

【原著・臨床】

小児急性化膿性中耳炎における臨床細菌学的検討

— 主要原因菌の耐性化と薬剤感受性について

浅井 美洋¹⁾・関 敦郎²⁾・三澤 清³⁾・峯田 周幸³⁾・星野 知之³⁾・生方 公子⁴⁾¹⁾わかば耳鼻咽喉科*²⁾聖隷三方原病院耳鼻咽喉科³⁾浜松医科大学耳鼻咽喉科⁴⁾微生物化学研究所

(平成 13 年 8 月 16 日受付・平成 13 年 9 月 5 日受理)

耳漏を伴う小児急性化膿性中耳炎の 33 症例 58 検体において病原細菌の薬剤耐性化について調査・検討した。耳漏においては *Streptococcus pneumoniae* が 33% (33 例中 11 例), *Haemophilus influenzae* が 21% (33 例中 7 例) に分離されたが, 上咽頭擦過液では *S. pneumoniae* が全体の 64% (25 例中 16 例), *H. influenzae* が 52% (25 例中 13 例) と高率に分離された。肺炎球菌が確認された 20 症例ではペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP: penicillin resistant *S. pneumoniae*) が 65% (13 例), penicillin intermediately resistant *S. pneumoniae* (PISP) が 15% (3 例), penicillin susceptible *S. pneumoniae* (PSSP) が 20% (4 例) の割合を占めており, PRSP では penicillin G の MIC のピークが 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と高値を示した。分離培養された肺炎球菌について経口セフェム薬である cefaclor, cefdinir, cefpodoxime, cefditoren (CDTR) の感受性を測定したところ, 薬剤によってかなりの違いがみられ, MIC が累積ですべて 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下だったのは CDTR のみだった。*H. influenzae* についても MIC がすべて 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下だったのは CDTR のみで, 同薬剤は 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のラインでは累積で 80% の MIC が下回っていた。

Key words: acute otitis media, antimicrobial resistance, susceptibility, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*

近年, 特に乳幼児の難治性急性化膿性中耳炎の起炎菌としていわゆる PRSP (penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae*) こと, ペニシリン耐性肺炎球菌の存在が問題視されている¹⁾。われわれは既報²⁾において特に *S. pneumoniae* に焦点を絞って小児急性化膿性中耳炎における病原細菌の検出状況および薬剤耐性化の実態について調査し, 上咽頭擦過液の採取・培養の有用性についても再検討して報告した。今回は同じ対象群において *Haemophilus influenzae* も含めて β -lactam 系に対する薬物感受性について検討したので若干の考察を加えてあらためてここに報告する。

I. 対 象

対象は既報²⁾と同様で平成 10 年の 11 月より平成 11 年 1 月までの 3 か月間に磐田市立総合病院, 聖隷三方原病院, 藤枝市立総合病院, 聖隷沼津病院の各耳鼻咽喉科外来を受診した耳漏を伴う小児急性化膿性中耳炎の 33 症例 58 検体である。平均年齢は 2.6 歳で, 検査材料の内訳は上咽頭擦過液が 25 検体, 耳漏が 33 検体であった。

II. 方 法

方法は小児急性化膿性中耳炎症例において耳漏および

上咽頭擦過液を輸送用培地シードスワブ 2 号に採取して微生物化学研究所に送付した上, 即日 polymerase chain reaction (以下 PCR 法) を含む検索を行った。耳漏検体は鼓膜穿孔から流出している分泌物かできるだけ外耳道深部に貯留していた膿性分泌物を検体採取用綿棒にて採取された。ただし, 33 例中 2 例については鼓膜切開を行って採取された中耳貯留液で検討された。上咽頭擦過液の採取は原則として経鼻的に行われた。すなわち検体採取用の綿棒を総鼻道 (鼻腔底) に沿って挿入し, 綿棒の先端が上咽頭後壁に突き当たったところで上咽頭粘膜を 2~3 回擦過することによって採取した。研究所ではさらに検体をチョコレート寒天培地, 血液寒天培地, マンニット食塩 BTB 寒天培地に塗布し, 前 2 者に CO₂ 培養, 後者に好気培養を行って各培地に発育した細菌を鈎菌して同定試験を行うとともに, 肺炎球菌と推定される菌株については再度 PCR による同定と耐性遺伝子の検索を行った。またその他の *H. influenzae* などについても培養同定を行った。*S. pneumoniae* のペニシリン耐性は Ubukata K, et al.¹⁾ の PCR にもとづく判定基準によって判断した。すなわち *S. pneumoniae*

