

## 小児細菌性上気道感染症における indirect pathogenicity の細菌学的検討

出口 浩一<sup>1)</sup>・豊永 義清<sup>2)</sup>・石原 俊秀<sup>2)</sup>・石原 理加<sup>1)</sup>  
鈴木由美子<sup>1)</sup>・石井由紀子<sup>1)</sup>・中澤ありさ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京総合臨床検査センター研究部\*

<sup>2)</sup> 山梨赤十字病院小児科

(平成9年11月10日受付・平成10年2月27日受理)

小児細菌性上気道感染症患者の上咽頭ぬぐい液から検出した細菌の検出パターン、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生性ならびに薬剤感受性を調べて、直接的病原性菌 (direct pathogen) と  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する間接的病原性菌 (indirect pathogen) を推定し、これらの症例における第一次選択剤のあり方を考察した。

1. direct pathogen と推定した菌種は、*Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* の割合が高く、*S. pneumoniae* は PC-intermediate *S. pneumoniae* (PISP) + PC-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) が 29.5%、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *H. influenzae* は 13.8% であった。

2. indirect pathogen と推定した菌種は、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* および *Staphylococcus aureus* が多く、これらの菌種は *S. pneumoniae* または *H. influenzae* と同時に検出される症例が多かった。

3. 検出菌パターンは、*S. pneumoniae* + *M. (B.) catarrhalis*、*H. influenzae* + *M. (B.) catarrhalis* が多く、両者を合わせると全症例の 32.6% を占めることから、小児細菌性上気道感染症における indirect pathogenicity の主流は *M. (B.) catarrhalis* が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼと考えられた。

4. *S. pneumoniae* および *H. influenzae* の除菌率は、indirect pathogen が関与したと仮定した症例群において clavulanic acid/amoxicillin の除菌率が amoxicillin に比較して有意差をもって勝っていた。

**Key words:** indirect pathogenicity,  $\beta$ -ラクタマーゼ, BRO酵素, *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis*, clavulanic acid/amoxicillin

小児細菌性上気道感染症の主な原因菌は、*Streptococcus pneumoniae*、*Streptococcus pyogenes*、*Haemophilus influenzae* とされているが<sup>1)~3)</sup>、そこにおける感染部位には多くの  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌種が常在している<sup>3)~5)</sup>。我々は、1991年に上気道感染症における *in vitro* での indirect pathogenicity について報告しているが<sup>2)</sup>、今回は別報<sup>6)</sup>の小児細菌性上気道感染症を対象とした臨床的検討の際に検出した臨床分離株を対象として indirect pathogenicity の可能性について検討した。

### I. 材料と方法

#### 1. 臨床分離株の分離・同定

1996年6月から1997年3月に、山梨赤十字病院小児科を外来受診し、白血球増多(好中球優位)およびCRP陽性を確認し、細菌性上気道感染症と診断した生後1か月から9歳の患者を対象とした。シードスワブ2号R(栄研, アミー改良培地)<sup>3)</sup>のアルミ軸の先端を湾曲させた綿棒を、口腔粘膜に接触しないように口蓋内に挿入し、口蓋垂上部の上咽頭の分泌液を採取した。

採取後24時間以内にクール宅急便(0°C)にて当所に搬入し、細菌の分離・同定を行った。この際、NHM寒天培地(極東)をベースにした7%綿羊血液寒天平板またはCO<sub>2</sub>培養したチョコレート寒天平板(日水)上のコロニーがほぼ全面に観察された結果を(+++), それよりも少ないものの、上記培地のほぼ2/3~1/2のコロニー数を(++), 同じく1/3以下を(+), コロニーが認められないものを(-)と判定した<sup>7)</sup>。そして、*S. pneumoniae*は血液寒天平板上で $\alpha$ -溶血を呈し、多くの株は自家融解による中心部にくぼみを形成するコロニー、または巨大な粘稠性コロニーでグラム陽性球菌であること、オプトヒンディスク(昭和)に感性を示すことならびにデオキシコル酸ナトリウムで溶菌されることを確認した後に、Slidex pneumo Kit (bioMerux, France)<sup>8)</sup>に陽性の株を*S. pneumoniae*として同定すると共に、*Haemophilus* spp.はXV因子要求性の観察の後にRapID NH System(アムコ)、*Moraxella* spp., *Kingella* spp.もRapID NH System

で同定したが、他の菌種は特別なキットは使用せずに同定を行った。

## 2. $\beta$ -ラクタマーゼ産生性のチェック

上記 1. で分離・同定した株の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生の有無を、benzylpenicillin (PCG) と cefazoline (CEZ) を反応試薬とした acidimetry disc method ( $\beta$ -チェック R, 日本生物材料センター), nitrocefin を反応試薬とした chromogenic disc method (セフィナーゼ R, BBL) にてチェックした。

## 3. 直接的病原性菌と間接的病原性菌の推定

上記 1, 2. で得られた結果から、単独菌感染として検出された菌については、その菌数や  $\beta$ -ラクタマーゼ産生性にかかわらず直接的病原性菌 (direct pathogen) と仮定した。複数菌感染として検出された菌については、まず  $\beta$ -ラクタマーゼ非産生菌は、その感染病巣において間接的病原性を発揮する可能性は考えられないため、その菌量にかかわらず direct pathogen と仮定することとした。一方、複数菌感染における  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌については、まず病原性が高いと考えられる *H. influenzae* は direct pathogen として推定し、*S. aureus* や *M.(B.) catarrhalis* などについては、菌量の比較において他の同時検出菌より多い場合は direct pathogen と仮定し、菌量が同等あるいは少ない場合は間接的病原性菌 (indirect pathogen) と仮定することとした。

