

## 前眼部・外眼部感染症における起炎菌判定

—日本眼感染症学会による眼感染症起炎菌・薬剤感受性多施設調査(第一報)—

井上 幸次<sup>1)</sup>, 大橋 裕一<sup>2)</sup>, 秦野 寛<sup>3)</sup>, 下村 嘉一<sup>4)</sup>, 坂本 雅子<sup>5)</sup>  
岡本 豊<sup>5)</sup>; 眼感染症薬剤感受性スタディグループ<sup>1)</sup>鳥取大学医学部視覚病態学, <sup>2)</sup>愛媛大学医学部視機能外科学, <sup>3)</sup>ルミネはたの眼科<sup>4)</sup>近畿大学医学部眼科学, <sup>5)</sup>一般財団法人阪大微生物病研究会臨床検査部

## 要 約

目的：前眼部・外眼部感染症の起炎菌の判定基準を考案し、それに基づいた評価を行った。

対象と方法：眼感染症起炎菌・薬剤感受性動向調査参加施設(全国 18 施設)において 2007 年 9 月 22 日から 2008 年 8 月 25 日の間に 476 症例から分離された 909 株のうち真菌を除いた 890 株について、直接分離培養・増菌培養・塗抹検鏡・菌量の測定を行い、検鏡と培養結果の一致性、多核白血球の有無、菌量を勘案して起炎菌を判定した。判定にあたっては、起炎菌と推定起炎菌の 2 段階とし、黄色ブドウ球菌、モラクセラ桿菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌、緑膿菌、淋菌の 6 菌種は特定菌と

して別に取り扱った。

結果：全分離菌 890 株のうち 18.8% が起炎菌、15.1% が推定起炎菌と判定された。常在菌の表皮ブドウ球菌、アクネ菌、コリネバクテリウムにおいても各々 2.0%、2.6%、38.3% が起炎菌と判定された。

結論：起炎菌判定には塗抹検鏡や菌量を勘案する必要がある。常在菌であっても起炎菌となっている例があると考えられた。(日眼会誌 115 : 801—813, 2011)

キーワード：起炎菌、塗抹検鏡、多核白血球、コリネバクテリウム、特定菌

Determination of Causative Agents in Ocular Infection  
of External Adnexa and Anterior Segments—Multicenter Study of Causative Agents and Drug Sensitivity of Ocular Infection  
by the Japanese Association for Ocular Infection Part IYoshitsugu Inoue<sup>1)</sup>, Yuichi Ohashi<sup>2)</sup>, Hiroshi Hatano<sup>3)</sup>, Yoshikazu Shimomura<sup>4)</sup>, Masako Sakamoto<sup>5)</sup>  
and Yutaka Okamoto<sup>5)</sup>; Drug Sensitivity for Ocular Infection Study Group<sup>1)</sup>Division of Ophthalmology and Visual Science, Faculty of Medicine, Tottori University<sup>2)</sup>Department of Ophthalmology, Ehime University School of Medicine<sup>3)</sup>Hatano Eye Clinic<sup>4)</sup>Department of Ophthalmology, Kinki University Faculty of Medicine<sup>5)</sup>Laboratory Diagnostic Service Section, The Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University

## Abstract

**Purpose:** To determine the causative agents of ocular infection of external adnexa and anterior segments due to selected criteria.

**Subjects and Methods:** Between September 22, 2007 and August 25, 2008, 890 bacterial strains were collected from 476 patients in 18 facilities nationwide participating in the Drug Sensitivity for Ocular Infection Study Group. Usual aerobic and anaerobic cultures, enrichment cultures, smears, and measurements of bacterial quantity were performed and the

determination of causative agents was made from the results of smears and culture, the presence of polymorphonuclear cells and bacterial quantity. The selection was divided into two categories, causative agents and presumed causative agents. *Staphylococcus aureus*, *Moraxella bacilli*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Neisseria gonorrhoeae* were distinctively considered as specified bacteria.

**Results:** Among 890 strains, 18.8% were deter-

別刷請求先：683-8504 米子市西町 36—1 鳥取大学医学部視覚病態学 井上 幸次

(平成 22 年 10 月 7 日受付, 平成 23 年 3 月 22 日改訂受理) E-mail : yoinoue@grape.med.tottori-u.ac.jp

Reprint requests to : Yoshitsugu Inoue, M.D. Division of Ophthalmology and Visual Science, Faculty of Medicine, Tottori University, 36-1 Nishi-cho, Yonago-shi, Tottori-ken 683-8504, Japan

(Received October 7, 2010 and accepted in revised form March 22, 2011)

mined to be causative agents, and 15.1% were determined to be presumed causative agents. Among the bacteria detected in normal flora, 2.0% of *Staphylococcus epidermidis*, 2.6% of *Propionibacterium acnes*, and 38.3% of *Corynebacterium* spp. were determined to be causative agents.

**Conclusion :** To determine the causative agents, the results of smears and bacterial quantity should be considered together with culture results. Bacteria

constituting normal flora have the potential of becoming causative agents.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 115 : 801—813, 2011)

**Key words :** Causative agent, Smear, Polymorphonuclear cells, *Corynebacterium*, Specified bacteria

## I 緒 言

眼感染症の診断と治療において、原因となっている起炎菌を検出し、その薬剤感受性を測定することは最も重要なステップであり、それが不明なままでは、十分な治療を行うことはできない。しかし、前眼部・外眼部においては非病原菌が結膜嚢や皮膚に常在菌として存在しているために、分離培養を行って検出された菌が必ずしも起炎菌であるとは限らない。今まで前眼部・外眼部感染症について、菌の薬剤感受性を調べた報告は大変多い<sup>1)~14)</sup>が、そのいずれもが、起炎菌ではなくあくまで分離された菌についての薬剤感受性を調べているのは、起炎菌かどうかを見極めることがきわめて困難であることに由来している。厳密な起炎性を確かめるのであれば、分離された菌を、分離されたときの菌量で、分離された本人の局所に戻し、再び炎症が惹起されるかどうかを確かめる必要があるが、これは倫理的に許されない以上、起炎菌であるかどうかをある基準を決めて推定する以外に方法はない。感染症の中で診断法が最も確立している肺炎では、検出された菌量について、病原菌と判断する基準が提唱されている。具体的には tracheal aspirate で  $10^6$  cfu/ml, broncho-alveolar lavage (肺胞洗浄液) で  $10^4 \sim 10^5$  cfu/ml, protected specimen brush で  $10^3$  cfu/ml あれば起炎菌の可能性が高いと報告されている<sup>15)</sup>。ただ、この値も絶対的なものと考えるべきではないと注釈がなされており、絶対的な基準を定めることの困難性が示されている。眼科領域では、過去に三井らにより、眼感染症研究会(日本眼感染症学会の前身)としての起炎菌の推定基準が報告されている<sup>16)</sup>。その中では、前眼部・外眼部における病原菌としての特定菌が定められ、特定菌が分離された例ではそのみを起炎菌とし、それ以外の菌が分離された例ではすべてを起炎菌またはその協力菌であると推定しているが、起炎性を検証するそれ以上の基準は設けられていない。肺炎で行われているような菌量を勘案するという提案については、眼科領域の感染症でもなされたことがあるが、実際に疫学調査の結果を踏まえ、個々の菌について菌量の基準を設定して起炎菌の判定が行われたことはない。

