2]	<i>Bacteroides capillosus</i>	6 (1.5)	[4]
<i>Eikenella corrodens</i>	2 (0.5)	[1]	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14 (3.6)	[7]
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (0.3)	[1]	<i>P. endodontalis</i>	1 (0.3)	[1]
			<i>Fusobacterium nucleatum</i>	31 (8.1)	[12]
			<i>F. necrophorum</i>	12 (3.1)	[2]
			<i>F. varium</i>	2 (0.5)	[1]
			<i>Fusobacterium</i> sp.	6 (1.5)	[6]
			<i>Campylobacter rectus</i>	2 (0.5)	[1]
			<i>Unidentified bacilli</i>	2 (0.5)	
			<i>Veillonella</i> sp.	8 (2.1)	[3]
Sub total	131 (34.0)	[51]	Sub total	254 (66.0)	[116]
Total of strains 385					

Chemo [+]: number of strains with prior antibiotic chemotherapy

離であり、投与群は非投与群に比較して  $\beta$ -lactamase 産生菌が有意に多く検出された ( $\chi^2$  検定,  $P < 0.005$ )。投与群 18 症例に投与されていた抗菌剤は、セフェム系 15 例、ペニシリン系 2 例、マクロライド系 1 例、クリンダマイシン 1 例であった。クリンダマイシン投与症例はセフェム系抗菌剤との併用使用例であった。

#### 5. 薬剤感受性の結果

$\beta$ -lactamase 産生菌の薬剤感受性試験結果を菌種別にまとめた。

#### 1) *Staphylococcus*

*Staphylococcus* は検出された  $\beta$ -lactamase 産生菌 7 株すべてが PCG ディスク反応株であった。産生菌に対しては、ABPC には全株が耐性であったが FMOX の耐性株は認められず、CEZ, OFLX では 1 株 (14.3%) のみであった。*Staphylococcus aureus* においては  $\beta$ -lactamase 非産生菌も比較的耐性株が認められた (Tables 5, 6)。なお, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* は認められなかった。

Table 2.  $\beta$ -lactamase production of 385 strains obtained in the trial

Findings	No. of cases	
	(+)	(-)
$\beta$ -lactamase production	23	73
aerobes+anaerobes	18 (78.3%)	53 (72.6%)
Only aerobes	3 (13.0%)	5 (6.8%)
Only anaerobes	2 (8.7%)	15 (20.5%)
Polymicrobial infections	23 (100.0%)	70 (95.9%)
	Nb. of strains	
Isolated bacteria	96	289
$\beta$ -lactamase producing strains	26	-

Table 3. Bacteriology and  $\beta$ -lactamase activity of 26 strains isolated from 23 patients

Organisms	No. of strains				
	$\beta$ -lactamase producing strains / total strains from 96 patients	total strains from 96 patients (%)	Cefinase positive*	$\beta$ -check positive**	
				PCG disc	CEZ disc
<i>Staphylococcus aureus</i>	4/6	(66.7)	4	4	0
<i>S. epidermidis</i>	2/3	(66.7)	2	2	0
<i>S. haemolyticus</i>	1/1	(100.0)	1	1	0
<i>Prevotella oralis</i>	5/14	(35.7)	5	3	5
<i>P. intermedia</i>	5/26	(19.2)	5	0	4
<i>P. melaninogenica</i>	2/10	(20.0)	2	1	2
<i>P. loescheii</i>	1/9	(11.1)	1	0	1
<i>Bacteroides capillosus</i>	1/6	(16.7)	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	3/3	(100.0)	3	0	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1/1	(100.0)	1	0	0
<i>Moraxella osloensis</i>	1/1	(100.0)	1	0	1
Total	26		26	11	17

\*Qualitative determination by nitrocefin disc method

\*\*Qualitative determination by acidometry disc method

PCG: benzylpenicillin, CEZ: cefazolin

Table 4. Correlation\* between  $\beta$ -lactamase activity and prior chemotherapy