なお、これらの仮定は、あくまで複数菌感染例において  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌が、 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生菌の消長に影響を与える可能性 (間接的病原性) を検討する本研究の仮説にもとづくものであり、direct または indirect pathogen の明確な分類を意図したのではない。

## 4. 最小発育阻止濃度の測定

direct および indirect pathogen と仮定した株を対象にして、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定標準法に従い<sup>9)</sup>、 $10^6$ CFU/ml 接種の寒天平板希釈法にて minimum inhibitory concentration (MIC) を測定した。MIC 測定薬剤は CVA/AMPC (clavulanic acid/amoxicillin, 配合比 1: 2, スミスクライン・ピーチャム製薬), AMPC (amoxicillin, スミスクライン・ピーチャム製薬), cefaclor (CCL, 塩野義製薬), cefdinir (CFDN, 藤沢薬品工業), cefditoren (CDTR, 明治製薬), erythromycin (EM, ダイナポット) を対象とした。

なお、上記薬剤は標準原末を使用すると共に、*S. pneumoniae* には PCG の MIC 測定を追加し、PCG の MIC 値  $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$  を示した株を PC-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP), 同じく  $0.1 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$  を示した株を PC-intermediate *S. pneumoniae* (PISP), 同じく  $\geq 1.56 \mu\text{g/ml}$  を示した株を PC-resistant *S.*

*pneumoniae* (PRSP) に区分した。

## 5. 抗菌薬の投与と除菌効果の判定

当科外来初診時に、細菌性上気道感染症が疑われた症例に対し、AMPC 細粒 20~40 mg (力価) /kg/日または CVA/AMPC (配合比 1: 2) 顆粒 30~60 mg (力価) /kg/日を、無作為とするために診察順に交互に経口投与した。投与期間は、原則として 7 日間とした。なお、細菌同定検査ならびに白血球数、CRP 検査の結果から細菌性上気道感染症の確定診断がついた症例については、抗菌薬投与開始後 7 日後に再度上咽頭ぬぐい液を採取でき、細菌同定検査が可能であった症例において、投与開始時に検出された細菌の消長を検討した。

## II. 成 績

### 1. 検出菌種の内訳

Table 1 に初診時に採取した 266 症例の上咽頭ぬぐい液からの検出菌種を示した。前述の基準により direct pathogen と仮定した菌種は *S. pneumoniae* 132 株 (PISP または PRSP 39 株を含む), *H. influenzae* 138 株 ( $\beta$ -ラクタマーゼ産生 19 株を含む) であり、これら両菌種の占める割合が圧倒的に高く、次いで *S. pyogenes* 41 株, *Staphylococcus aureus* 13 株 (methicillin 耐性 3 株を含む), *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* 5 株などであった。

一方、direct pathogen と仮定した菌種よりも菌数が少ないものの、 $\beta$ -ラクタマーゼを産生していて間接的病原性が考えられる菌種は *M.(B.) catarrhalis* 94 株、と *S. aureus* 61 株が多く、その他は *Haemophilus parainfluenzae* 15 株, *Enterobacteriaceae* 7 株, *Acinetobacter* spp. 11 株, *Kingella denitrificans* 4 株などであった。

### 2. 主な検出菌パターン

Table 2 は主な菌種の検出菌パターンである。ここでは菌種において *S. pneumoniae* が優位であった症例と、同じく *influenzae* が優勢であった症例をまとめた。*S. pneumoniae* 検出症例では単独菌感染例が 23 例みられたが、*S. pneumoniae* + *H. influenzae* + *M.(B.) catarrhalis* の組み合わせが 24 例ともっとも多く、*S. pneumoniae* と共に *M.(B.) catarrhalis* が検出された症例は 46 症例で、全症例比 (266 症例) では 17.2% を占めていた。

一方、*H. influenzae* 検出症例では単独菌感染例が 9 例みられたが、*H. influenzae* + *M.(B.) catarrhalis* の組み合わせが 32 例ともっとも多く、*H. influenzae* と共に *M.(B.) catarrhalis* が検出された症例は 41 例で、全症例比 (266 症例) では 15.4% を占めていた。

### 3. $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の頻度

Fig. 1 は検出株数が多かった *H. influenzae*, *M.(B.) catarrhalis* および methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の頻度である。 $\beta$ -

Table 1. Organisms isolated from patients (Total 266 patients)

	Organism	No. of strains	% of total cases
Assumed as direct pathogen	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <sup>a)</sup>	132	49.6
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	41	15.4
	<i>Haemophilus influenzae</i> <sup>b)</sup>	138	51.9
	<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>c)</sup>	13	4.9
	<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>	5	1.9
	others <sup>d)</sup>	11	4.1
Assumed as indirect pathogen	<i>Staphylococcus aureus</i>	61	22.9
	<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>	94	35.3
	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	15	5.6
	<i>Escherichia coli</i>	2	0.8
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0.4
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	1.5
	<i>Enterobacter</i> spp.	6	2.3
	<i>Acinetobacter</i> spp.	11	4.1
	<i>Kingella denitrificans</i>	4	1.5
	others <sup>e)</sup>	7	2.6