最近我々は多施設研究として結膜炎の分離菌について

薬剤感受性検査を行ったが<sup>13)</sup>、その際も従来のように起炎菌でなく検出菌に対する薬剤感受性検査を実施してまとめた。しかし、それに対して実際の病原菌の薬剤感受性が検討されていないとの批判があった。そこで今回、日本眼感染症学会で、結膜炎のみならず前眼部・外眼部感染症からの分離菌について、その薬剤感受性を比較するスタディを計画するにあたって、臨床面へのフィードバックを考慮し、一定の基準のもとで起炎菌と判定された分離菌のみを対象に薬剤感受性検査を行うこととした。薬剤感受性検査結果の詳細については別報に譲り、ここでは起炎菌判定基準設定の経緯と判定結果について報告したい。

## II 実験方法

対象は、日本眼感染症学会による眼感染症起炎菌・薬剤感受性動向調査参加施設〔全国 18 施設(表 1)〕にお

表 1 参加施設一覧

医療機関名	所在地
医療法人社団 大橋眼科	北海道
江口眼科病院	北海道
阿部眼科	秋田県
庄司眼科医院	千葉県
医療法人社団馨風会 徳島診療所	東京都
ルミネはたの眼科	神奈川県
安間眼科	愛知県
いこま眼科病院	石川県
バプテスト眼科クリニック	京都府
大橋眼科	大阪府
魚谷眼科医院	鳥取県
医療法人眼科康誠会 井上眼科	岡山県
医療法人社団ひかり会 木村眼科内科病院	広島県
松本眼科	徳島県
医療法人幸友会 岡本眼科クリニック	愛媛県
出田眼科病院	熊本県
医療法人明和会 宮田眼科病院	宮崎県
医療法人水晶会 安里眼科	沖縄県

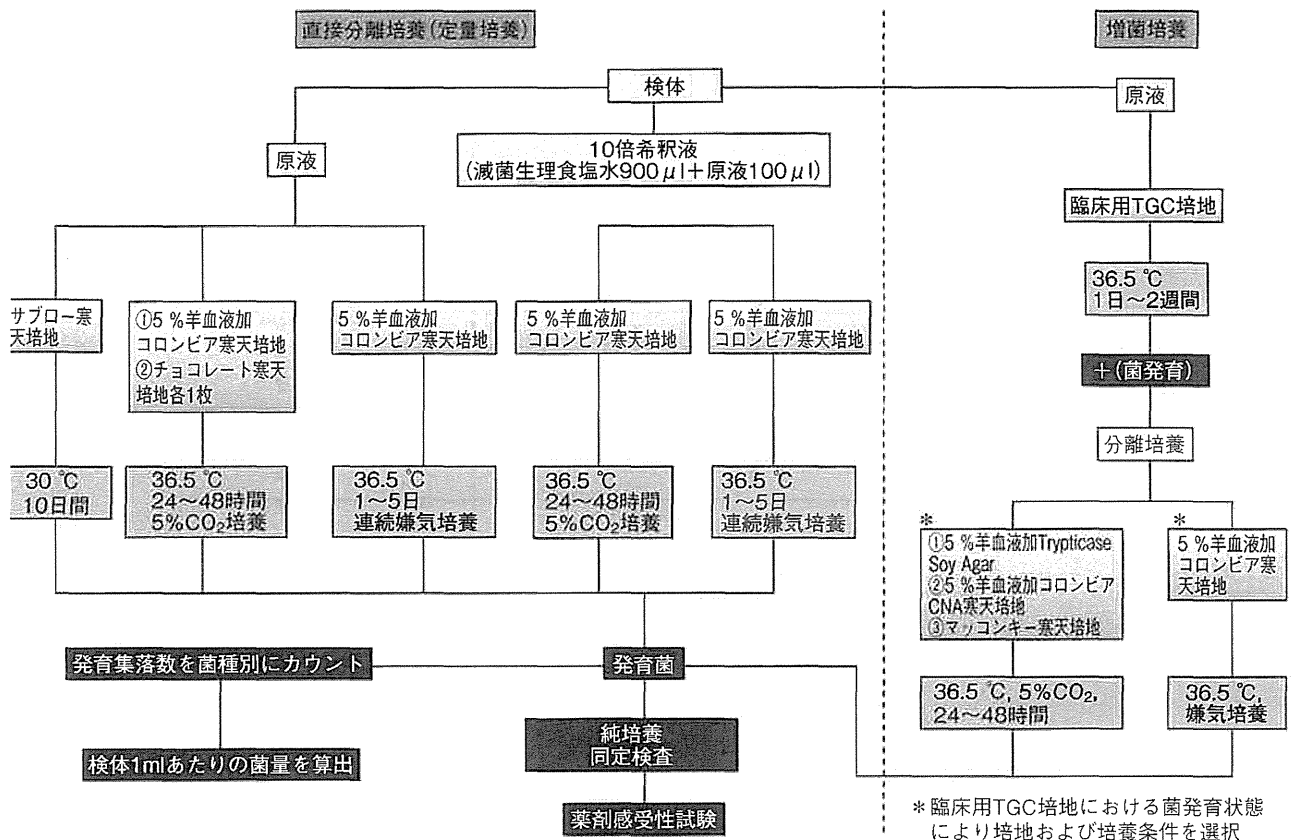


図 1 培養方法の流れ.

培養用に送られた検体は、直接分離培養と増菌培養に分けて各種培地に塗布した

いて、2007年9月22日から2008年8月25日の間に前眼部・外眼部感染症疑いで受診した患者(抗菌薬の投与症例を含む)である。対象患者には本調査の説明を十分に行い、文書による同意を取得した。感染部位から、滅菌綿棒(日本綿棒 2P753S)2本で擦過採取し、1本は塗抹検鏡用にリング付きスライドガラスに塗抹し、メチルアルコールで固定した。また、もう1本は分離培養のため、輸送用培地(ANA ポート微研®)に採取し、輸送や保存期間の影響を受けないようにするために凍結保存した。なお、検体の採取にあたっては滅菌生理食塩水で滅菌綿棒を湿らせ、結膜炎の場合、滅菌綿棒を下眼瞼の円蓋部まで挿入し、1往復ぬぐい検体を採取した。また、塗抹にあたっては、4つのリング付きスライドガラスを用い、一番外側から滅菌綿棒をスライド上で転がして単層の塗抹となるようにした。また、検体の残りがあれば次のリングにも塗抹を行った。角膜炎の場合は浸潤部を綿棒でぬぐい、一番外側のスライド上で滅菌綿棒をスタンプした。その他の感染症については症例の状態に応じて採取を行い、採取部位を記録した。

2種類の検体を一般財団法人阪大微生物病研究会へ輸送し、検鏡ならびに好気性・嫌気性培養を実施し、菌の分離・同定を行った。なお、本研究については参加施設を一括して中央倫理審査を行った。

塗抹検鏡では、グラム染色を実施し、グラム陽性菌・

陰性菌の有無、多核白血球とその菌貪食像の有無を確認した。細菌数は1,000倍の検鏡にて1視野あたりの数が20未満の場合には1+, 20以上で50以下の場合には2+, 50を超える場合には3+とグレード分けを行った。多核白血球は1,000倍で1視野あたりの数が1未満の場合には1+, 1以上で2未満の場合には2+, 2以上で10未満は3+, 10以上は4+とグレード分けを行った。