$\beta$ -lactamase activity	Number of cases classified by past history of treatment	
	chemotherapy (+)	chemotherapy (-)
	Total	41
positive	18 (43.9%)	5 (9.1%)
negative	23 (56.1%)	50 (90.9%)

\*P&lt;0.005

## 2) 好気性グラム陰性桿菌

$\beta$ -lactamase 産生性好気性グラム陰性桿菌は5株検出され、OFLX 以外の薬剤では、ほとんどの菌株が耐性を示した。OFLX は5菌株すべてに耐性を認めず、各菌株の MIC は1.56~3.13  $\mu$ g/ml で安定し

た抗菌力を示した (Table 6)。

## 3) 嫌気性グラム陰性桿菌

*Bacteroides capillosus* は1991年までに再分類されていない旧 *Bacteroides* group の1つで、今回  $\beta$ -lactamase が陽性であった株は CEZ ディスク反応株

Table 5. Comparative activity of antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				%Resistant	Breakpoint ( $\mu\text{g/ml}$ )
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%	range		
<i>S. aureus</i>	ampicillin	4		6.25	12.5	50	3.13-100 $\leq$	100	0.78
		2		-	-	-	1.56-3.13	100	
	cefazolin	4		1.56	12.5	25	0.39-25	25	12.5
		2		-	-	-	12.5-25	50	
	flomoxef	4		1.56	12.5	12.5	0.39-12.5	0	12.5
		2		-	-	-	12.5-100 $\leq$	50	
	clindamycin	4		1.56	50	100 $\leq$	0.39-100 $\leq$	50	3.13
		2		-	-	-	0.78-100 $\leq$	50	
	ofloxacin	4		3.13	6.25	25	0.78-25	25	3.13
		2		-	-	-	1.56-12.5	50	

 $\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain $\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strain

Table 6. MIC distribution of five antimicrobial agents against minor species

Organisms	No. of strains	MIC-range ( $\mu\text{g/ml}$ )				
		ABPC	CEZ	FMOX	CLDM	OFLX
<i>Staphylococcus epidermidis</i> $\beta$ -lactamase producing strain	2	0.78 (R) -3.13	$\leq 0.025$ -0.78	$\leq 0.025$ -1.56	0.2 -1.56	0.78
$\beta$ -lactamase non-producing strain	1	0.2	0.2	0.39	1.56	3.13
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	3.13 (R)	0.78	1.56	0.78	3.13
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	100 $\leq$ (R)	50 (R)	0.78	100 $\leq$ (R)	3.13
<i>Moraxella osloensis</i>	1	12.5	25 (R)	25 (R)	3.13	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	100 $\leq$ (R)	100 $\leq$ (R)	100 $\leq$ (R)	100 $\leq$ (R)	1.56-3.13

(R): resistant strain

ABPC: ampicillin, CEZ: cefazolin, FMOX: flomoxef, CLDM: clindamycin, OFLX: ofloxacin

Table 7. Comparative activity of antimicrobial agents against *Bacteroides capillosus*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				%Resistant	Breakpoint ( $\mu\text{g/ml}$ )
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%	range		
<i>B. capillosus</i>	ampicillin	1		-	-	-	100 $\leq$	100	6.25
		5		$\leq 0.025$	0.05	0.1	$\leq 0.025-0.1$	0	
	cefazolin	1		-	-	-	3.13	0	12.5
		5		0.05	0.05	0.39	$\leq 0.025-1.56$	0	
	flomoxef	1		-	-	-	0.1	0	12.5
		5		0.05	0.05	0.1	$\leq 0.025-0.1$	0	
	clindamycin	1		-	-	-	$\leq 0.025$	0	3.13
		5		$\leq 0.025$	0.05	0.1	$\leq 0.025-0.1$	0	
	ofloxacin	1		-	-	-	6.25	100	3.13
		5		0.1	0.39	1.56	$\leq 0.025-6.25$	20	

 $\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain $\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strain