の耐性は β -lactam 薬の作用点である細胞壁合成酵素、penicillin binding proteins (PBPs) の 3 つの遺伝子 PBP 1A, 2X, 2B の変異によっておこるが、これを PCR 法で検索し、いずれにも変異のない場合を PSSP (感性菌)、すべての遺伝子に変異のある場合を PRSP (耐性菌) とし、1 つまたは 2 つの遺伝子に変異のある場合を PISP とした。この判定基準は MIC をもとにしている米国の NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) の基準²⁾にもほぼ一致する。

III. 結 果

Fig. 1 は検査材料別にみた主要な細菌の分離率である。*S. pneumoniae* については PCR 法の結果が、その他の細菌については培養法による結果が示されている。上咽頭では *S. pneumoniae* が 25 例中 16 例 (64%)、*H. influenzae* 菌が 25 例中 13 例 (52%) と高率に分離されていた。耳漏においては *S. pneumoniae* が 33 例中 11 例 (33%)、*H. influenzae* が 33 例中 7 例 (21%) の分離率で上咽頭擦過液と比較して検出率が低くなっていたが、*Staphylococcus aureus* の検出率が高くなっていた。

Fig. 2 に PCR 法により耳漏または上咽頭擦過液で *S. pneumoniae* が確認された 20 症例における耐性化の内訳を示した。PRSP が 13 例 (65%)、PISP が 3 例 (15%)、PSSP が 4 例 (20%) の割合であった。

Fig. 3 に *S. pneumoniae* における遺伝子変異と penicillin G (PCG), cefaclor (CCL), cefdinir (CFDN), cefditoren (CDTR) に対する感受性分布を、Fig. 4 にそれらの薬剤感受性累積分布をグラフにして示した。PCG では MIC のピークが $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ を示しているのが注目される。また代表的な経口セフェム薬である CCL, CFDN, cefpodoxime (CPDX), CDTR においても感

受性成績は、薬剤によってかなりの違いがみられ、MIC が累積ですべて $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下だったのは CDTR のみだった。

Fig. 5 には同様に検出率の高かった *H. influenzae* についての β -lactam 薬の薬剤感受性の累積分布を示した。MIC がすべて $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下だったのは CDTR のみで、同薬剤は $0.125 \mu\text{g}/\text{mL}$ のラインでは累積で 80% の MIC が下回っていた。

IV. 考 察

本検討の PCR 解析の結果でも肺炎球菌に高いペニシリン耐性率が示されたように近年、特に 3 歳以下の乳幼児におけるペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) による反復性または治療抵抗性の急性化膿性中耳炎症例が増加してきている⁴⁾。また *H. influenzae* についてもいわゆる BLNAR (β -lactamase negative ampicillin resistant) の出現もあり、その耐性化が急速に進んでいる。本邦の耳鼻咽喉科外来では中等度以上の小児急性化膿性中耳炎に第 3~4 世代の経口用セフェム系抗生剤が第一選択として投与されることが少なくないため、実際に外来での治療に難渋する例の割合はこの耐性化率よりは少ない印象がある。しかし今後これらの経口用抗生剤にも反応し難い耐性菌が増加してくることは必至の情勢であり、常に起炎菌の動向を注視し、いま一度基本に立ち返った抗菌薬の選択および使用を心掛けつつ、病原細菌の検索法や薬物治療以外の治療法の見直しと向上を図っていく必要がある。たとえば鼓膜切開術についても近年、抗菌薬の発達により以前ほど積極的に行わずに済んでいた感があるが、PRSP による反復性中耳炎を含めて保存的治療に反応しにくい急性化膿性中耳炎に対しては鼓膜切開や鼓膜チューブ留置術などにより早期にドレナージをつけることが有用であることがあらためて強調されて