培養検査は、直接分離培養(好気および嫌気、定量培養)と増菌培養を並行して行った(図1)。定量培養については以下の手順で行った。

- 1) もとの検体(ANA ポート微研®)を voltex でよく混和する。
- 2) 滅菌生理食塩水 900 µl に検体(ANA ポート微研®) 100 µl を加え 10 倍希釈検体を調製する。
- 3) 検体原液(ANA ポート微研®)と 10 倍希釈検体各々 50 µl を 5% 羊血液加コロンビア寒天培地各々 2 枚に滴下し、コンラージ棒で塗抹する。原液については他にチョコレート寒天培地とサブロー寒天培地でも各々 1 枚培養する。
- 4) 36.5°C で 24~48 時間、5% CO<sub>2</sub> 条件下での培養、および 36.5°C で 1~5 日間連続嫌気培養を行う。
- 5) 各培地の発育集落数を菌種別に数え、希釈倍率から検体 1 ml あたりの菌量を算出する。

以上のようにして得られた分離菌の起炎菌判定につい

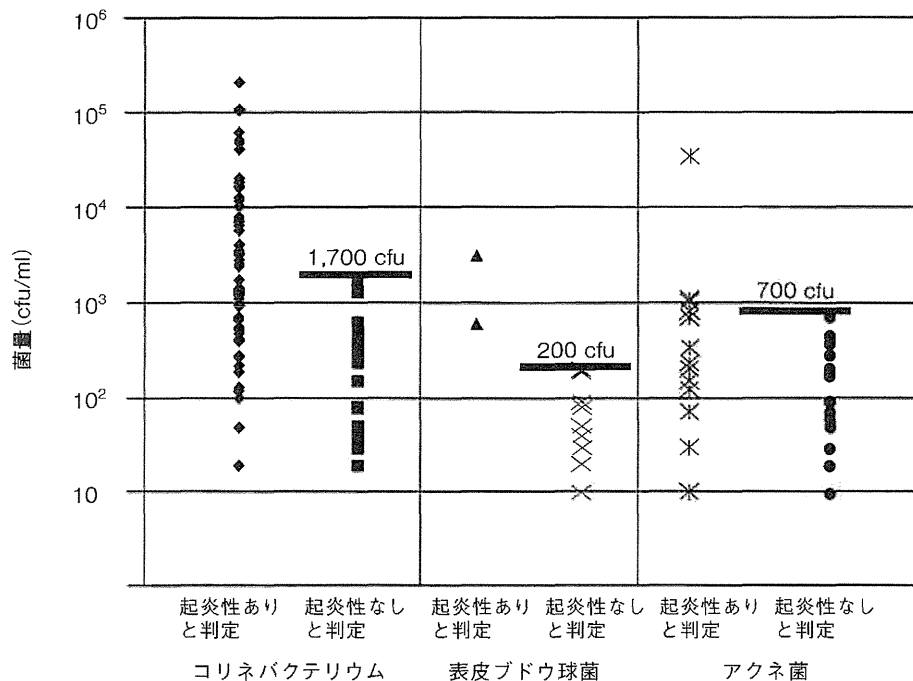


図 2 (1)~(3)の判定基準による3大常在菌の菌量散布図。

結膜の3大常在菌，コリネバクテリウム，表皮ブドウ球菌，アクネ菌を(1)~(3)の判定基準(次ページ本文)によって起炎性の有無を判定した結果で分けて菌量の散布図を書き，ここで起炎性なしと判定した症例の上限値(コリネバクテリウム1,700 cfu，表皮ブドウ球菌200 cfu，アクネ菌700 cfu，それぞれバーで示している)を，結膜炎において特定菌も塗抹培養一致菌もない症例で，この3大常在菌が分離された場合に推定起炎菌と判定する菌量の基準値として定めた。

て，以下に示す判定基準の原則を定めた。なお三井らの報告にある特定菌という考え方は採用したが，起炎性の推定の度合いにはどうしても差があることから三井らの報告のようにすべての判定を一律に白黒で判定することはせずに，重みづけを行って，より確からしいものを起炎菌，起炎菌である可能性があるが根拠が弱いものを推定起炎菌とした。

- ① 感染を示唆する臨床所見があること
- ② 起炎菌と推定起炎菌の2段階とする。
- ③ 黄色ブドウ球菌，モラクセラ桿菌，インフルエンザ菌，肺炎球菌，緑膿菌，淋菌の6菌種を特定菌とする。
- ④ 特定菌が直接分離培養で分離された場合は起炎菌とする。
- ⑤ 特定菌が増菌培養で分離された場合は推定起炎菌とする。
- ⑥ 塗抹検鏡と直接分離培養もしくは増菌培養の結果が一致した菌は菌量も勘案して起炎菌とする。
- ⑦ 塗抹検鏡と直接分離培養もしくは増菌培養の結果が一致しなくても菌量が多い場合は推定起炎菌とする。
- ⑧ ③~⑥以外で角膜炎の角膜病巣から直接分離培養で分離された菌は推定起炎菌とする。
- ⑨ ③~⑥以外で結膜炎・麦粒腫・化膿性霰粒腫・眼

險炎・涙囊炎・涙小管炎で病巣から直接分離培養で分離された菌は，多核白血球を伴っていれば推定起炎菌とする。ただし，表皮ブドウ球菌，アクネ菌，コリネバクテリウムでは一定の菌量を上回る場合とする。

### III 結 果

今回検体を採取した478症例の内訳は，男性191例，女性287例，平均年齢は59歳(0~97歳)であった。疾患別では結膜炎が306例と最も多く，角膜炎が86例，麦粒腫・化膿性霰粒腫(眼瞼炎を含む)が41例，涙囊炎(涙小管炎を含む)が43例という結果であった。2例は後眼部の感染であったため対象から除外した。

今回対象となった476例の前眼部・外眼部感染症症例から890株の菌が分離(直接分離培養598株，増菌培養292株)された。最も多かったのは *Propionibacterium acnes* 267株，次いで *Corynebacterium* spp. 167株，*Staphylococcus epidermidis* 99株，*Staphylococcus aureus* 64株，*Bacillus* spp. 19株であった。

以上の分離菌について起炎菌の判定を判定基準の原則によって行おうとしたが，実際の症例では複数の菌が分離されるため，条件はより複雑となる。また，具体的な菌量の基準の策定も必要となる。そこで，前述の原則をもとに，菌の優先順位と菌量から策定した起炎菌の判定

表 2 具体的な起炎菌判定基準

特定菌/ 非特定菌	分離法	特定菌の同時分離	塗抹と培養 の一致性	疾患	多核 白血球	菌種	菌量	起炎菌(○) 推定起炎菌(△)		
特定菌 <sup>※1</sup>	直接		NC	NC	NC	NC	NC	○		
	増菌		NC	角膜炎 <sup>※2</sup>	NC	NC	NC	○		
				角膜炎以外	NC	NC	NC	△		
非特定菌	直接	+ (特定菌は直接分離)	+ <sup>※3</sup>	NC	NC	NC	NC	○		
			NC	NC	NC	NC	特定菌の 10 倍を超 える量	○		
	直接	+ (特定菌は増菌分離)	+ <sup>※3</sup>	NC	NC	NC	NC	△		
			NC	NC	NC	NC	1,000 cfu 以上	△		
	直接/ 増菌	-	+	NC	NC	NC	NC	その症例の最大菌量	○	
				NC	NC	NC	NC	その症例の最大菌量 の分離菌の菌量の 1/100 を超える	△	
				NC	NC	NC	NC	塗抹培養一致菌が別 に分離されており、 その菌量の最大値の 10 倍を超える <sup>※4</sup>	△	
	直接	-	-		結膜炎	+	コリネバクテリ ウム	1,700 cfu を超える	△	
							表皮ブドウ球菌	200 cfu を超える	△	
							アクネ菌	700 cfu を超える	△	
上記 3 大常在菌 以外							NC	△		
角膜炎							NC	NC	NC	△
麦粒腫・化膿 性霰粒腫・眼 瞼炎 <sup>※5</sup>							+	NC	NC	△
涙囊炎・涙小 管炎 <sup>※6</sup>							+	NC	NC	△
増菌	-	-	-	角膜炎	NC	<i>Serratia mar- cescens</i>	NC	△		