Table 8. Comparative activity of antimicrobial agents against *Prevotella*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				%Resistant	Breakpoint ( $\mu\text{g/ml}$ )
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%	range		
<i>Prevotella</i>	ampicillin	13	25	100 $\leq$	100 $\leq$	0.2	-100 $\leq$	61.5	6.25
		67	0.05	0.2	0.78	$\leq 0.025$ -25	3.0		
	cefazolin	13	6.25	25	50	0.2	-50	30.8	12.5
		67	0.05	0.1	1.56	$\leq 0.025$ -6.25	0		
	flomoxef	13	0.2	12.5	100 $\leq$	$\leq 0.025$ -100 $\leq$	23.1	12.5	
		67	0.05	0.1	0.2	$\leq 0.025$ -3.13	0		
	clindamycin	13	$\leq 0.025$	0.05	0.05	$\leq 0.025$ -100 $\leq$	7.7	3.13	
		67	$\leq 0.025$	0.05	0.05	$\leq 0.025$ -0.2	0		
	ofloxacin	13	0.2	0.78	3.13	$\leq 0.025$ -6.25	7.7	3.13	
		67	0.2	0.78	1.56	$\leq 0.025$ -100 $\leq$	3.0		

 $\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain $\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strainTable 9. Comparative activity of antimicrobial agents against *Prevotella intermedia*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				%Resistant	Breakpoint ( $\mu\text{g/ml}$ )
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%	range		
<i>P. intermedia</i>	ampicillin	5	0.2	25	50	0.2	-50	40	6.25
		21	0.05	0.1	0.39	$\leq 0.025$ -1.56	0		
	cefazolin	5	1.56	1.56	6.25	0.2	-12.5	0	12.5
		21	0.05	0.05	0.1	$\leq 0.025$ -3.13	0		
	flomoxef	5	0.2	0.39	6.25	$\leq 0.025$ -25	20	12.5	
		21	0.05	0.05	0.1	$\leq 0.025$ -0.39	0		
	clindamycin	5	$\leq 0.025$	0.05	0.05	$\leq 0.025$ -0.05	0	3.13	
		21	$\leq 0.025$	0.05	0.05	$\leq 0.025$ -0.05	0		
	ofloxacin	5	0.1	0.39	1.56	0.05	-3.13	0	3.13
		21	0.05	0.2	0.39	$\leq 0.025$ -3.13	0		

 $\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain $\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strain

であったにもかかわらず、CEZ、FMOX、CLDMに良好な感受性を示し、ABPC、OFLXに耐性を認めた (Table 7)。

*Prevotella* は合計 80 株分離され、そのうちの 13 株 (16.3%) が  $\beta$ -lactamase 産生菌であった。産生菌における耐性率は、CLDM と OFLX で低く、ABPC、CEZ、FMOX では耐性率が高い結果となった (Table 8)。MIC<sub>90</sub> においても CLDM は 0.05  $\mu\text{g/ml}$ 、OFLX 3.13  $\mu\text{g/ml}$  と良好な感受性の結果を認めた。 $\beta$ -lactam 剤の MIC 値は MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> いずれにおいても  $\beta$ -

lactamase 産生菌群のほうが非産生菌群よりも有意に高く、また、耐性率の点でも  $\beta$ -lactamase 活性と MIC との間に相関性が認められた。菌種別では *Prevotella oralis* において *Prevotella* で唯一 CLDM および OFLX 耐性株が認められた (Tables 9~12)。

### III. 考 察

口腔領域感染症からの検出菌は、*Streptococcus*、*Peptostreptococcus*、*Prevotella*、*Porphyromonas*、*Fusobacterium* などが多く、そのほとんどが口腔常在菌による内因感染症と考えられている<sup>1-3)</sup>。また、これらは