<sup>a)</sup> including penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (31 strains) and penicillin-resistant *S. pneumoniae* (8 strains)

<sup>b)</sup> including  $\beta$ -lactamase-producing strains (19 strains)

<sup>c)</sup> including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (3 strains)

<sup>d)</sup>  $\beta$ -streptococci (7 strains), *Acinetobacter haemolyticus* (1 strain), *Acinomyces pyogenes* (1 strain), *Enterobacter aerogenes* (1 strain), *Citrobacter freundii* (1 strain)

<sup>e)</sup> Coagulase-negative staphylococci (3 strains), *Bacillus cereus* (1 strain), *Moraxella* spp. (2 strains), *Pseudomonas aeruginosa* (1 strain)

Table 2. Patterns of organisms isolated (Total 266 patients)

	Organisms isolated with <i>Streptococcus pneumoniae</i> or <i>Haemophilus influenzae</i>	No. of patients	%
<i>Streptococcus pneumoniae</i> isolated	<i>Streptococcus pneumoniae</i> alone	23	8.6
	<i>Haemophilus influenzae</i>	15	5.6
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	5.6
	<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>	15	5.6
	<i>Haemophilus influenzae</i> + <i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>	24	9.0
	<i>Haemophilus influenzae</i> + <i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i> + others	3	1.1
	<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	3	1.1
	<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i> + others	1	0.4
	<i>Haemophilus influenzae</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1.9
	<i>Haemophilus influenzae</i> + others	9	3.4
	<i>Staphylococcus aureus</i> + others	3	1.1
	others*	14	5.2
	<i>Haemophilus influenzae</i> isolated	<i>Haemophilus influenzae</i> alone	9
<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>		32	12.0
<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>		4	1.5
<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i> + others		5	1.9
<i>Staphylococcus aureus</i>		11	4.1
<i>Staphylococcus aureus</i> + others		2	0.8
others		15	5.6

\*including a patient which penicillin-susceptible *S. pneumoniae* and penicillin-intermediate *S. pneumoniae* were isolated simultaneously.

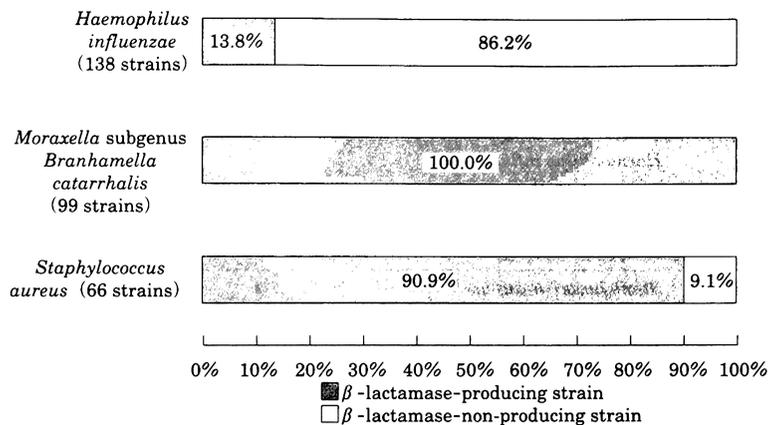
Others: *Haemophilus parainfluenzae*, coagulase-negative staphylococci, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Kingella* spp., etc.

ラクタマーゼ産生株は *H. influenzae* 13.8%, *M. (B.) catarrhalis* 100.0%, MSSA 90.9% であり,  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株は *M. (B.) catarrhalis* と MSSA が高い割合であった。

#### 4. MIC 測定結果

##### 1) *S. pneumoniae* に対する MIC 分布

Table 3 の上段は PSSP, 同じく二段目は PISP + PRSP に対する 6 薬剤の MIC 分布である。PCG の MIC は PSSP, PISP, PRSP の区分を目的としたので, Table 3 からは除外した。

Fig. 1. Frequency of  $\beta$ -lactamase-producing strain.Table 3. Antibacterial activity against *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	range	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	
				50%	90%
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PSSP)	93	CVA/AMPC	$\leq 0.025 - 0.05$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
		AMPC	$\leq 0.025 - 0.05$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
		CCL	0.2 - 0.78	0.39	0.78
		CFDN	$\leq 0.025 - 0.1$	0.05	0.1
		CDTR	$\leq 0.025 - 0.05$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
		EM	$\leq 0.025 - >100$	0.05	$>100$
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP + PRSP)	39	CVA/AMPC	$\leq 0.025 - 1.56$	0.39	0.78
		AMPC	$\leq 0.025 - 1.56$	0.2	0.78
		CCL	3.13 - $>100$	25	100
		CFDN	0.1 - 12.5	3.13	6.25
		CDTR	0.1 - 3.13	0.39	0.78
		EM	$\leq 0.025 - >100$	6.25	$>100$
<i>Haemophilus influenzae</i> [ $\beta$ -lactamase (-)]	119	CVA/AMPC	0.2 - 1.56	0.39	0.78
		AMPC	0.2 - 1.56	0.39	0.78
		CCL	1.56 - 100	3.13	25
		CFDN	0.1 - 3.13	0.39	1.56
		CDTR	$\leq 0.025 - 0.1$	$\leq 0.025$	0.05
		EM	1.56 - 25	3.13	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> [ $\beta$ -lactamase (+)]	19	CVA/AMPC	0.2 - 3.13	0.39	0.78
		AMPC	3.13 - $>100$	12.5	100
		CCL	1.56 - 100	6.25	25
		CFDN	0.2 - 3.13	0.39	1.56
		CDTR	$\leq 0.025 - 0.2$	$\leq 0.025$	0.1
		EM	1.56 - 6.25	3.13	6.25