※1：特定菌は黄色ブドウ球菌，モラクセラ桿菌，インフルエンザ菌，肺炎球菌，緑膿菌，淋菌の 6 菌種。  
 ※2：他に起炎菌の候補となる菌が分離されない場合に限る。  
 ※3：起炎菌・推定起炎菌とした特定菌と塗抹の上で区別できない菌は除く。  
 ※4：塗抹培養一致菌が増菌培養の場合は最大値 10 cfu と解釈する(増菌培養では菌量測定をしていないため)  
 ※5：膿から分離された場合に限る。  
 ※6：涙囊・涙小管から分離された場合に限る。  
 NC：not concerned(如何を問わない)。

基準を以下のように定めた。ここで、常在菌であるコリネバクテリウム，表皮ブドウ球菌，アクネ菌の 3 菌種については図 2 に示すような菌量散布図を以下の(1)～(3)の基準の結果に基づいて作成し，そこで「起炎性なし」と判定された症例の菌量の最大値をもとに(4)の基準を定めた。

- (1) 特定菌が直接分離培養で分離された場合，その特定菌を「起炎菌」とする。ただし，その菌量の 10 倍を超える菌が他にある場合，あるいは塗抹と直接分離培養の結果が一致した菌が他にある場合は，それも「起炎菌」とする。ただし，「起炎菌」とした特定菌と塗抹の上で区別ができない菌はこの限りではない。

※なお，以下を特定菌とする。

黄色ブドウ球菌，モラクセラ桿菌，インフルエンザ菌，肺炎球菌，緑膿菌，淋菌。

- (2) 特定菌が増菌培養で分離された場合，「推定起炎菌」とする。ただし，菌量が 1,000 cfu 以上の菌が他にある場合，あるいは塗抹と直接分離培養の結果が一致した菌が他にある場合は，それも「推定起炎菌」とする。ただし，「推定起炎菌」とした特定菌と塗抹の上で区別ができない菌はこの限りではない。また，角膜炎において他に起炎菌の候補となる菌が分離されない場合には，増菌培養で分離された特定菌を「起炎菌」とする。
- (3) 上記の(1)，(2)以外で，塗抹と直接分離培養ある

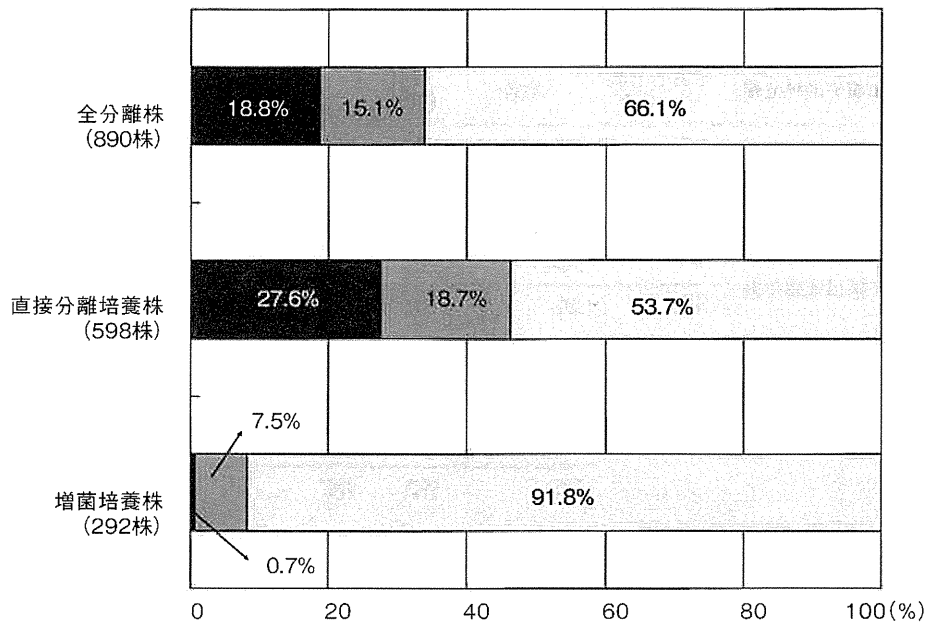


図3 全分離株における起炎菌・推定起炎菌の割合。

■：起炎菌，■：推定起炎菌，□：非起炎菌。

33.9% が起炎菌あるいは推定起炎菌と判定された。

いは増菌培養結果が一致した場合、一致した菌の菌量が当該症例の分離菌において最大であれば「起炎菌」とする。一致した菌の菌量が最大でない場合には、当該症例の分離菌における最大菌量の1/100を超える量を認めるものに関しては「推定起炎菌」とする。また、塗抹と直接分離培養あるいは増菌培養結果の一致した菌の菌量の最大値（最大値が増菌の場合は10 cfuと解釈）の10倍を超える菌量を認めた不一致菌も「推定起炎菌」とする。

- (4) 上記の(1)～(3)以外で、結膜炎において多核白血球が陽性であり、コリネバクテリウム、表皮ブドウ球菌、アクネ菌のいずれかが直接分離培養で分離された場合、(1)～(3)の基準によってこの3菌種が分離されているが推定起炎菌と判定されなかった症例における最大菌量(コリネバクテリウムは1,700 cfu、表皮ブドウ球菌は200 cfu、アクネ菌は700 cfu)を超える菌量を認めるものを「推定起炎菌」とする。それ以外の菌の場合には直接分離培養にて分離された細菌を「推定起炎菌」とする。
- (5) 上記の(1)～(3)以外で、角膜炎において病巣から採取された検体で、直接分離培養にて分離された菌は「推定起炎菌」とする(多核白血球の有無は問わない)。また、角膜炎において病巣から採取された検体で、増菌培養にて分離された *Serratia marcescens* を「推定起炎菌」とする。
- (6) 上記の(1)～(3)以外で、麦粒腫・化膿性霰粒腫・

眼瞼炎において膿から採取された検体であり、多核白血球が陽性で、直接分離培養により分離された菌を「推定起炎菌」とする。

- (7) 上記の(1)～(3)以外で、涙囊炎・涙小管炎において涙囊・涙小管から採取された検体であり、多核白血球が陽性で、直接分離培養により分離された菌は「推定起炎菌」とする。

以上、きわめて複雑な基準であるため、これを表の形にまとめたものを表2に示す。

本基準をもとに分離菌に対し、起炎菌ならびに推定起炎菌を判定した。全分離株890株中、起炎菌と判定された菌が167株(18.8%)、推定起炎菌と判定された菌が134株(15.1%)であった。また、直接分離培養で検出された598株中、起炎菌と判定された菌は165株(27.6%)、推定起炎菌と判定された菌は112株(18.7%)であり、増菌培養より検出された292株中、起炎菌と判定された菌は2株(0.7%)、推定起炎菌と判定された菌は22株(7.5%)であった(図3)。全分離菌の菌種ごと、疾患別の起炎菌判定一覧を表3に示す。また、主な菌種別の分離株数、起炎菌ならびに推定起炎菌と判定された株数の内訳を図4に示す。本研究では、起炎菌判定基準において特定菌とした黄色ブドウ球菌、モラクセラ桿菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌、緑膿菌、淋菌の6菌種では、64株が分離された黄色ブドウ球菌において、起炎菌と判定されたのは45株、推定起炎菌が19株、2株が分離された緑膿菌では起炎菌が1株、推定起炎菌が1株であった他、2株が分離されたモラクセラ桿菌、14株が分離されたインフルエンザ菌、8株が分離された肺炎球菌においては