Table 10. Comparative activity of antimicrobial agents against *Prevotella melaninogenica*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu$ g/ml)				%Resistant	Breakpoint ( $\mu$ g/ml)
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%	range		
<i>P. melaninogenica</i>	ampicillin	2	—	—	—	—	0.39—50	50	6.25
		8	$\leq 0.025$	12.5	25	$\leq 0.025$ —25	25	25	
	cefazolin	2	—	—	—	—	0.78—12.5	0	12.5
		8	$\leq 0.025$	3.13	3.13	$\leq 0.025$ —3.13	0	0	
	flomoxef	2	—	—	—	—	$\leq 0.025$ —1.56	0	12.5
		8	0.05	3.13	6.25	$\leq 0.025$ —12.5	0	0	
	clindamycin	2	—	—	—	—	$\leq 0.025$	0	3.13
		8	$\leq 0.025$	0.05	0.1	$\leq 0.025$ —0.1	0	0	
	ofloxacin	2	—	—	—	—	0.2—1.56	0	3.13
		8	0.78	3.13	3.13	0.05—3.13	0	0	

 $\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain $\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strainTable 11. Comparative activity of antimicrobial agents against *Prevotella loeschii*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu$ g/ml)				%Resistant	Breakpoint ( $\mu$ g/ml)
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%	range		
<i>P. loeschii</i>	ampicillin	1	—	—	—	—	50	100	6.25
		8	$\leq 0.025$	0.1	0.39	$\leq 0.025$ —1.56	0	0	
	cefazolin	1	—	—	—	—	25	100	12.5
		8	$\leq 0.025$	0.2	0.78	$\leq 0.025$ —1.56	0	0	
	flomoxef	1	—	—	—	—	0.2	0	12.5
		8	$\leq 0.025$	0.2	0.39	$\leq 0.025$ —0.78	0	0	
	clindamycin	1	—	—	—	—	$\leq 0.025$	0	3.13
		8	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.05	$\leq 0.025$ —0.2	0	0	
	ofloxacin	1	—	—	—	—	0.39	0	3.13
		8	0.2	0.78	1.56	$\leq 0.025$ —3.13	0	0	

 $\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain $\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strain

抗菌剤投与の有無に関わらず膿瘍を形成し、そこから検出される細菌は嫌気性菌を中心とした複数菌混合感染であることが多い。今回の我々の検索でも96症例中93例(96.9%)が複数菌感染で、88例(91.7%)から嫌気性菌が分離された。複数菌感染症においては、起炎病原菌以外に混在している細菌が種々の機序により起炎病原菌の起炎性および病原性を増強あるいは保護している可能性が考えられる。このような概念は1969年にMaddocksらが提唱したindirect pathogenicity(間接的病原性)として表現されてい

る<sup>4)</sup>。この病原性発生の1つの機序として、起炎菌に対して投与された抗菌剤を細菌が抗菌剤不活化酵素を産生して失活させ、間接的に起炎性を高めることが考えられ、その代表として $\beta$ -lactam系抗菌剤を加水分解する酵素である $\beta$ -lactamase産生菌が挙げられる。横田<sup>6)</sup>は臨床分離菌の $\beta$ -lactamase産生率を全国的に検索したところ、*S. aureus* 69.4%、Coagulase negative staphylococci 56.2%、*E. cloacae* 87.9%、*Pseudomonas aeruginosa* 63.7%、*Bacteroides fragilis* 83.6%などと高い産生率を示したと述べている。口腔領域感

Table 12. Comparative activity of antimicrobial agents against *Prevotella oralis*