PSSP: penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae*, PISP: penicillin-intermediate *Streptococcus pneumoniae*, PRSP: penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*  
 CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, AMPC: amoxicillin, CCL: cefaclor, CFDN: cefdinir, CDTR: cefditoren, EM: erythromycin

PSSP に対する MIC-range および MIC<sub>90</sub> は, CVA/AMPC と AMPC はともに  $\leq 0.025 \sim 0.05 \mu\text{g/ml}$ ,  $\leq 0.025 \mu\text{g/ml}$  で, 両者は CDTR と同等で, CCL, CFDN, EM に勝っていた。一方, PISP+PRSP に対する MIC-range は, CVA/AMPC および AMPC は共に  $\leq 0.025 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$  と同等であったが, MIC<sub>50</sub> では CVA/AMPC  $0.39 \mu\text{g/ml}$ , AMPC  $0.2 \mu\text{g/ml}$  と CVA/AMPC が AMPC に 1 管差 (2 倍) 劣るものの,

MIC<sub>90</sub> で両者は  $0.78 \mu\text{g/ml}$  と同等であり, MIC<sub>90</sub> に示された CVA/AMPC と AMPC の値は CDTR と同等で, CCL, CFDN, EM に勝っていた。

#### 2) *H. influenzae* に対する MIC 分布

Table 3 の三段目は  $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株, 同じく四段目は  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株に対する 6 薬剤の MIC 分布である。 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株に対する MIC-range および MIC<sub>90</sub> は CVA/AMPC と AMPC は

共に 0.2~1.56  $\mu\text{g/ml}$ , 0.78  $\mu\text{g/ml}$  で、両者は CDTR には劣るものの、CCL, EM には明らかに勝り、CFDN にもやや勝っていた。一方、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生株に対する MIC<sub>90</sub> は AMPC 100  $\mu\text{g/ml}$ , CVA/AMPC 0.78  $\mu\text{g/ml}$  であり、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生株に対する CVA/AMPC の MIC<sub>90</sub> は CDTR には劣るものの、AMPC, CCL, EM には明らかに勝り、CFDN にもやや勝っていた。

なお、 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株と  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の双方に対する CCL と CFDN の MIC-range は共に長く、 $\beta$ -ラクタマーゼによる耐性とは異なる耐性機構が関与する株の存在を示唆していた。

### 3) *M.(B.) catarrhalis* に対する MIC 分布

Table 4 の上段は *M.(B.) catarrhalis* に対する 6 薬剤の MIC 分布である。MIC-range は CVA/AMPC と EM は短いものの、AMPC, CCL, CFDN, CDTR は長く、MIC<sub>90</sub> は CVA/AMPC 0.1  $\mu\text{g/ml}$  および EM 0.2  $\mu\text{g/ml}$  の値が低かった。

### 4) *S. aureus* に対する MIC 分布

Table 4 の下段は、*S. aureus* (全株が MSSA) 対

する 6 薬剤の MIC 分布である。MIC-range は AMPC, CCL, EM は長く、CVA/AMPC はやや長く、CFDN と CDTR は短かく、CVA/AMPC の MIC<sub>90</sub> は CFDN には劣り、CDTR にはやや劣るものの、AMPC, CCL, EM には勝っていた。

### 5. direct pathogen として仮定した菌種の除菌効果

Table 5 は、判定が可能であった 176 症例の CVA/AMPC または AMPC 投与 7 日目以降の上咽頭ぬぐい液における direct pathogen として仮定した菌種の除菌効果である。感染形態別の単独菌感染症例 (一部は  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株検出症例を含む)、および複数菌感染症例で  $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株の組み合わせ例における除菌効果は有意差が認められないものの、複数菌感染症例で  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株との組み合わせ (大部分が indirect pathogen と仮定) の除菌効果は CVA/AMPC 投与群 88.7%, AMPC 投与群 54.2% であり、 $\chi^2$  検定では  $p=0.001$  の有意差をもって CVA/AMPC の除菌効果が勝り、さらに複数菌感染症例の小計、および全症例の検定結果でも CVA/AMPC の除菌効果が有意差をもって勝っていた。

Table 4. Antibacterial activity against *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* and *Staphylococcus aureus*

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	range	MICs ( $\mu\text{g/ml}$ )	
				50%	90%
<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>	99 <sup>a)</sup>	CVA/AMPC	$\leq 0.025 - 0.78$	$\leq 0.025$	0.1
		AMPC	0.2 - >100	3.13	25
		CCL	0.78 - >100	6.25	50
		CFDN	$\leq 0.025 - 3.13$	0.39	3.13
		CDTR	$\leq 0.025 - 6.25$	0.39	3.13
		EM	$\leq 0.025 - 0.39$	0.1	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	66 <sup>b)</sup>	CVA/AMPC	$\leq 0.025 - 3.13$	0.39	0.78
		AMPC	$\leq 0.025 - 25$	3.13	6.25
		CCL	0.39 - 12.5	1.56	3.13
		CFDN	$\leq 0.025 - 0.2$	0.05	0.1
		CDTR	0.2 - 0.78	0.39	0.39
		EM	$\leq 0.025 - >100$	0.1	12.5