表 3 全分離菌の疾患別起炎菌判定一覧

菌種	菌株数	起炎菌				推定起炎菌				非起炎菌				
		結膜炎	角膜炎	麦粒腫	涙囊炎	結膜炎	角膜炎	麦粒腫	涙囊炎	結膜炎	角膜炎	麦粒腫	涙囊炎	
グラム陽性球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	64	31	3	3	8	15	1	2	1	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	99	2	0	0	0	3	4	0	0	63	10	10	7
	<i>Staphylococcus capitis</i>	9	0	0	0	0	0	1	0	0	5	1	1	1
	<i>Staphylococcus hominis</i>	6	0	0	0	0	1	0	0	0	4	0	1	0
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	6	0	0	0	0	1	0	0	0	4	0	0	1
	<i>Staphylococcus warneri</i>	5	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0	0
	その他の <i>Staphylococcus</i> 属	16	0	0	0	0	1	0	0	0	12	2	1	0
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	8	6	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Streptococcus oralis</i>	20	1	0	0	0	2	0	0	0	11	1	1	4
	<i>Streptococcus mitis</i>	14	0	0	0	0	5	1	0	1	6	1	0	0
	<i>Streptococcus constellatus</i>	6	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	2
	その他の <i>Streptococcus</i> 属	20	5	0	0	0	1	0	0	0	10	1	0	3
	Micrococcus 属	11	1	0	0	0	0	1	0	0	5	1	3	0
	Gemella 属	11	0	0	0	0	3	1	0	0	6	0	0	1
	Enterococcus 属	6	0	0	2	0	0	0	0	0	4	0	0	0
	その他のグラム陽性球菌	9	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0
グラム陽性桿菌	Corynebacterium 属	167	47	1	9	7	15	6	1	1	64	2	12	2
	Bacillus 属	19	0	0	0	0	5	0	0	0	10	2	2	0
	その他のグラム陽性桿菌	13	0	0	0	0	1	0	0	2	4	3	2	1
グラム陰性球菌	5	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	1	0	
グラム陰性桿菌	<i>Haemophilus influenzae</i>	14	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Moraxella 桿菌	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	5	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	1	0
	Comamonas 属	9	0	0	0	0	1	0	0	0	5	2	0	1
	Acinetobacter 属	8	0	0	0	0	1	1	0	0	4	2	0	0
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5	1	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0
	その他のグラム陰性桿菌	36	5	1	0	1	3	2	1	1	10	8	1	3
嫌気性菌	<i>Propionibacterium acnes</i>	267	1	1	4	1	8	14	4	4	169	28	18	15
	その他の嫌気性菌	27	1	1	1	2	6	1	0	3	9	0	1	2
放線菌	放線菌	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
計		890												

麦粒腫には、化膿性霰粒腫と眼瞼炎を含む。涙囊炎には涙小管炎を含む。

いずれも起炎菌と判定された。また、今回、淋菌は分離されなかった。特定菌以外において、常在菌である表皮ブドウ球菌は 99 株が分離され、そのうち 2 株(2.0%)が起炎菌、7 株(7.1%)が推定起炎菌と判定され、アクネ菌は 267 株が分離され、そのうち 7 株(2.6%)が起炎菌、30 株(11.2%)が推定起炎菌と判定された。一方、167 株が分離されたコリネバクテリウムでは、64 株(38.3%)が起炎菌、23 株(13.8%)が推定起炎菌と判定され、他の常在菌に比し高い起炎性を示すと判定された。

結膜炎に関しては全分離株 616 株中、起炎菌と判定された菌が 116 株(18.8%)、推定起炎菌と判定された菌が 73 株(11.9%)であった。また、直接分離培養された 425 株中、起炎菌と判定された菌は 116 株(27.3%)、推定起炎菌と判定された菌は 58 株(13.6%)であり、増菌培養された 191 株中、起炎菌と判定された菌はなく、推定起炎菌と判定された菌は 15 株(7.9%)であった(図 5)。主

な菌種別の分離株数、起炎菌ならびに推定起炎菌と判定された株数の内訳を図 6 に示す。特定菌では黄色ブドウ球菌 46 株において、起炎菌と判定されたのは 31 株、推定起炎菌が 15 株であった。モラクセラ桿菌 1 株、インフルエンザ菌 14 株、肺炎球菌 6 株はすべて起炎菌と判定された。緑膿菌の分離はなかった。常在菌については、表皮ブドウ球菌は 68 株中 2 株(2.9%)が起炎菌、3 株(4.4%)が推定起炎菌と判定され、アクネ菌は 178 株中 1 株(0.6%)が起炎菌、8 株(4.5%)が推定起炎菌と判定された。コリネバクテリウムは 126 株中、47 株(37.3%)が起炎菌、15 株(11.9%)が推定起炎菌と判定された。

角膜炎に関しては全分離株 111 株中、起炎菌と判定された菌が 9 株(8.1%)、推定起炎菌と判定された菌が 38 株(34.2%)であった。また、直接分離培養された 56 株中、起炎菌と判定された菌は 7 株(12.5%)、推定起炎菌と判定された菌は 35 株(62.5%)であり、増菌培養され

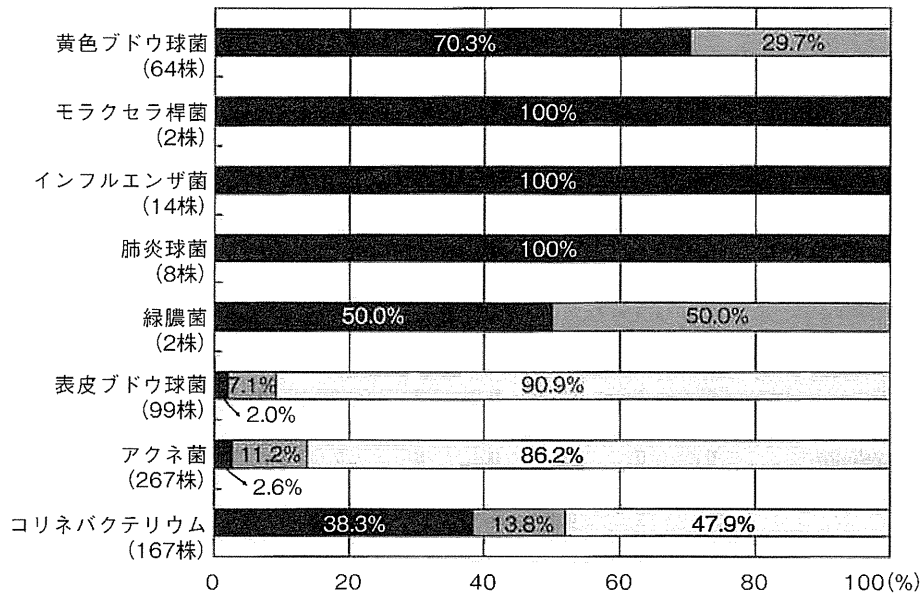


図 4 主要菌の菌別の起炎菌・推定起炎菌の割合。

■：起炎菌，■：推定起炎菌，□：非起炎菌。

特定菌と3大常在菌の起炎菌・推定起炎菌の判定結果である。淋菌は今回のスタディでは分離されていない。他の5つの特定菌は当然のことながら、起炎菌あるいは推定起炎菌として判定されている。3大常在菌についても、一部起炎菌と判定され、特にコリネバクテリウムが高い起炎菌、推定起炎菌率を示している。