Organisms	Antimicrobial agent	No. of strains		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			%Resistant	Breakpoint ( $\mu\text{g/ml}$ )
		$\beta$ -lactamase (+)	$\beta$ -lactamase (-)	50%	80%	90%		
<i>P. oralis</i>	ampicillin	5	50	100 $\leq$	100 $\leq$	6.25 - 100 $\leq$	80	6.25
		9	$\leq 0.025$	0.05	0.1	$\leq 0.025 - 0.1$	0	
	cefazolin	5	12.5	50	50	6.25 - 50	60	12.5
		9	0.05	0.1	0.1	$\leq 0.025 - 0.1$	0	
	flomoxef	5	1.56	100 $\leq$	100 $\leq$	$\leq 0.025 - 100\leq$	40	12.5
		9	0.05	0.05	0.1	$\leq 0.025 - 0.1$	0	
	clindamycin	5	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	3.13	$\leq 0.025 - 100\leq$	20	3.13
		9	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.1	$\leq 0.025 - 0.1$	0	
	ofloxacin	5	0.1	0.2	1.56	$\leq 0.025 - 6.25$	20	3.13
		9	0.1	0.39	3.13	$\leq 0.025 - 12.5$	20	

$\beta$ -lactamase (+):  $\beta$ -lactamase producing strain

$\beta$ -lactamase (-):  $\beta$ -lactamase non-producing strain

染症では、山本ら<sup>9)</sup>が口腔から分離した47株の *Bacteroides (Prevotella) intermedius* の  $\beta$ -lactamase 活性を検討し、7株 (14.9%) に活性が認められ、 $\beta$ -lactam 剤の  $\beta$ -lactamase 産生株に対する MIC はいずれも高く両者の間に相関性が認められたと述べている。松本<sup>2)</sup>が閉鎖性歯槽膿瘍から分離した *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* 198 株の  $\beta$ -lactamase 活性を検索しているが、60株 (30.3%) に活性が認められ、その中の59株が *Bacteroides* であり、閉鎖性歯槽膿瘍の発症には *Bacteroides* の耐性化が関与するのではないかと述べている。また、金子ら<sup>3)</sup>による口腔領域感染症の臨床分離菌に対する細菌学的検索では、閉塞膿瘍46症例から100菌株分離され、 $\beta$ -lactamase 産生菌は、*Citrobacter freundii* 1株、*Bacteroides (Prevotella) buccae* 2株、の計3株 (3.0%) であったと述べている。これらの  $\beta$ -lactamase 産生菌検出率の検討は、総分離菌に対する産生菌の割合であるので、 $\beta$ -lactamase 産生菌検出症例が全症例に対してどの様な割合であるのかは不明である。今回の我々の検索では、96症例中23例 (24.0%) から  $\beta$ -lactamase 産生菌が検出され、口腔外科領域感染症においても4例に1例という高い割合で産生菌が認められるという結果になった。総分離菌株に対する割合は385株中26株 (6.8%) で金子らの報告に近い値であった。

千葉ら<sup>7)</sup>は、検体採取前に抗菌剤の投与を受けていた症例に対して喀痰内の  $\beta$ -lactamase 活性を検討しているが、喀痰採取時に化学療法が施行されていた症

例からは73.1%と高い割合で  $\beta$ -lactamase 産生菌が検出されたのに対し、非投与群では30.8%と低値であったと述べている。今回の検索では、投与群から49.3%の割合で  $\beta$ -lactamase 産生菌が検出され、非投与群の9.1%に比較して有意に高い結果となった。この結果から、抗菌剤投与により、口腔領域感染症に關与している  $\beta$ -lactamase 産生能を有する細菌の  $\beta$ -lactamase 産生性が誘導されている可能性が考えられた。

今回検索した  $\beta$ -lactamase 産生性嫌気性菌の  $\beta$ -lactam 剤感受性は非産生菌に比べ MIC 値は有意に高く、 $\beta$ -lactamase 活性との相関性が認められた。しかし、CEZ ディスクのみの反応株の中にはセフェム系抗菌剤に比較的良好な感受性であるにも関わらず、ABPC 耐性という株が認められた。これは山本ら<sup>9)</sup>、江龍ら<sup>10)</sup>の報告と同様の結果であった。また、*Staphylococcus* などでは  $\beta$ -lactamase 非産生菌においても比較的多くの耐性株を認めたことから、細菌の耐性機構は  $\beta$ -lactamase による  $\beta$ -lactam 系抗菌剤の不活化の他に、細菌の外膜の薬剤透過性低下、 $\beta$ -lactam 剤の作用点の変化など、耐性機構の複雑化が推察される。本薬剤感受性試験の結果、ABPC はどの  $\beta$ -lactamase 産生菌に対しても耐性率が高く、口腔領域感染症から検出される  $\beta$ -lactamase 産生菌には適応できないことが判明した。もっとも安定した抗菌力を示したのが OFLX で、26株の  $\beta$ -lactamase 産生菌中耐性菌は3株 (11.5%) であった。また  $\beta$ -lactamase 産生性嫌気性菌に関しては、CLDM が耐