<sup>a)</sup> all  $\beta$ -lactamase-producing strains, <sup>b)</sup> all methicillin-susceptible strains

CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, AMPC: amoxicillin, CCL: cefaclor, CFDN: cefdinir, CDTR: cefditoren, EM: erythromycin

Table 5. Bacteriological effectiveness in monomicrobial and polymicrobial infections (Evaluation 7 days after drug administration)

Pattern of infection	Bacteriological efficacy <sup>1)</sup> (% elimination)		Statistical analysis <sup>2)</sup>	
	CVA/AMPC	AMPC		
Monomicrobial infection	17/19 ( 89.5)	17/22 ( 77.3)	N. S.	
Polymicrobial infection	patients with $\beta$ -lactamase-producing organism	55/62 ( 88.7)	32/59 ( 54.2)	p=0.001
	patients with $\beta$ -lactamase-non-producing organism	5/ 5 (100.0)	5/ 9 ( 55.6)	N. S.
	subtotal	60/67 ( 89.6)	37/68 ( 54.4)	p=0.001
Total	77/86 ( 89.5)	54/90 ( 60.0)	p=0.001	

<sup>1)</sup> No. of patients with direct pathogen eliminated/No. of patients evaluated

<sup>2)</sup> Chi-square test, N. S.: Not significant

CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, AMPC: amoxicillin

6. *S. pneumoniae* の除菌率

Table 6 は, *S. pneumoniae* の除菌効果の判定が可能であった 91 症例における *S. pneumoniae* の除菌率である。CVA/AMPC 投与群の内訳は PSSP 感染 26 例, PISP+PRSP 感染 18 例, AMPC の投与群の内訳は PSSP 感染 30 例, PISP+PRSP 感染 17 例であった。CVA/AMPC 投与群の除菌率は PSSP 88.5%, PISP+PRSP 88.9% で, *S. pneumoniae* としての除菌率は 88.6%, AMPC 投与群の除菌率は PSSP 76.6%, PISP+PRSP 64.7% で *S. pneumoniae* としての除菌率は 72.3% であった。*S. pneumoniae* としての除菌効果は  $\chi^2$  検定では  $P=0.051$  の有意傾向差で CVA/AMPC が勝っていた。さらに感染形態別では複数菌感染症例で  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株 (大部分が indirect pathogen と仮定) との組み合わせにおける *S. pneumoniae* とし

ての除菌率は, CVA/AMPC 投与群 87.1%, AMPC 投与群 67.7% であり, 複数菌感染症例の Fisher's exact test では  $P=0.048$  の有意差をもって CVA/AMPC の除菌率が勝っていた。

なお, PISP+PRSP の除菌率も CVA/AMPC の割合が高かったが, 母数が少ないために検定は不可能であった。

7. *H. influenzae* の除菌率

Table 7 は, *H. influenzae* の除菌効果の判定が可能であった 76 症例における *H. influenzae* の除菌率である。感染形態別の単独菌および複数菌感染症例で  $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株の組み合わせにおける除菌率は共に有意差は認められないものの, 複数菌感染症例で  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株との組み合わせ (大部分が indirect pathogen と仮定) の除菌率は, CVA/AMPC 投与群

Table 6. Bacteriological effectiveness in eliminating *Streptococcus pneumoniae* (Evaluation 7 days after drug administration)

Pattern of infection	Bacteriological effectiveness <sup>1)</sup> (% elimination)		Total
	PSSP	PISP+PRSP	
	CVA/AMPC		
monomicrobial infection	5/ 6 ( 83.3)	2/ 2 (100.0)	7/ 8 ( 87.5)
polymicrobial infection			
patients with $\beta$ -lactamase-producing organism	16/18 ( 88.9)	11/13 ( 84.6)	27/31 ( 87.1)
polymicrobial infection			
patients with $\beta$ -lactamase-non-producing organism	2/ 2 (100.0)	3/ 3 (100.0)	5/ 5 (100.0)
polymicrobial infection subtotal	18/20 ( 90.0)	14/16 ( 87.5)	32/36 ( 88.9)**
total	23/26 ( 88.5)	16/18 ( 88.9)	9/44 ( 88.6)*
AMPC			
monomicrobial infection	5/ 5 (100.0)	3/ 4 ( 75.0)	8/ 9 ( 88.9)
polymicrobial infection			
patients with $\beta$ -lactamase-producing organism	14/21 ( 66.6)	7/10 ( 70.0)	21/31 ( 67.7)
polymicrobial infection			
patients with $\beta$ -lactamase-non-producing organism	4/ 4 (100.0)	1/ 3 ( 33.3)	5/ 7 ( 71.4)
polymicrobial infection subtotal	18/25 ( 72.0)	8/13 ( 61.5)	26/38 ( 68.4)
total	23/30 ( 76.6)	11/17 ( 64.7)	34/47 ( 72.3)

<sup>1)</sup> No. of patients with *Streptococcus pneumoniae* eliminated/No. of patients evaluated

\* $p=0.051$  (Chi-square), \*\* $p=0.048$  (Fisher' exact test)

PSSP: penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae*, PISP: penicillin-intermediate *Streptococcus pneumoniae*,