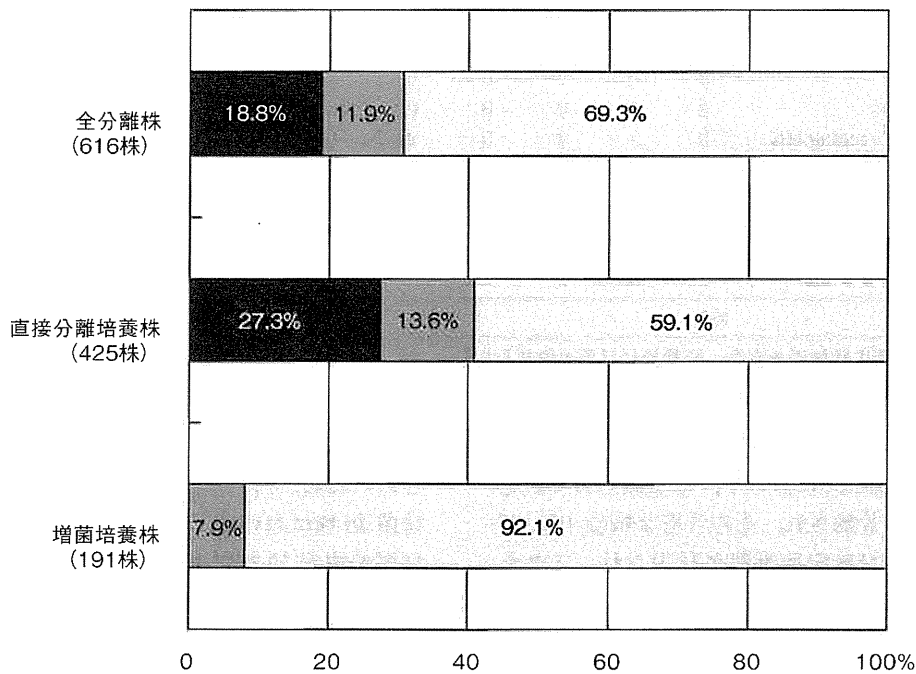


図 5 全結膜炎分離株での起炎菌・推定起炎菌の割合。

■：起炎菌，■：推定起炎菌，□：非起炎菌。

30.7% が起炎菌あるいは推定起炎菌と判定された。

た55株中、起炎菌と判定された菌は2株(3.6%)、推定起炎菌と判定された菌は3株(5.5%)であり、結膜炎と比較して起炎菌・推定起炎菌両者を合わせるとその割合は高く、起炎菌に限ると低い結果となった(図7)。主な菌種別の分離株数、起炎菌ならびに推定起炎菌と判定さ

れた株数の内訳を図8に示す。特定菌では黄色ブドウ球菌4株において、起炎菌と判定されたのは3株、推定起炎菌が1株であった。モラクセラ桿菌1株、緑膿菌1株は起炎菌と判定された。インフルエンザ菌、肺炎球菌の分離はなかった。常在菌については、表皮ブドウ球菌は



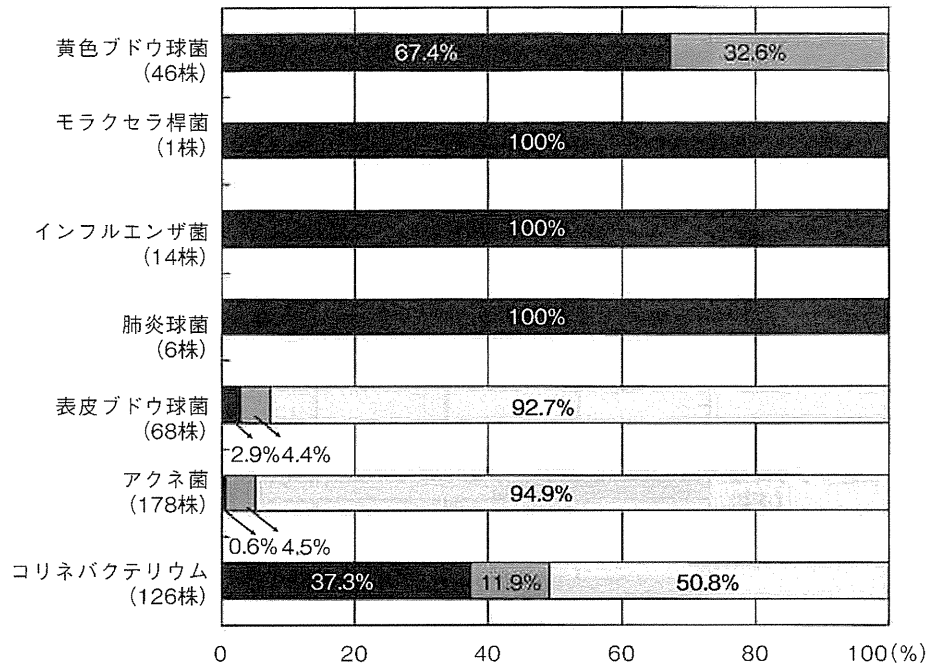


図 6 結膜炎主要分離菌での菌別の起炎菌・推定起炎菌の割合。

■：起炎菌，■：推定起炎菌，□：非起炎菌。

結膜炎で分離された特定菌と 3 大常在菌の起炎菌・推定起炎菌の判定結果である。緑膿菌，淋菌は今回のスタディでは分離されていない。

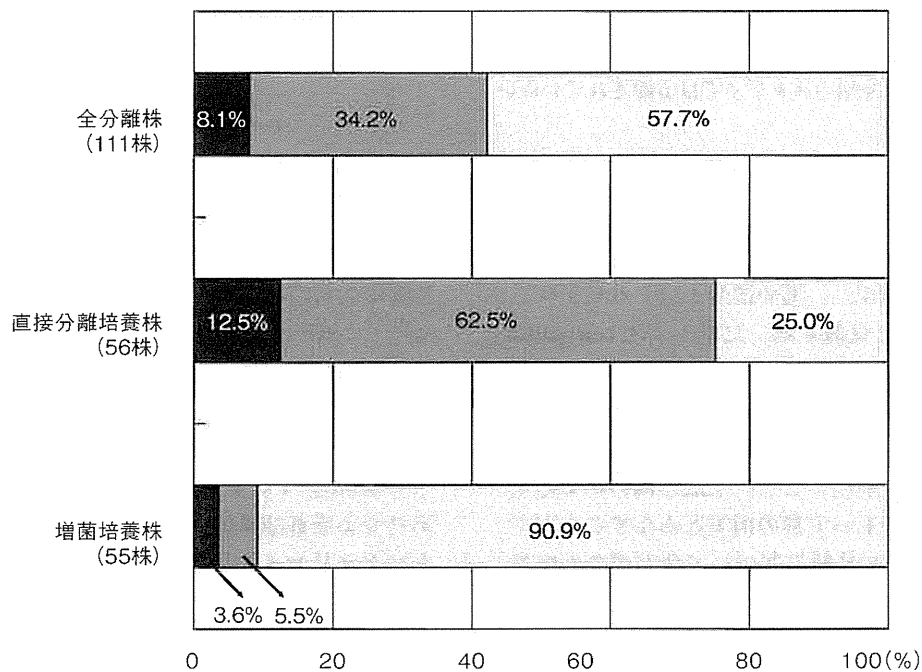


図 7 全角膜炎分離株での起炎菌・推定起炎菌の割合。

■：起炎菌，■：推定起炎菌，□：非起炎菌。

42.3% が起炎菌あるいは推定起炎菌と判定された。

14 株中起炎菌と判定された株はなく，4 株(28.6%)が推定起炎菌と判定され，アクネ菌は 43 株中 1 株(2.3%)が起炎菌，14 株(32.6%)が推定起炎菌と判定された。コリネバクテリウムは 9 株中，1 株(11.1%)が起炎菌，6