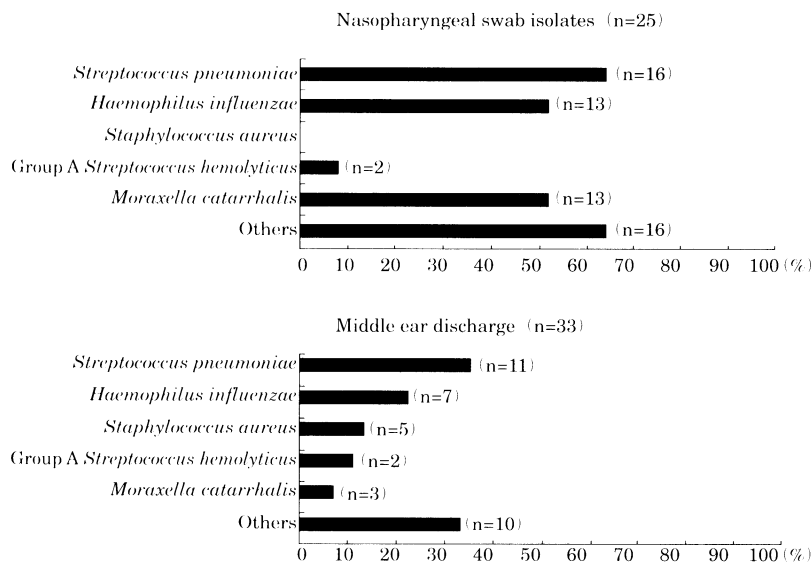


Fig. 1. Incidence of isolated pathogens in the nasopharynx and otorrhea.

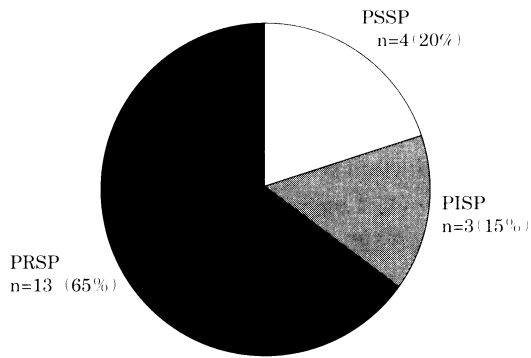


Fig. 2. Incidence of PSSP, PISP and PRSP in 20 cases from which *Streptococcus pneumoniae* was isolated.

いる^{5,6)}。また急性化膿性中耳炎の carrier focus¹である上咽頭・鼻腔にできるだけ細菌を貯めないようにすること、すなわち外来での鼻処置はもちろんのこと、みずから鼻をかめない乳幼児では家庭での鼻処置の励行の重要性も軽視してはならないと考える。また集団保育が反復性中耳炎のリスクファクターであることが明らかになってきており⁴⁾、保育環境など社会的な要因についても注意する必要がある。さらに既報²でも再検討したが、陰性率が高い耳漏での培養同定に対して比較的陽性率が高い上咽頭擦過液の培養を積極的に行ったり、培養同定法の工夫や PCR 法を用いて耐性をできるだけ迅速かつ精密に検出するなど、起炎菌検索力を向上させる努力も必要である。

