

## *Streptococcus pneumoniae* 同定に用いる オプトヒン感受性試験の評価

本田 寿子 金子 克 斎藤 勝明\*  
村田 政美\*\* 佐藤 政明\*\*\*

岩手医科大学歯学部口腔微生物学講座

(主任：金子 克教授)

北上済生会病院臨床検査科\*

岩手県立久慈病院臨床検査科\*\*

岩手県立胆沢病院臨床検査科\*\*\*

〔受付：1989年6月12日〕

抄録： $\alpha$ 溶血を示し、グラム陽性球菌で、オプトヒンディスク（5  $\mu$ g）に感受性を示した433株の分離菌株を被検菌とし、オプトヒン感受性試験による *Streptococcus pneumoniae* 同定法について検討した。被検菌のうち胆汁で溶解した株については生物学的性状、血清学的検査から、*S. pneumoniae* と同定し、オプトヒンに対する最小発育阻止濃度を測定した。

その結果、胆汁で溶解したものは、433株のうち398株、非溶解のものは35株であった。この35株の内訳は *S. sanguis* 12株、*S. mutans* 1株、*S. salivarius* 2株、*S. mitis* 28株、*S. anginosus* 2株であった。胆汁溶解の *S. pneumoniae* 398株のうち67株（16.8%）がオプトヒンに耐性（ $\geq 5 \mu$ g/ml）で、そのMICは6.25～ $>200 \mu$ g/mlに分布していた。

また、オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* は mucoid 型 colony にはみられず、smooth あるいは rough 型 colony に多く認められた。さらに、*S. pneumoniae* 398株は penicillin, cephem 系薬剤に対して感受性を示したが、macrolide, lincomycin, tetracycline 系薬剤には耐性株も多く、オプトヒン感受性、耐性別に31薬剤に対する感受性を検討した結果、後者は前者に比して耐性の傾向を認めた。

これらのことから、*S. pneumoniae* をオプトヒン感受性試験のみで同定することは十分とはいえず、*S. pneumoniae* に特異的な胆汁溶解性による同定を重視する必要性が示唆された。

**Key words** : optochin sensitivity test, optochin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, bile solubility, antimicrobial susceptibility.

### 緒 言

*Streptococcus pneumoniae* は呼吸器感染症、化膿性中耳炎などの起炎菌として臨床上、重要

な病原菌の一つであり、同定にさいしてはオプトヒン感受性試験が広く用いられている。しかし近年、オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* の存在が報告されており、オプトヒン感受性の有無

Evaluation of optochin sensitivity test for the identification of *Streptococcus pneumoniae*.

Hisako HONDA, Masaru KANEKO, Katuaki SAITO\* Masami MURATA\*\* and Masaaki SATO\*\*\*.

(Department of Microbiology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020, Department of Clinical Laboratory, Kitakami Saiseikai Hospital, Kitakami 024\*, Department of Clinical Laboratory, Iwate Prefectural Hospital of Kuji, Kuji 032\*\*, and Department of Clinical Laboratory, Iwate Prefectural Hospital of Isawa, Mizusawa 023\*\*\*)

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 14 : 107-116, 1989

による同定が万全ではないという指摘<sup>1,2)</sup>があるが、その実態はいまだ十分に把握されていない。

著者らは近年、オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* の分離を経験したので、これらの菌株の生物学的性状を検討することにより、オプトヒンによる *S. pneumoniae* 同定の評価を試み、加えて31薬剤の感受性についても検討したので報告する。

## 材料と方法

### 1. 被検菌

1987年3月より1988年12月までに喀痰、咽頭粘液など種々の臨床材料 (Table 4) より分離した433株を被検菌とした。これら分離株は羊血球血液寒天培地上で $\alpha$ 溶血を示したグラム陽性球菌で、カタラーゼ陰性、オプトヒンディスク (5  $\mu$ g, 栄研) に感受性を示した。