PRSP: penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*

CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, AMPC: amoxicillin

Table 7. Bacteriological effectiveness in eliminating *Haemophilus influenzae* (Evaluation 7 days after drug administration)

Pattern of infection	Bacteriological effectiveness <sup>1)</sup> (% elimination)		Statistical analysis <sup>2)</sup>
	CVA/AMPC	AMPC	
	Monomicrobial infection		
	3/ 3 ( 100.0)	3/ 3 (100.0)	N. S.
Polymicrobial infection			
patients with $\beta$ -lactamase-producing organism	29/31 (93.6)	20/33 ( 60.6)	$p=0.003$
patients with $\beta$ -lactamase-non-producing organism	4/ 4 (100.0)	1/ 2 ( 50.0)	N.S.
subtotal	33/35 ( 94.3)	21/35 ( 60.0)	$p=0.001$
Total	36/38 ( 94.7)	24/38 ( 63.2)	$p=0.002$

<sup>1)</sup> No. of patients with *Haemophilus influenzae* eliminated/No. of patients evaluated

<sup>2)</sup> Fisher's exact test, N.S.: Not significant

CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, AMPC: amoxicillin

93.6%, AMPC 投与群 60.6% であり, Fisher's exact test では  $P=0.003$  の有意差をもって CVA/AMPC の除菌率が勝っていた。さらに, 複数菌感染症例の小計, および全症例での *H. influenzae* に対する除菌率は CVA/AMPC が有意差をもって勝っていた。

### III. 考 察

1969年に Maddocks らは<sup>10)</sup>, 慢性下気道感染症急性増悪時の *S. pneumoniae* や *H. influenzae* の  $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株検出症例を対象とした ampicillin (ABPC) の臨床的有効性を検討して,  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する *Enterobacteriaceae* などが喀痰から同時に検出された症例の有効率が低いことに着目し, この要因は *Enterobacteriaceae* などが産生する  $\beta$ -ラクタマーゼが ABPC の抗菌活性を減弱せしめることによる間接的病原性 (indirect pathogenicity) であると定義した。しかし, Maddocks らが対象とした症例は慢性下気道感染症であり, さらに  $\beta$  ラクタマーゼ産生菌種は *Enterobacteriaceae* と *Pseudomonas aeruginosa* に限られていた。

1980年に Ellis ら<sup>11)</sup> は, 上気道の  $\beta$ -streptococci 感染症における *Staphylococcus* spp., と *Klebsiella pneumoniae* が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼの indirect pathogenicity を取りあげているが, 1986年に Brook<sup>5)</sup> は, 咽・喉頭炎, 扁桃炎, 肺炎, 化膿性中耳炎における直接的病原性菌 (direct pathogen) と  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する indirect pathogen の菌種を詳細に検討して, 上記の感染症における direct pathogen は *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* であり, direct and indirect pathogen は *M. (B.) catarrhalis* であるとした。Brook らが 1986年にあげている indirect pathogen は *S. aureus*, *M. (B.) catarrhalis*, *H. parainfluenzae*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella* spp. であるが, Brook は<sup>12)</sup> 1989年に indirect pathogen として *Legionella pneumophila* と *Fusobacterium* spp. を追加している。Brook の検討は, 投薬した抗菌性物質の臨床的有効性と細菌学的効果を詳細に分析することを出発点としているが, そこでは各々の菌種の病原性, さらに定着常在細菌と  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌種を十分に認識することも重要であるとしている。すなわち, Brook が提唱した direct または indirect pathogenicity は概念としての要素を含むものである。国内においても indirect pathogenicity の研究報告がある。千葉ら<sup>13)</sup> の喀痰中の  $\beta$ -ラクタマーゼ活性 (1989年), 中浜ら<sup>14)</sup> の慢性下気道感染症 (1990年), 砂川<sup>1)</sup> の小児 A 群レンサ球菌感染症に共存していた  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *H. influenzae* の治療経過 (1990年), 西岡ら<sup>15)</sup> の *M. (B.) catarrhalis* の薬剤感受性 (1991年), および著者ら<sup>2)</sup> の上気道感染症に関する報告 (1991年) などが

それである。

我々が今回示した検出菌パターンは, *S. pneumoniae* + *M. (B.) catarrhalis* および *H. influenzae* + *M. (B.) catarrhalis* が多かったが, 気道感染症を広く対象とした Davies ら<sup>16)</sup>, Brook の 1996年の報告<sup>17)</sup>, Wardle ら<sup>18)</sup> も同様の検出菌パターンを報告している。Davies らは喀痰から 1985年に検出した菌種をまとめているが, それによると上記と同様の組み合わせは 23% であるものの, *M. (B.) catarrhalis* 単独菌検出例は 1例もなく, Brook の 1996年の報告, さらに Wardle らの報告にも *M. (B.) catarrhalis* 単独菌検出例はみられない。

Brook<sup>5,12)</sup> は, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* が direct pathogen なのはその病原性にあること, これらの菌種は単独でも優勢な菌数で検出されるものの, *M. (B.) catarrhalis* の病原性は日和見的であり, 検出時の菌数も *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* に比較すると少ない。*M. (B.) catarrhalis* の役割の多くは, そこで産生している  $\beta$ -ラクタマーゼであると述べている。Brook の指摘で注目すべきは, *M. (B.) catarrhalis* の病原性は日和見的にあるとしている点にある。これにより Brook は, 1986年に *M. (B.) catarrhalis* を direct and indirect pathogenicity of *Branhamella catarrhalis*<sup>5)</sup> と定義した。