性率および MIC 値の点でもっとも優れている結果となった。現在のところ口腔領域感染症からの分離される  $\beta$ -lactamase 産生菌に対して OFLX は良好な抗菌力を維持してはいるものの、耐性化の動向<sup>18)</sup>には十分な注意を払う必要があると思われる。CLDM は宮内<sup>15)</sup>により、近年、嫌気性菌に対する耐性率の上昇が認められると報告されているが、Sanders ら<sup>19)</sup>、中浜<sup>20)</sup>の研究によると CLDM には *Enterobacter cloacae* などのグラム陰性桿菌の  $\beta$ -lactamase 産生を抑制する作用があり、そのほかにも抗菌活性以外の様々な host defense mechanism が報告されていること<sup>21-23)</sup>、また一部の  $\beta$ -lactam 剤との混合同時併用が可能であること<sup>24)</sup>から、CLDM は  $\beta$ -lactamase 産生菌に対して抗菌力による治療効果以上のことが期待できるものと考えられる。

医療の進歩、患者の高齢化などにより我々口腔外科領域でも compromised host が増加している現状において、医療側の薬剤耐性に対する十分な認識と抗菌剤の適切な使用法が望まれる。今回の検索の結果、口腔外科領域感染症においては他科領域感染症に比べ  $\beta$ -lactamase 産生菌の検出率は低いものの、複数菌感染症における間接的病原性の意義を考えた場合、われわれの領域でも  $\beta$ -lactamase 産生菌の検出は重要であると考えられた。

#### 文 献

- 1) 斎木康正, 中川清昌, 熊谷茂宏, 山本悦秀: 顎口腔領域感染症の重症度別検出菌の検討。日口外誌 40: 501~508, 1994
- 2) 松本和浩: 閉鎖性の歯槽膿瘍の細菌学的研究。日口外誌 36: 2016~2034, 1990
- 3) 金子明寛, 他 (9施設): Cefditoren pivoxil (ME 1207) 多施設臨床試験の臨床分離株に対する細菌学的検討。歯薬療法 11: 124~140, 1992
- 4) Maddocks J L, May R J: "indirect pathogenicity" of penicillinase-producing enterobacteria in chronic bronchi infections. Lancet i: 793~795, 1969
- 5) Brook I: Direct and Indirect pathogenicity of *Branhamella catarrhalis*. Drugs 31 (Suppl. 3): 97~102, 1986
- 6) 横田 健: 臨床分離菌の  $\beta$ -lactamase 産生率と各種薬剤に対する感受性の検討。Chemotherapy 39: 941~952, 1991
- 7) 千葉潤一, 加藤美和, 渡辺 彰, 大泉耕太郎, 本宮雅吉: 喀痰内の  $\beta$ -lactamase 活性に関する研究 (I)。Chemotherapy 37: 1031~1039, 1989
- 8) 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: 気道の常在細菌叢が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼに関する検討。Chemotherapy 39: 961~967, 1991
- 9) 山本宏治, 福島久典, 豊嶋ゆかり, 井上純一, 中沢