### 2. 菌種の同定

被検菌433株のうち胆汁による溶解<sup>3)</sup>を示した株については、イヌリン分解性<sup>4)</sup>、および Phadebact pneumococcal test (Pharmacia) による血清学的同定を試みた。また、胆汁で溶解せず、Phadebact pneumococcal test で陰性であった株については Minitek system (BBL) により菌種の同定を行った。

### 3. オプトヒン感受性試験

*S. pneumoniae* と同定された分離株のオプトヒン (ethylhydrocupreine, Sigma) 5  $\mu$ g/ml に対する感受性を寒天平板希釈法で行った。そして、オプトヒン 5  $\mu$ g/ml に対して耐性を示した *S. pneumoniae* については、オプトヒンに対する minimum inhibitory concentration (MIC) を測定した。測定は日本化学療法学会標準法<sup>5)</sup>に基づき寒天平板希釈法で行った。すなわち、感受性測定用ブイヨン (ニッスイ) で増菌した被検菌の10<sup>6</sup>CUF/ml と10<sup>7</sup>CUF/ml を接種菌として5%ヒト血球加感受性測定用寒天培地 (ニッスイ) にマイクロプランター (佐久間) で接種し、37°C, 24時間培養後に判定した。

### 4. Colony 形態の観察

羊血球血液寒天培地で継代3代、37°C, 24

時間、培養した colony を観察して (Table 5) Bergey's manual of systematic bacteriology<sup>6)</sup>の記載に従って mucoid 型, smooth 型, central plaque elevated rim 型および rough 型に分けた。

### 5. 薬剤感受性試験

#### 1) 被検菌

オプトヒン感受性 *S. pneumoniae* 331株とオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* 67株の合計 398株を用いた。

#### 2) 使用薬剤

Penicillin 系薬剤: (PCG, 明治製菓), ampicillin (ABPC, 明治製菓), amoxicillin (AMPC, ビーチャム), piperacillin (PIPC, 富山化学)

Cephem 系薬剤: cephaloridine (CER, シオノギ製菓), cefazolin (CEZ, 藤沢薬品), cefaclor (CCL, シオノギ製菓), cefuroxime (CXM, 日本グラクソ), cefotiam (CTM, 武田製菓), cefotaxime (CTX, ヘキスト), ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品), cefmenoxime (CMX, 武田薬品), cefoperazone (CPZ, 台糖ファイザー), cefixime (CFIX, 藤沢薬品), ceftriaxone (CTRX, ロッシュ), cefteteram pivoxil (CFTM-PI, 富山化学)

Macrolide 系薬剤: erythromycin (EM, 大日本製菓), midecamycin (MDM, 明治製菓)

Lincomycin 系薬剤: lincomycin (LCM, アップジョン), clindamycin (CLDM, アップジョン)

Tetracycline 系薬剤: tetracycline (TC, 明治製菓), minocycline (MINO, 日本レダグリー) doxycycline (DOXY, 台糖ファイザー)

Pyridone carboxylic acid 系薬剤: norfloxacin (NFLX, 杏林製菓), ofloxacin (OFLX, 第一製菓), ciprofloxacin (CPFX, バイエル), T-3264 (富山化学), NY-198 (北陸製菓)

その他: imipenem/cilastatin sodium (IPM/CS, 万有製菓), chloramphenicol (CP, 三共) の合計31薬剤を使用した。

#### 3) 測定法

日本化学療法学会標準法<sup>5)</sup>に従い、寒天平板希釈法で行った。

結 果

1. 被検菌の胆汁溶解性

羊血球血液寒天培地上で  $\alpha$  溶血を示し、カタラーゼ陰性、グラム陽性球菌で、オプトヒンディスクに感受性を示した433株の胆汁溶解性を調

べたところ (Table 1) 398株 (91.9%) が溶解し、35株 (8.1%) は非溶解であった。

胆汁溶解を示した398株は血清学的にもすべて *S. pneumoniae* であった。これに対して、胆汁非溶解の35株は、Phadebact pneumococcal test でも陰性であり、Minitek system により同定を試みたところ *S. sanguis* I 2株, *S. mutans* 1株, *S. salivarius* 2株, *S. mitis* 28株,

Table 1 Result of screening of bile solubility test in 433 isolates of optochin-sensitive gram-positive cocci.