株(66.7%)が推定起炎菌と判定された。

#### IV 考 按

緒言でも述べたように，三井ら<sup>16)</sup>は汎用性抗生物質な

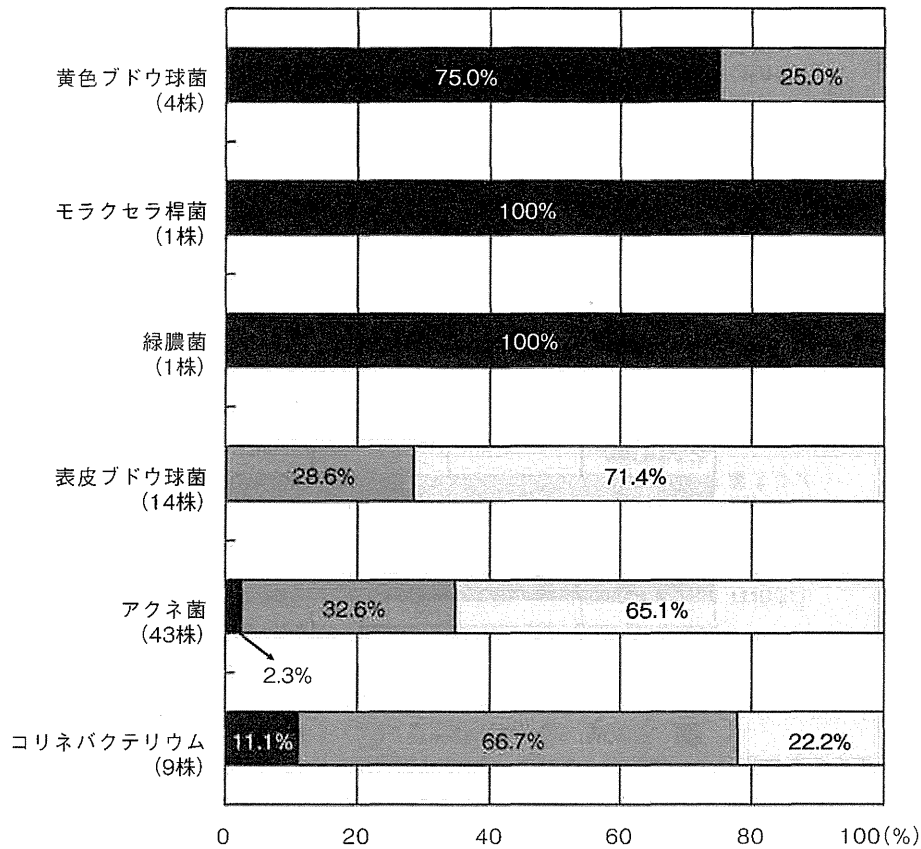


図 8 角膜炎主要分離菌での菌別の起炎菌・推定起炎菌の割合.

■：起炎菌，■：推定起炎菌，□：非起炎菌.

角膜炎で分離された特定菌と3大常在菌の起炎菌・推定起炎菌の判定結果である。インフルエンザ菌，肺炎球菌，淋菌は今回のスタディでは分離されていない。

ど点眼薬の臨床試験を想定して、起炎菌とその消失についての評価基準を定めており、「1 症例から2種類以上の菌が分離された場合には、そのすべてが起炎菌またはその協力菌であると推定し、菌の消失とはそれらすべての菌が消失した場合と定義する。ただし、*H. aegyptius* 菌、インフルエンザ菌、*Moraxella* 菌、緑膿菌、肺炎球菌、*S. aureus* 菌および淋菌(以上を特定菌と呼ぶ)が検出された結膜炎など(以上を特定疾患と呼ぶ)は、臨床症状および他の分離菌を参照として、上記の菌のみを起炎菌と推定しその消失をもって菌の消失とみなすことができる」としている。この見解に基づいて我が国での抗菌点眼薬の治験は行われてきた。ここでは分離された菌を広く起炎菌として取り扱うようになっており、多くの常在菌は、同時に特定菌が分離されていない限り、そのまま起炎菌と認定される形となっている。今回のスタディでは、菌を単に分離するだけでなく、あわせてその定量も行い、また同時に塗抹検鏡の結果も勘案して起炎菌の判定を試みた。

当初、菌の貪食像を認めたものを起炎菌とするべきとの考えもあったが、貪食像をみたものは全体のサンプルの11.5%にとどまったため、多核白血球の有無を指標とした。また、塗抹検鏡について菌と多核白血球のグレー

ド分けも行ったが、判定基準自体が想定以上に複雑なものとなった(表2)ため、これを盛り込むことはできなかった。また、同様の理由から、治療薬に対する反応を起炎性の判定の指標として取り入れることもできなかった。したがって抗菌薬の投与によって本来の起炎菌が死滅し、代わりに増殖した非起炎菌を起炎菌と判定してしまっている可能性は残る。例えばコリネバクテリウムについていえば、コリネバクテリウムが分離された症例のうち23.4%で抗菌薬が使用されているが、コリネバクテリウムを起炎菌とした症例ではこれが28.1%、コリネバクテリウムを推定起炎菌とした症例では26.1%となっている。あるいはコリネバクテリウムが分離された症例で抗菌薬を使用していない例では35.9%が起炎菌、13.3%が推定起炎菌と判定されているが、抗菌薬が使用されている症例では46.2%が起炎菌、15.4%が推定起炎菌と判定されている(データ示さず)。つまり抗菌薬が使用されているとコリネバクテリウムが起炎菌と判定されやすくなっているのである。これが単にコリネバクテリウムにフルオロキノロン系抗菌薬に対する耐性株が多い結果であると考えるか、あるいは前述したような菌交代をみているのかは不明である。このように薬剤耐性菌の多い菌種については影響が少なからずあっ

たとえられるが、現在広く使用されているフルオロキノロン系点眼薬やセフメノキシム点眼薬がいずれも広い抗菌スペクトルを有しているため、それらによる違いが全体の結果には大きく影響しなかったと思われる。今回の判定基準は絶対的なものではなく、起炎菌として判断されたものの中にも本当は起炎菌でないものも含まれている可能性があり、その逆の場合もありうるが、真の起炎菌が不明なため、感度・特異度を云々することは難しい。特に今回は三井らの基準も参考に特定菌という概念を持ち込んだため、特定菌についてはすべて起炎菌もしくは推定起炎菌として扱っているが、頻度は低いながら、これらの菌が常在菌叢から分離されることには留意すべきである。

今回の参加施設はすべて、大学や総合病院を含まない一般開業医の診療所であるために、軽症例が多く、特定菌の分離率が低く、常在菌が逆に多いという結果となった。しかしながら、そのために 3 大常在菌については菌量や塗抹検鏡との一致性から起炎菌と考えられる場合が少なからずあり、特にコリネバクテリウムが起炎菌と判定される症例が意外に多いことが判明した。