$\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* の出現と増加の歴史は比較的最近である。Brook<sup>5)</sup> は,  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* を最初に検出したのは 1981年であったとしており, Davies ら<sup>16)</sup> が 1982年~1984年に検出した  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* は, 検出株中の 40.0% であり, 我々が今回示した  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* は 100.0% であった。これらのことから,  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* は 1980年代の前半に出現し, 1980年代後半から急増したと考えられる。すなわち, indirect pathogenicity の研究は, 1980年代における  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* の増加に伴い, 新たな展開期を迎えた。

*M. (B.) catarrhalis* が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼは, BRO に分類される特殊な酵素である。Wallace ら<sup>19)</sup> は, 1989年に *M. (B.) catarrhalis* と同属の *Moraxella* spp. の  $\beta$ -ラクタマーゼを分析して, *Branhamella* の Br と *Moraxella* の O から従来は Ravasio type, 1908 type と命名されていた酵素の各々を BRO-1, BRO-2 とし, 臨床分離 *M. (B.) catarrhalis* が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼは BRO-1 が 90%, BRO-2 が 10% としているが, 我々もそれを示唆する報告をしている<sup>3)</sup>。BRO-1 の特徴は, ペニシリン系薬剤 (PCs) と共に大部分のセファロスポリン系薬剤 (CEPs) の MIC が上昇するが<sup>3,15)</sup>,  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤により強力に阻害される点にある<sup>20-22)</sup>。Wardle ら<sup>18)</sup> は, 喀痰から *S. pneumoniae* と

*H. influenzae*,  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *M. (B.) catarrhalis* を同時に検出した慢性気管支肺炎 7 症例にペニシリンを経口投与してもいずれも無効であったが, CVA/AMPC または EM に変更して有効であったとしており, Brook<sup>17)</sup> は Acute RTI における first と second の薬剤をあげていて, *M. (B.) catarrhalis* が関与しうる感染症に対する first は good activity の CVA/AMPC であり, CEPs は some activity なので second, AMPC および ABPC は non-activity, EM は some activity のみを記述している。そして, 我々が示した複数菌感染症例における *M. (B.) catarrhalis* の占める割合が高い  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株との組み合わせでの除菌効果は, CVA/AMPC が AMPC に有意差を持って勝っていた。なお, *H. influenzae* の CCL と CFDN の MIC 測定結果には,  $\beta$ -ラクタマーゼによる耐性とは異質な耐性を示唆する株が認められ, これらは penicillin-binding protein-4 への親和性の低下と考えられるが, 詳細は著者らの別報<sup>23)</sup> を参照されたい。

以上により, 小児細菌性上気道感染症においては  $\beta$ -ラクタマーゼ産生常在菌による indirect pathogenicity の関与が示唆された。しかし, 我々が対象としたのは外来患者であり, 患者の背景因子 (主として感染防御機能), 再発または再燃も含む長時間の観察を考慮したものではない。また, direct pathogen と indirect pathogen の区別は一夜培養のコロニー数と  $\beta$ -ラクタマーゼ産生の有無から仮定したにすぎず, グラム染色における好中球による食菌などの観察を欠くなどの限界もある。しかし, そこで示した除菌効果と MIC 測定結果は indirect pathogen の存在を示す根拠となり得ること, さらにこれらの症例における indirect pathogenicity の主流は *M. (B.) catarrhalis* が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼと考えられた。我々の今回における検討において, 嫌気性菌は除外したが, Brook<sup>5,12)</sup> も指摘しているように上気道や口腔内の常在菌には *Prevotella* spp. の菌量が多く, *Prevotella* spp. は  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の割合が高い<sup>24)</sup>。これらを考慮すると, indirect pathogenicity として関与する菌種は嫌気性菌も含めるときわめて高い割合となる。しかし, 日常診療においては細菌検査をすべての症例で, なおかつ indirect pathogen の存在を確認することは不可能に近い。これにより, 小児細菌性上気道感染症においては indirect pathogenicity の関与を十分に想定した薬剤の選択が大切である。