Bile solubility	Bacterial species	Number of isolates
Soluble	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	398 (91.9%)
	<i>S. sanguis</i> I	2
Non-soluble	<i>S. mutans</i>	1
	<i>S. salivarius</i>	2
	<i>S. mitis</i>	28
	<i>S. anginosus</i>	2
Total		35 (8.1%)

Table 2 Biochemical characteristics of 398 isolates of *Streptococcus pneumoniae*.

Optochin-sensitivity	Bile solubility	Inulin fermentation	Number of isolates
Sensitive	+ <sup>1)</sup>	+ <sup>2)</sup>	331 (83.2%)
Resistant	+	+	67 (16.8%)

<sup>1)</sup> Soluble      <sup>2)</sup> Fermentation positive

Table 3 Minimum inhibitory concentrations of 67 optochin-resistant *Streptococcus pneumoniae* to optochin.

MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inoculum size	
	10 <sup>6</sup> CFU/ml	10 <sup>8</sup> CFU/ml
6.25	1	0
12.5	10	6
25	18	18
50	19	18
100	12	14
200	5	8
> 200	2	3

Optochin-resistant (MIC  $\geq 5 \mu\text{g/ml}$ )

*S. anginosus* 2株であった。

## 2. *S. pneumoniae* のオプトヒン感受性

胆汁溶解, イヌリン分解陽性, カタラーゼ陰性で血清学的にも *S. pneumoniae* と同定した 398株のうちオプトヒン 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に感受性を示したものは 331株 (83.2%) であり, 耐性を示したものは 67株 (16.8%) であった (Table 2)。

なおオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* 67株のオプトヒンに対する MIC 分布 (Table 3) は接種菌量が  $10^6\text{CFU}/\text{ml}$ , あるいは  $10^8\text{CFU}/\text{ml}$

のいずれの場合でも  $6.25 \sim >200 \mu\text{g}/\text{ml}$  にあり, MIC 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上の菌株が接種菌量  $10^6\text{CFU}/\text{ml}$  では 38株 (56.7%), 接種菌量  $10^8\text{CFU}/\text{ml}$  では 43株 (64.2%) であった。

## 3. 臨床材料別 *S. pneumoniae* の分離数とオプトヒン感受性および耐性 *S. pneumoniae* の分布

*S. pneumoniae* 398株 (Table 4) のうち喀痰と咽頭粘液から分離されたものが 348株 (87.4%) と大部分を占めた。オプトヒン耐性 *S.*

Table 4 Distribution of optochin-sensitive and optochin-resistant strains in 398 *Streptococcus pneumoniae* isolated from various specimens.

Specimens	Optochin-sensitive (%)	Optochin-resistant* (%)	Total
Sputum	90 ( 79.6)	23 ( 20.4)	113
Pharyngeal mucus	197 ( 83.8)	38 ( 16.2)	235
Pus	3 (100.0)	0	3
Otorrhea	26 (100.0)	0	26
Rhinorrhea	4 (100.0)	0	4
Dacryoblenn otorrhea	2 ( 66.7)	1 ( 33.3)	3
Vaginal secreta	2 (100.0)	0	2
Urine	6 ( 66.7)	3 ( 33.3)	9
Maxillary sinus liquor	1 ( 50.0)	1 ( 50.0)	2
Gingiva	0	1 (100.0)	1

\* MIC  $\geq 5 \mu\text{g}/\text{ml}$

Table 5 Colony type and optochin sensitivity of 398 isolates of *Streptococcus pneumoniae*.