- 賢一, 中辻平八, 佐川寛典: 口腔から分離した Black-pigmented *Bacteroides* の抗生物質感受性。Chemotherapy 36: 405~411, 1988
- 10) 江龍多美子, 尾上孝利: ヒト口腔由来 *Prevotella intermedia* の  $\beta$ -lactamase 活性。歯科医学 56: 309~320, 1993
- 11) Koneman E W, Allen S D, Janda W M, Schreckenberger P C, Winn Jr, W C (eds.): Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th. Ed., J B Lippincott Co, Philadelphia, 1992
- 12) 上野一恵, 光岡知足, 渡辺邦友, 小林とよ子, 磯町美登利: 嫌気性菌の分離と同定法。1版, (日本細菌学会教育委員会編), P. 1~62, 菜根出版, 東京, 1982
- 13) 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
- 14) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 27: 559~560, 1979
- 15) 宮内正幸, 石戸利貞, 加藤直樹, 渡辺邦友, 上野一恵: 嫌気性無芽胞グラム陰性菌の薬剤感受性分布およびその年次変遷。Chemotherapy 37: 1229~1244, 1989
- 16) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. 2nd. Ed., NCCLS 10: NCCLS Document M11-A 2, 1990
- 17) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 2nd. Ed., NCCLS 10: NCCLS Document M7-A 2, 1990
- 18) 後藤 元, 他 (19施設): 本邦における ofloxacin 耐性菌の現況。Chemotherapy 38: 1~8, 1990
- 19) Sanders C C, Sanders Jr. W E, Goering R V: Influence of clindamycin on derepression of  $\beta$ -lactamase in *Enterobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 23: 48~53, 1983
- 20) 中浜 力, 中林美枝子, 副島林造: In vitro における Clindamycin の  $\beta$ -lactamase 産生抑制作用。Prog. Med. 11: 2627~2634, 1991
- 21) Doran J E, Rissing J P: Influence of clindamycin on fibronectin-staphylococcal interactions. J Antimicrob Chemother 12 (suppl. c): 75~85, 1983
- 22) 古賀宏延, 他: 各種抗生剤のヒト多形核好中球内への移行に関する研究。Chemotherapy 33: 688~695, 1985
- 23) Lianou P E, Bassaris H P, Votta E G, Pappavassiliou J T: Interaction of subminimal inhibitory concentrations of clindamycin and gram-negative aerobic organisms: Effects on adhesion and polymorphonuclear leukocyte function. J Antimicrob Chemother 15: 481~487 1985

24) 蕭藤 厚, 他 (17 施設): 呼吸器感染症における  
Azthreonom と Clindamycin の併用療法に関する

研究. *Chemotherapy* 33: 882~903, 1985

$\beta$ -lactamase activity and drug susceptibility of organisms isolated from  
obstructive abscesses in the field of oral surgery

Yasumasa Saiki, Kiyomasa Nakagawa and Etsuhide Yamamoto

Department of Oral Surgery, School of Medicine, Kanazawa University,

13-1 Takaramachi, Kanazawa 920, Japan

We investigated  $\beta$ -lactamase activity determined by the nitrocefin disc method and acidometry disc method. The object bacteria were isolated from infections in the field of oral surgery. A total of 96 samples collected from patients with obstructive purulent infections in their oral cavities were examined, and 385 strains of bacteria were isolated. The  $\beta$ -lactamase activity was positive in 26 (6.8%) of 385 strains. Twenty-six microbes, including 4 strains of *Staphylococcus aureus*, 2 of *Staphylococcus epidermidis*, 1 of *Staphylococcus haemolyticus*, 5 each of *Prevotella oralis* and *Prevotella intermedia*, 2 of *Prevotella melaninogenica*, 1 each of *Prevotella loescheii*, *Bacteroides capillosus*, *Klebsiella oxytoca* and *Moraxella osloensis*, and 3 of *Enterobacter cloacae* were recovered from 23 patients (24.0%) with oral infections. The  $\beta$ -lactamase activity of isolates from patients with prior antibiotic chemotherapy was higher than that from those without prior chemotherapy.  $\beta$ -lactamase producing bacteria in the field of oral surgery were highly sensitive to clindamycin and ofloxacin.