この論文は, 第 45 回日本化学療法学会総会において推薦を受けたものである。

#### 文 献

- 1) 砂川慶介: 各科領域で話題の感染症。小児科領域。治療 72: 2289~2234, 1990
- 2) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 他: 気道の常在細菌が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼに関する検討。第 1 報。上気道。Chemotherapy 39: 961~967, 1991
- 3) 出口浩一: 日常診療に必要な臨床微生物学的検査。-臨床と検査をつなぐハンドブッカー-。(株)ユニオンエース, 東京, 1995
- 4) 隆杉正和, 永猛 毅, 松本慶蔵:(ブランハメラ・カタラーリス) 急性呼吸器感染症。化学療法の領域 7: 701~711, 1991
- 5) Brook I: Direct and indirect pathogenicity of *Branhamella catarrhalis*. Drugs 31 (suppl. 3): 97~102, 1986
- 6) 豊永義清, 石原俊秀, 出口浩一: 小児細菌性上気道感染における indirect pathogenicity の臨床的検討。日化療会誌 46: 148~155, 1998
- 7) 出口浩一: 肺炎球菌とインフルエンザ菌。病原性と検出方法の問題点。医薬ジャーナル 33: 1092~1101, 1997
- 8) 柳瀬杉夫, 隆井佐太郎, 田辺 巖: 肺炎球菌のラテックス凝集反応による同定。最新検査 4: 103~106, 1986
- 9) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 10) Maddocks J L, May R J: "Indirect pathogenicity" of penicillinase producing enterobacteria in chronic bronchi infections. Lancet i: 793~795, 1969
- 11) Ellis C J: Indirect pathogenicity. J. Antimicrob. Chemother. 6: 307~309, 1980
- 12) Brook I: The concept of indirect pathogenicity by  $\beta$ -lactamase production, especially in ear, nose and throat infection. J. Antimicrob. Chemother. 24 (suppl. B): 63~72, 1989
- 13) 千葉潤一, 加藤美和, 渡辺 彰, 他: 喀痰内の  $\beta$ -lactamase 活性に関する研究 (I)。喀痰分離株および喀痰内の  $\beta$ -lactamase 活性の相関と間接的病原性の意義。Chemotherapy 37: 1031~1039, 1989
- 14) 中浜 力, 山田真理恵, 副島林造: 慢性下気道感染症における化学療法。化学療法の領域 6: 246~255, 1990
- 15) 西岡きよ, 丹野恭夫, 瀧島 任: (ブランハメラ 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
- 16) Davies B I, Maesen F P V: Epidemiological and Bacteriological Findings on *Branhamella catarrhalis* Respiratory Infections in The Netherlands. Drugs 31 (suppl. 3): 28~33, 1986
- 17) Brook I: Microbiology and Management of Sinusitis. Journal of Otolaryngology 25: 249~256, 1996
- 18) Wardle J K: *Branhamella catarrhalis* as an indirect pathogen. Drugs 31 (suppl. 3): 93~96, 1986
- 19) Wallace R J Jr., Steingrube V A, Nash D R, et al.: BRO  $\beta$ -lactamases of *Branhamella catarrhalis* and *Moraxella* subgenus *Moraxella*, including evidence for chromosomal  $\beta$ -lactamase transfer by conjugation in *B. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens* and *M. lacunata*. Antimicrob. Agents Chemother. 33: 1845~1854, 1989
- 20) 出口浩一, 古口昌美, 鈴木由美子, 他: 外来患者由来新鮮臨床分離株に対する clavulanic acid/amoxicillin の抗菌活性。Jap. J. Antibiotics 48: 1920~1934, 1995
- 21) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 他: 臨床分離株に

- 対する tazobactam/piperacillin の抗菌活性および tazobactam と piperacillin の抗菌併用効果。Chemotherapy 42 (suppl. 2): S116~S125, 1994
- 22) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 他: 臨床分離株に対する sulbactam/ampicillin の抗菌活性。Jap. J. Antibiotics 48: 529~546, 1995
- 23) 石原理加, 鈴木由美子, 出口浩一, 他: 外来患者の気道系感染症由来新鮮臨床分離株に対する Cefcapen の抗菌活性。Jap. J. Antibiotics 投稿中
- 24) 出口浩一, 鈴木由美子, 石原理加, 他: 市中肺炎および嚥下性肺炎原因菌種の薬剤感受性パターン。日治療会誌 45: 69~77, 1997

## Bacteriological study of indirect pathogenicity in pediatric patients with upper respiratory tract bacterial infection

Koichi Deguchi<sup>1)</sup>, Yoshikiyo Toyonaga<sup>2)</sup>, Yumiko Suzuki<sup>1)</sup>, Rika Ishihara<sup>1)</sup>,  
Yukiko Ishii<sup>1)</sup>, Arisa Nakazawa<sup>1)</sup> and Toshihide Ishihara<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Section of Studies, Tokyo Clinical Research Center, 14-4 Senjunaka-machi, Adachi-ku, Tokyo 102, Japan

<sup>2)</sup>Department of Pediatrics, Yamanashi Red Cross Hospital

Organisms isolated from rhinopharyngeal fluid obtained from pediatric patients with upper respiratory tract bacterial infection were examined for  $\beta$ -lactamase production and susceptibility of anti-microbial drugs to estimate the direct pathogen as well as the  $\beta$ -lactamase-producing indirect pathogen, and to consider the preferable first choice antimicrobial drugs for the treatment of these patients. The predominant organisms which were estimated as the direct pathogen were *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*; 29.5% of the *S. pneumoniae* were penicillin-intermediate *S. pneumoniae* and penicillin-resistant *S. pneumoniae*, and 13.8% of the *H. influenzae* were  $\beta$ -lactamase-producing strains. The main organisms which were estimated as the indirect pathogen were *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* and *Staphylococcus aureus* which produced  $\beta$ -lactamase. These organisms were often isolated concomitantly with *S. pneumoniae* or *H. influenzae*. The predominant patterns of isolated bacteria were *S. pneumoniae* plus *M. (B.) catarrhalis* and *H. influenzae* plus *M. (B.) catarrhalis*, these two patterns accounted for 32.6% of all patients. Thus it is suggested that the main indirect pathogenic factor in pediatric patients with upper respiratory tract bacterial infection is  $\beta$ -lactamase which is produced by *M. (B.) catarrhalis*. In the patients in whom an indirect pathogen is involved, the rate of elimination of *S. pneumoniae* and *H. influenzae* was significantly higher in those treated with clavulanic acid/amoxicillin than in those treated with amoxicillin.