Colony type	Optochin-sensitive (%)	Optochin-resistant* (%)	Total
Mucoid 	102 (100.0)	0	102
Smooth 	103 ( 65.7)	33 (34.3)	136
Central plaque elevated rim 	112 ( 87.5)	16 (12.5)	128
Rough 	14 ( 43.7)	18 (56.3)	32

\* MIC  $\geq 5 \mu\text{g}/\text{ml}$

*pneumoniae* は膿汁, 耳漏, 鼻汁, 膈分泌物から分離した *S. pneumoniae* にはみられなかった。しかし喀痰から分離した *S. pneumoniae* 113株のうち23株 (20.4%), 咽頭粘液からの *S. pneumoniae* 236株のうち38株 (18.2%), 涙嚢液からの3株のうち1株 (33.3%) にみられ, さらに例数は少ないが上顎洞穿刺液からの1株 (50%) と歯肉からの1株 (100%) にもみられた。

4. *S. pneumoniae* の colony 形態とオプトヒ

ン感受性

Table 5 に示すように, *S. pneumoniae* 398株のうち mucoid 型の colony は102株で, これらすべてがオプトヒン感受性 ( $\leq 5 \mu\text{g/ml}$ ) であり, smooth 型の colony は136株のうち, 103株 (65.7%) がオプトヒン感受性であったが, 33株 (34.3%) がオプトヒン耐性であった。また, 中央がくぼんだ形の central plaque elevated rim 型の colony 128株のうち112株 (87.5%) がオプトヒン感受性で, 16株 (12.5

Table 6 Susceptibility of 398 isolates of *Streptococcus pneumoniae* to 31 antimicrobial agents.

Agents	MIC* range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
PCG	0.0063 - 3.13	0.025	0.1
ABPC	0.0063 - 6.25	0.025	0.1
AMPC	0.0063 - 6.25	0.0125	0.05
PIPC	0.0125 - 6.25	0.025	0.1
CER	0.0063 - 6.25	0.025	0.05
CEZ	0.025 - 12.5	0.2	0.78
CCL	0.05 - 3.13	0.2	0.39
CXM	0.0063 - 3.13	0.025	0.1
CTM	0.0063 - 3.13	0.05	0.1
CTX	0.0063 - 3.13	0.0125	0.05
CZX	0.0063 - 12.5	0.025	0.05
CMX	0.0063 - 1.56	0.0125	0.025
CPZ	0.0125 - 12.5	0.05	0.2
CFIX	0.0125 - 12.5	0.1	0.39
CTRX	0.0125 - 12.5	0.025	0.05
CFTM-PI	0.0063 - 3.13	0.0125	0.05
FMOX	0.05 - 12.5	0.1	0.2
IPM/CS	0.025 - 1.56	0.1	0.39
EM	0.0125 - 100	0.1	0.2
MDM	0.0125 - 100	0.1	0.1
LCM	0.025 - 200	0.39	0.78
CLDM	0.0063 - 200	0.025	0.05
TC	0.1 - 200	1.56	50
MINO	0.05 - 50	0.2	12.5
DOXY	0.025 - 50	3.13	12.5
CP	0.2 - 25	3.13	12.5
NFLX	0.78 - 50	12.5	25
OFLX	0.2 - 25	1.56	3.13
CPFX	0.2 - 12.5	0.78	0.78
T-3264	0.1 - 3.13	0.2	0.2
NY-198	1.56 - 50	6.25	12.5

\* MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

Table 7 Comparison of antimicrobial susceptibility between the optochin-sensitive 331 *Streptococcus pneumoniae* and optochin-resistant 67 *Streptococcus pneumoniae* (1).