その上で外来診療ではまず経口用抗菌薬を投与することになるが、抗菌薬を選択する際にはあくまでも *in*

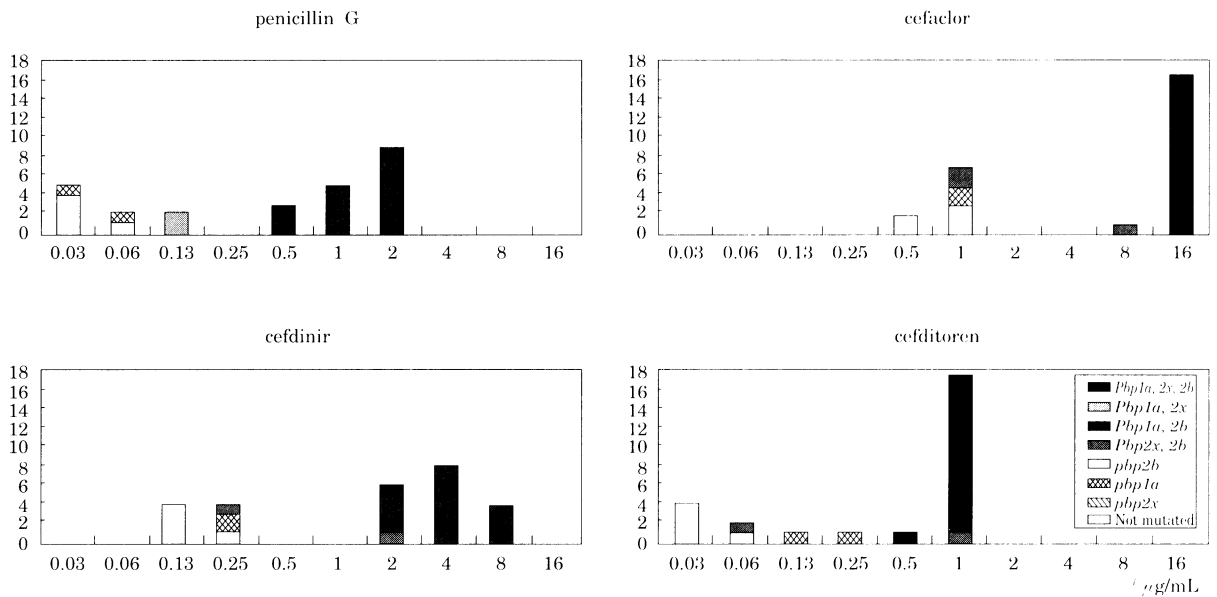


Fig. 3. Correlation between MIC of 4 β -lactam antibiotics and PBP gene mutations for 26 strains of *Streptococcus pneumoniae*.

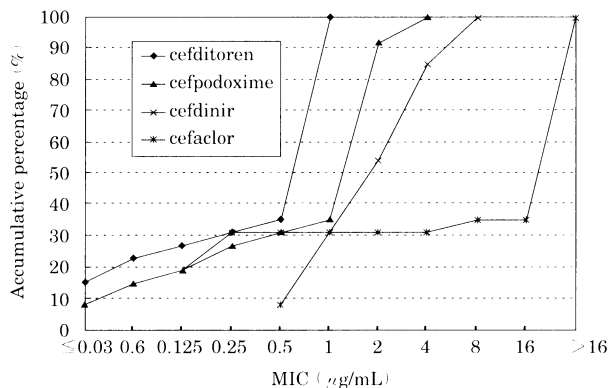


Fig. 4. Accumulative distribution of MIC for 26 strains of *Streptococcus pneumoniae* to 4 β -lactam antibiotics.

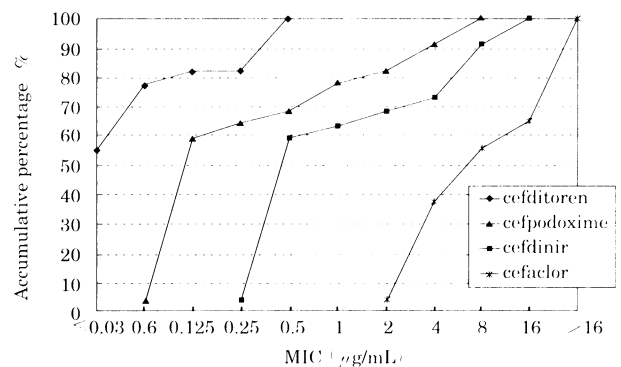


Fig. 5. Accumulative distribution of MIC for 22 strains of *Haemophilus influenzae* to 4 β -lactam antibiotics