Agents		MIC* range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
PCG	S	0.0063 — 3.13	0.025	0.025
	R	0.39 — 3.13	0.78	3.13
ABPC	S	0.0063 — 6.25	0.025	0.05
	R	0.05 — 6.25	0.2	6.25
AMPC	S	0.0063 — 3.13	0.025	0.025
	R	0.05 — 6.25	0.1	1.56
PIPC	S	0.0125 — 3.13	0.025	0.05
	R	0.05 — 6.25	0.39	3.13
CER	S	0.0063 — 6.25	0.025	0.05
	R	0.025 — 6.25	0.39	0.39
CEZ	S	0.025 — 12.5	0.2	0.39
	R	0.1 — 12.5	0.39	3.13
CCL	S	0.05 — 1.56	0.2	0.39
	R	0.2 — 3.13	0.78	3.13
CXM	S	0.0063 — 3.13	0.025	0.05
	R	0.0063 — 3.13	0.2	3.13
CTM	S	0.0063 — 6.25	0.05	0.1
	R	0.025 — 6.25	0.2	0.39
CTX	S	0.0063 — 0.78	0.0125	0.025
	R	0.025 — 3.13	0.05	0.1
CZX	S	0.0063 — 12.5	0.025	0.05
	R	0.0125 — 12.5	0.1	0.78
CMX	S	0.0063 — 1.56	0.0125	0.025
	R	0.0125 — 1.56	0.025	0.39
CPZ	S	0.0125 — 12.5	0.0125	0.025
	R	0.025 — 12.5	0.39	1.56
CFIX	S	0.0125 — 3.13	0.05	0.2
	R	0.2 — 12.5	0.78	6.25
CTRX	S	0.0125 — 3.13	0.025	0.025
	R	0.05 — 12.5	0.78	6.25
CFTM-PI	S	0.0063 — 3.13	0.0125	0.025
	R	0.0125 — 3.13	0.05	0.78
FMOX	S	0.025 — 12.5	0.1	0.2
	R	0.2 — 12.5	0.78	6.25

\* MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

S : Optochin-sensitive

R : Optochin-resistant

%)はオプトヒン耐性であった。なお、rough型の colony は32株のうち18株 (56.3%) がオプトヒン耐性であり、オプトヒン耐性株の検出される割合が高い傾向にあった。

5. *S. pneumoniae* の31薬剤に対する感受性

*S. pneumoniae* 398株の31薬剤に対する感

受性 (Table 6) をみると penicillin系薬剤と cephem系薬剤 (penicillin系薬剤では $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ , cephem系薬剤では $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$ を感受性) に対する MIC 分布は 0.0063~12.5  $\mu\text{g/ml}$  と高い感受性を示したが, macrolide, lincomycin系薬剤 ( $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ を感受性,

Table 8 Comparison of antimicrobial susceptibility between the optochin-sensitive 331 *Streptococcus pneumoniae* and optochin-resistant 67 *Streptococcus pneumoniae* (2).

Agents		MIC* range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
IPM/CS	S	0.025 - 1.56	0.1	0.2
	R	0.05 - 1.56	0.78	1.56
EM	S	0.0125 - 100	0.1	0.1
	R	0.05 - 100	3.13	100
MDM	S	0.0125 - 100	0.1	0.1
	R	0.05 - 100	0.78	100
LCM	S	0.025 - 200	0.39	0.78
	R	0.05 - 200	0.78	100
CLDM	S	0.0063 - 200	0.025	0.025
	R	0.025 - 200	0.05	100
TC	S	0.1 - 200	1.56	50
	R	0.2 - 200	50	200
MINO	S	0.05 - 50	0.2	12.5
	R	0.2 - 50	25	50
DOXY	S	0.025 - 50	3.13	12.5
	R	0.2 - 50	25	50
CP	S	0.2 - 50	3.13	12.5
	R	0.39 - 50	12.5	25
NFLX	S	0.78 - 50	6.25	12.5
	R	3.13 - 50	12.5	25
OFLX	S	0.2 - 25	1.56	1.56
	R	0.78 - 25	3.13	3.13
CPFX	S	0.2 - 12.5	0.78	0.78
	R	0.2 - 12.5	0.78	1.56
T-3264	S	0.1 - 3.13	0.2	0.2
	R	0.1 - 3.13	0.2	0.39
NY-198	S	1.56 - 50	6.25	12.5
	R	6.25 - 50	12.5	12.5

\* MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

S : Optochin-resistant

R : Optochin-sensitive

32-64  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を耐性) や tetracycline 系薬剤 ( $\leq 0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  を感受性, 32-64  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を耐性) に対する MIC は 0.0063  $\mu\text{g}/\text{ml}$  から 100~200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と巾広く分布した。特に, tetracycline 系薬剤 (TC, MINO, DOXY) に対しては MIC<sub>90</sub> が 12.5~200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と耐性株も多かった。また, pyridone carboxylic acid 系薬剤に対する MIC 分布は 0.1~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で MIC<sub>50</sub> は 0.2-12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub> は 0.2-25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と低かった。

#### 6. *S. pneumoniae* のオプトヒン感受性株および耐性株の薬剤感受性の比較

オプトヒン感受性 *S. pneumoniae* 331 株とオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* 67 株の 31 薬剤に対する感受性について分析した (Table 7)。Penicillin 系薬剤に対するオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* の MIC は 0.0063~3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で, オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* では 0.05~6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。さらに MIC<sub>50</sub> ではオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* で 0.025  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* では 0.1~0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , そして MIC<sub>90</sub> ではオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* は 0.025~0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* は 1.56~6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であり, オプトヒン感受性 *S. pneumoniae* よりもオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* のほうが penicillin 系薬剤に対し耐性側に分布していた。このような傾向は他の薬剤でも見られ, macrolide 系薬剤 (EM, MDM) においても, MIC<sub>50</sub> はオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* で 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* で 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と著しい差がみられるものと, pyridone carboxylic acid 系薬剤 (NFLX, OFLX, CPF, T-3264, NY-198) における MIC<sub>50</sub> はオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* で 0.78-12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* では 0.32-25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  というようにその差が小さいものもあったが, いずれの薬剤に対する感受性もオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* よりもオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* のほうが薬剤耐性の傾向を示した。

## 考 察

著者らは羊血球血液寒天培地上で  $\alpha$  溶血を示し, グラム陽性球菌でカタラーゼ陰性そしてオプトヒンディスクに感受性があり, *S. pneumoniae* と同定された 433 株の生物学的性状, 血清学的検査から再検討した。その結果, 398 株 (91.9%) は *S. pneumoniae* と同定されたが, 35 株 (8.1%) は *S. pneumoniae* 以外の  $\alpha$ -streptococci であった。角田ら<sup>7)</sup>はオプトヒンディスク感受性試験により *S. pneumoniae* と同定した 27 株のうち Phadebact pneumococcal test による血清学的検査, 胆汁溶解性などの結果 *S. pneumoniae* 以外の  $\alpha$ -streptococci が 10 株 (37%) 存在していたことを報告している。

著者らの本研究では *S. pneumoniae* 398 株のうち 67 株 (16.8%) がオプトヒン耐性 ( $\geq 5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) 株であり, *S. pneumoniae* でありながらオプトヒン耐性であるため見落とされる可能性のあることが示された。Phadebact pneumococcal test では, *S. pneumoniae* が C 群 streptococci と類属反応を示す場合がある (0.3%) といわれているので, 著者らは溶血レンサ球菌群別用血清 (Phadebact およびデンカ生研) を用いて血清反応を試み, C 群とは反応せず, Minitek system により *S. pneumoniae* であることを確認した。