in vitro の結果である薬剤感受性試験の結果のみならず、いくつかの重要な薬物動態学的な要因も十分に考慮する必要がある。すなわち実際に投与された薬剤が抗菌効果を発揮するまでには吸収性、血中濃度動態、血中蛋白結合率、組織移行率などの薬物動態学的要因が大きく左右する。一般に中耳および上咽頭は薬剤移行率が低く、血中濃度のおよそ1/10しか到達しない²⁾。したがって薬剤感受性分布の評価には一般的な薬剤の常用投与量での最高血中濃度である1 µg/mLとその約1/10である0.125 µg/mLの2つのラインが重要と考えられる²⁾。さらにセフェム系薬の臨床効果は一般的に起炎菌のMIC以上の濃度を保った時間 (time above MIC) を投与間隔時間の50%以上に維持する必要がある²⁾。今回の検討で得られた薬剤感受性分布を見ると肺炎球菌についてはMICが累積ですべて1 µg/mL以下だったのは cefditoren のみで、0.125 µg/mL のラインではもっとも優れていた CDTR でもクリアしていたのは累積で30%に止まっていた。一方の *H. influenzae* については1 µg/mL 以下ですべてクリアしていたのはやはり CDTR のみで、同薬剤は0.125 µg/mL のラインでは累積で80%のMICが下回っていた。今回の結果からも実際に *S. pneumoniae*, *H. influenzae* とともにペニシリンのみならずセフェム系抗菌薬に対しても耐性を獲得していることが示され、耐性肺炎球菌が DRSP (drug resistant *S. pneumoniae*)¹⁾ と呼ばれる状態を反映していた。このような傾向に対して本邦ではすでに CDTR などによる増量投与の有効性についても報告され²⁾、今後さらに検証されていくべきと考えられる。

一方、米国疾病管理センター (CDC) では増加傾向にある薬剤耐性肺炎球菌 (DRSP) の対策として1999年に小児急性中耳炎の治療方針に関する勧告³⁾を出している。この勧告のなかでは吸収性がよく比較的高い血中濃度を得やすいという薬物動態学的な長所などから小児急性中耳炎に対する第一選択薬として amoxicillin (AMPC) を推奨し、さらに2歳以下、過去3か月以内の抗菌薬投与歴、集団保育を DRSP のハイリスク要因として扱い、このような群には中耳貯留液中でさらに十分な薬剤濃度を得るために AMPC を増量投与 (80~90 mg/kg/day) することを推奨している。また投与3日目で治療無効と判断されれば鼓膜切開術の適応や他の経口用抗菌薬または注射薬への変更を検討すべきとしている。

今後も DRSP, BLNAR はもちろんのこと、MRSA も含めた耐性菌による感染症の難治化が予想される。このような趨勢のなかでは常に病原細菌の動向に注意を払いながら、EBM (evidence based medicine) という観点からも empiric therapy のみに頼り過ぎないように診断法、治療法を見直していく姿勢が重要と考える。

V. 結 果

耳鼻咽喉科外来を受診した耳漏を伴う小児急性化膿性

中耳炎33症例58検体 (平均年齢は2.6歳、上咽頭擦過液; 25検体、耳漏; 33検体) について病原細菌の検出状況および薬剤耐性化の実態について調査・検討して以下のごとき結果を得た。

1) 上咽頭では *S. pneumoniae* が全体の64%, *H. influenzae* が56%と高率に分離されていたが、耳漏においては *S. pneumoniae* が36%, *H. influenzae* が21%の分離率であった。

2) 耳漏または上咽頭擦過液で *S. pneumoniae* が確認された20症例については PRSP が65%, PISP が15%, PSSP が20%の割合を占め、かなり耐性化が進んでいることが示された。

3) *S. pneumoniae* の薬剤感受性試験では PCG の MIC ピークが2 µg/mL と高値を示していた。代表的な経口セフェム薬である CCL, CFDN, CPDX, CDTR に対する感受性は薬剤によってかなりの違いがみられ、MICが累積ですべて1 µg/mL 以下だったのは CDTR のみだった。

4) *H. influenzae* の薬剤感受性試験では1 µg/mL 以下ですべてクリアしていたのはやはり CDTR のみで、同薬剤は0.125 µg/mL のラインでは累積で80%のMICが下回っていた。

文 献

- 1) Ubukata K, Muraki T, Igarashi A, et al.: Identification of Penicillin and other Beta-Lactam Resistance in *Streptococcus pneumoniae* by Polymerase Chain Reaction. *J Infect Chemother* 3: 190~197, 1997
- 2) 浅井美洋, 三澤 清, 関 敦郎, 他: 小児急性中耳炎における病原細菌の現況と上咽頭擦過液採取の有用性。磐田市立総合病院誌2: 6~10, 2000
- 3) National Committee for Clinical Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 3rd Ed. Approved standards, NCCLS, Villanolly, 1993
- 4) 杉田隣也: 小児急性中耳炎検出菌と薬剤感受性。JOHNS 13: 1139~1145, 1997
- 5) 末武光子, 入間田美保子: 耐性肺炎球菌と急性中耳炎の重症化。JOHNS 13: 1147~1151, 1997
- 6) 山中 昇: 反復性中耳炎の治療。JOHNS 13: 1152~1157, 1997
- 7) 生方公子: 肺炎球菌とインフルエンザ菌についての疫学的考察。Jap J Antibiotics 54 (Suppl B): 72~79, 2001
- 8) 伊藤真人, 吉崎智一, 西村俊郎, 他: 急性中耳炎に対する CDTR-PI 増量投与の検討。耳鼻臨床 93: 509~516, 2000
- 9) Scott F D, Jay C B, Scott G, et al.: The Drug-Resistant *Streptococcus Pneumoniae* Therapeutic Working Group: Acute otitis media: management and surveillance—a report from the Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* Therapeutic Working Group. *Pediatr Infect Dis J* 18: 1~9, 1999

Antimicrobial resistance and susceptibility of pathogens causing acute purulent pediatric otitis media

Yoshihiro Asai, Atsuro Seki, Kiyoshi Misawa, Hiroyuki Mineta,
Tomoyuki Hoshino and Kimiko Ubukata

¹Wakaba Ear Nose and Throat Clinic, 6182-1 Irino, Hamamatsu, Shizuoka 432-8061, Japan

²Department of Otolaryngology, Seirei Mikatabara Hospital

³Department of Otolaryngology, Hamamatsu University School of Medicine

⁴Institute of Microbial Chemistry

We studied acute purulent otitis media pathogens in 33 children treated at ear, nose, and throat outpatient clinics of 4 general hospitals in Shizuoka Prefecture, Japan, from December 1998 to January 1999. The 58 isolates from the 33 cases were bacteriologically investigated focusing on antimicrobial resistance and susceptibility to cephalosporins which are frequently prescribed in Japan. Cultures showed that *Streptococcus pneumoniae* was detected in 64% of the nasopharyngeal swab isolates and *Haemophilus influenzae* in 52% but *S. pneumoniae* was detected in only 33% and *H. influenzae* in only 21% of middle ear discharge. Penicillin resistant *S. pneumoniae* (PRSP), penicillin intermediately resistant *S. pneumoniae* (PISP) was identified in 65% and in 15% of the 20 cases in which *S. pneumoniae* was detected in cultures. The measured minimal inhibitory concentrations (MICs) of penicillin G against PRSP showed peak distribution at 2 µg/mL. Susceptibility testing with cephalosporins cefaclor, cefdinir, cefpodoxime, and cefditoren (CDTR) against *S. pneumoniae* and *H. influenzae* showed marked discrepancies in results among agents. CDTR seemed the most effective *in vitro* against *S. pneumoniae* and *H. influenzae*. We concluded that antimicrobial resistance had dramatically increased among *S. pneumoniae* and *H. influenzae*, causing acute purulent pediatric otitis media.