伴ら<sup>9)</sup>は Phadebact pneumococcal test による血清反応で *S. pneumoniae* と確認した 59 株のうち 27 株 (45%) がオプトヒン耐性株であったと報告している。著者らの成績とはその数値において大きく異なるが, 他に報告がないので評価はできない。しかしこのような事実はオプトヒン感受性のみによる *S. pneumoniae* 同定の危険性を示している。一方, Kontiainen ら<sup>10)</sup>は血液と耳漏から分離したオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* について報告している。彼らの分離したオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* はオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* の阻止帯のなかに発育したもので, optochin-resistant variant としており, 生物学的および血清学的

性状などで著者らの分離したオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* と異なる点があるのかもしれない。*S. pneumoniae* の colony 形態は莢膜多糖体の量的差異に左右されるといわれている<sup>6)</sup>。著者らの観察では mucoid 型 colony にはオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* はみられず、smooth あるいは rough 型 colony にオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* が多くみられた。なお、莢膜多糖体のもつ食菌抵抗性との関連があるかどうかは不明である。

一方、*S. pneumoniae* の薬剤感受性をみると、penicillin, cephem 系薬剤には感受性を示し、macrolide, lincomycin, tetracycline 系薬剤などには耐性菌が多く見られた。こうした成績は小栗<sup>11)</sup>、宍戸ら<sup>12)</sup>、Latorre ら<sup>13)</sup>の報告と一致していたが、*S. pneumoniae* の感受性をオプトヒン感受性、耐性別に分析したところ、オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* はオプトヒン感受性 *S. pneumoniae* に比較して31薬剤の全てに耐性の傾向を示した。colony 形態や薬剤感受性において異なる性状を示したが、さらにさまざまな角度からの解析を進めることによりオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* の性状は明らかにされるのではないかと考えられる。

本研究において著者らは *S. pneumoniae* 臨床分離株の中にオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* の存在が確認されたことから、*S. pneumoniae* の同定をオプトヒンディスク (5 µg) 感受性により行うことは一考を要するものと考え、*Streptococcus* 属菌のうち胆汁溶解性の菌種は *S. pneumoniae* のみであることからその性状を重要視すべきではないかと考える。

## 結 論

*S. pneumoniae* 同定の一つの方法として用いられているオプトヒン感受性試験の評価を試み、次のような結果を得た。

1. オプトヒンディスクで感受性を示し、*S. pneumoniae* と考えられた α 溶血、カタラーゼ陰性、グラム陽性球菌433株のなかに胆汁溶解性、Phadebact pneumococcal test などで再確認すると、*S. pneumoniae* が398株、他の α-streptococci が35株 (8.1%) あった。
2. *S. pneumoniae* 398株のうちオプトヒン耐性 *S. pneumoniae* が67株 (16.8%) 含まれ、オプトヒン感受性試験 (5 µg/ml) のみの方法で同定した場合 *S. pneumoniae* が見落とされる危険性があることが示唆された。
3. オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* は mucoid 型 colony にはみられず、smooth あるいは rough 型 colony に多くみられた。
4. *S. pneumoniae* 398株は penicilin, cephem 系薬剤に感受性を示し、macrolide, lincomycin, tetracycline 系薬剤では MIC 分布が広く、耐性株も多かった。また、オプトヒン感受性、耐性別にみた場合、オプトヒン耐性 *S. pneumoniae* は31薬剤に対して耐性の傾向を示した。

以上のことから *S. pneumoniae* の同定をオプトヒンディスクのみで行うことは不十分であり、*S. pneumoniae* に特異的な胆汁溶解性による同定を重要視する必要性のあることが示唆された。

論文の要旨は第63回日本感染症学会総会 (盛岡, 平成元年4月19日) で発表した。

**Abstract :** We evaluated optochin sensitivity test as a method for identification of *Streptococcus pneumoniae*. Four hundred thirty-three strains isolated from various clinical specimens were α-hemolytic, gram-positive streptococci and were sensitive to optochin disk. The screening of optochin (5 µg/ml) was performed on bile soluble strains which were identified as *S. pneumoniae*. Then, minimum inhibitory concentration (MIC) to optochin determined for optochin-resistant *S. pneumoniae*. The susceptibility test on isolated *S. pneumoniae* was performed 31 antimicrobial agents. Out of 433 optochin disk (5 µg) sensitive strains, 398 strains were bile soluble and 35 strains were nonsoluble. These 35 strains were identified as 2 of *S. sanguis* I, 1 of *S. mutans*, 2 of *S. salivarius*, 28 of *S. mitis*

and 2 of *S. anginosus* by the Minitek system. While bile soluble 398 strains consisted of 311 optochin-sensitive strains and 67 optochin-resistant strains. MIC of optochin for the 67 strains ranged from 6.25 to 200 over  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , and was MIC  $\geq 50 \mu\text{g}/\text{ml}$  for 38 of these 67 strains. In identification of *S. pneumoniae*, bile solubility test should be used with optochin test. In the colonies of optochin-resistant *S. pneumoniae*, smooth and rough type colonies occupied the major portion but mucoid type colony was rare. All strains were highly susceptible to penicillins and cepheims, but MIC of macrolides, lincomycins and tetracyclines ranged widely (0.0063–200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) and a large number of strains were resistant to these antimicrobial agents. In addition, optochin-resistant *S. pneumoniae* showed higher MIC than optochin-sensitive *S. pneumoniae* in susceptibility test of *S. pneumoniae* to 31 antimicrobial agents.

## 文 献

- 1) 西川きよ : 菌側因子をめぐる最近の動向—*Streptococcus pneumoniae*, 臨床と細菌, 11 : 5-9, 1984.
- 2) 小栗豊子 : 肺炎球菌, 臨床検査Mook, 25 : 金原出版, 東京, 76-84ページ, 1987.
- 3) Hawn, C. and Beebe, E. : Rapid method for demonstrating bile solubility of *Diplococcus pneumoniae* autolysis. *J. Bacteriol.* 90 : 549-552, 1965.
- 4) Rotta, J. and Facklam, R.R. : Manual of microbiological diagnostic methods for streptococcal infections and their sequelae. WHO/Bac/80. 1, 1038, 1980.
- 5) 五島嵯智子, 徐慶一郎, 河喜多竜, 小酒井望, 三橋進, 西野武志, 大沢伸孝, 多波洋 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法について, *chemotherapy*, 29 : 76-79, 1981.
- 6) Bulter, J.P. and Sneath, P. : Bergey's manual of systematic bacteriology, The williams and wilkins Co., baltimore. pp. 1052-1054, 1986.
- 7) 角田美鈴, 大門良男, 松田正毅, 桜川信夫, 山岸高由, 小西健一 : オプトヒン感受性, 生化学性
- 8) Internal studies. Data on file, Pharmacia.
- 9) 伴景子, 小野一徳, 高橋久美子, 横沢光博 : 呼吸器材料から分離される肺炎球菌鑑別のためのオプトヒン感受性試験の評価, 衛生検査, 33 : 546, 1984.
- 10) Kontiainen, S. and Sivonen, A. : Optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from blood and middle ear fluid. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 6 : 422-424, 1987.
- 11) 小栗豊子 : 肺炎球菌の臨床細菌学的研究, 一臨床材料からの検出状況, 菌型分布, 薬剤感受性の推移, 特に $\beta$ -ラクタム剤耐性について一, *Jap. J. Antibiotic.* 39 : 783-805, 1986.
- 12) 穴戸春美, 永武毅, 松本慶蔵 : 抗菌剤の使用と耐性菌の現状, 臨床と薬物治療, 6 : 983-991, 1987.
- 13) Latorre, C., Juncosa, T. and Sanfeliu, I. : Antibiotic resistance and serotype of 100 *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in a children's hospital in Barcelona, Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28 : 357-359, 1985.