スタディグループにおいて 2 回にわたって行った起炎菌判定委員会において症例一覧の臨床所見と塗抹検査の結果などをみて、一定の線を引いたが、菌量の基準についての統計学的な裏付けはなく、厳密に言えば、3 大常在菌については正常者で得られた結膜の菌量を基準とする方法がより適当であったと思われる。ただ参考となるのは、日本眼感染症学会で行われた術前滅菌法スタディ<sup>17)</sup>で白内障術前患者より得られた 3 大常在菌の量を示すデータである。菌の定量も阪大微生物病研究会臨床検査部において、今回とまったく同じ方法で行われており、施設、年齢はマッチしていないが、今回のデータとの比較がある程度可能と考えられる。この術前滅菌法のデータに、今回の起炎性の基準値を仮に当てはめると、コリネバクテリウムでは 55 株中 2 株(3.6%)、表皮ブドウ球菌では 215 株中 17 株(7.9%)、アクネ菌では 225 株中 3 株(1.3%)が「起炎性あり」と判定されるが、その割合はそれほど高くない。一方で、特にコリネバクテリウムでは、白内障術前患者と眼感染症患者では明らかに菌量に違いがあり、白内障術前患者では決して認められなかった 4,000 cfu/ml 以上の菌量を示した症例が今回多く認められたことから、その起炎性をより強く示唆しているといえる。

コリネバクテリウムについては、ジフテリア菌の他に、*C. jeikeium* が 1970 年代より敗血症の起炎菌として報告されて以来、薬剤耐性の病院感染起炎菌として注目されているが、その他の種については非病原菌とされており、眼科領域以外ではまったく無視に近い扱いとなっている。そのため、コリネバクテリウムが分離された場合、たとえ眼科由来検体であっても細菌検査室や検査セ

ンターでは雑菌として取り扱われ、眼科医側には「分離菌なし」で報告されることさえあるほどである。しかし、「起炎菌とはなりにくい」という感染性角膜炎診療ガイドラインの記載<sup>18)</sup>に反して、角膜炎の起炎菌としての報告が増加している他<sup>19)~23)</sup>、今回の起炎菌判定の結果でも、結膜炎において非常に高い菌量でコリネバクテリウムが検出される場合があり、塗抹検鏡でも 3+ となるもの、貪食像を認める症例も多い点で、従来考えられているよりも眼表面で起炎菌として働いているのではないかと考えられた。一方でコリネバクテリウムは *gyr A* 遺伝子はあるが *par C* 遺伝子はないために、*gyr A* 遺伝子の quinolone resistance-determining region(QRDR)の変異のみで容易に薬剤耐性になることが知られており、フルオロキノロン耐性が高率に生じていることが報告されている。Eguchi ら<sup>24)</sup>は、結膜から分離された *C. macginleyi* 16 株を解析し、1 株でノルフロキサシン高度耐性で *gyr A* 遺伝子 83 番の mutation を認め、15 株でノルフロキサシン・シプロフロキサシン・レボフロキサシンに高度耐性で *gyr A* 遺伝子 83 番・87 番の double mutation を認めたとしている。コリネバクテリウムが病原菌として働くケースが多いのであれば、その耐性化は大きな問題となる。

一方、表皮ブドウ球菌は、常在菌ながら、眼内炎や角膜炎の起炎菌として注目されており、結膜炎でもコリネバクテリウムよりも重要と考えられていたと思われる。しかし、今回のスタディではその起炎菌・推定起炎菌としての判定率は低かった。これは表皮ブドウ球菌が結膜においては、炎症を引き起こすうえで、あまり重要な役割を果たしていないことを示唆していると思われる。細菌は一般に bacteriocin という抗菌物質を産生することが知られており、この bacteriocin は特に自分の近縁種をよく抑えるとされる。特に表皮ブドウ球菌は Pep 5, epidermin, epilancin K 7, epicidin 280 など多くの bacteriocin を産生し、その中でも Pep 5 と epidermin はブドウ球菌をよく抑え、また epidermin は黄色ブドウ球菌は抑えるがコアグラウゼ陰性ブドウ球菌は抑えないことが報告されている<sup>25)</sup>。結膜嚢では表皮ブドウ球菌がコロニーを形成することによって黄色ブドウ球菌の増殖を抑制していると考えられ、現に、アトピー性皮膚炎患者ではこのバランスがくずれ、結膜嚢から表皮ブドウ球菌は分離されず、黄色ブドウ球菌が分離されることが多い<sup>26)</sup>。このように表皮ブドウ球菌は結膜においては、病原菌による感染をむしろ抑制する側に回っている可能性も考えられる。

今回、結膜炎と比較して、角膜炎における「起炎菌」の判定率は低い結果となった。これは、角膜炎の場合、結膜に比較して分離培養や塗抹標本で得られるサンプルが少なく、病巣からの細菌の分離率も一般的に低いことに起因している<sup>27)</sup>。また、検体を 2 つ採取する方法が両

方の検体量を減らす結果となったうらみもある。そのため、今回のような感度の良い方法を用いても得られる菌量はやはり低いため、多核白血球の有無は問わずに、直接分離培養にて分離された菌はすべて「推定起炎菌」とした他、増菌培養にて分離された *Serratia marcescens* なども「推定起炎菌」とした。このように、結膜炎よりも基準を緩和した結果として、起炎菌・推定起炎菌両者を合わせた割合は、逆に、結膜炎よりも高くなったものと考えられる。

今回のスタディを通じて、起炎菌を一括して判定することが困難であることが逆に示された形となった。特に検体量の多寡が起炎菌判定に少なからず影響する。今回の判定基準は一つの試みであり、方法が異なれば結果も自ずと変わってくることから、今回の基準を各施設で行われている菌の分離結果にそのままあてはめることはもちろんできないが、もともとなった基本原則は応用可能ではないかと思われる。実際の臨床においては、いろいろな条件が重なる中で起炎性が発揮されるため、個々の症例においてそれぞれの細菌の起炎性を独立して考えていく必要がある。

#### 眼感染症薬剤感受性スタディグループ

安里良盛(医療法人水晶会安里眼科), 阿部 徹(阿部眼科), 生駒尚秀(いこま眼科医院), 井上 康(医療法人眼科誠会井上眼科), 井上幸次(鳥取大学医学部視覚病態学), 魚谷 純(魚谷眼科医院), 江口秀一郎(江口眼科病院), 大橋 勉(医療法人社団大橋眼科), 大橋秀行(大橋眼科), 大橋裕一(愛媛大学医学部眼科), 岡本茂樹(医療法人幸友会岡本眼科クリニック), 岡本 豊(一般財団法人阪大微生物病研究会臨床検査部), 木村 亘(医療法人社団ひかり会木村眼科内科病院), 坂本雅子(一般財団法人阪大微生物病研究会臨床検査部), 佐々木香(出田眼科病院), 庄司 純(庄司眼科医院), 中川 尚(医療法人社団馨風会徳島診療所), 秦野 寛(ルミネはたの眼科), 稗田 牧(バプテスト眼科クリニック), 松本治恵(松本眼科), 宮田和典(医療法人明和会宮田眼科病院), 安間哲史(安間眼科)

利益相反：井上幸次(カテゴリー F：参天製薬), 大橋裕一(カテゴリー F：参天製薬), 下村嘉一(カテゴリー F：参天製薬), 眼感染症薬剤感受性スタディグループ(カテゴリー F：日本アルコン)

#### 文 献

1) Goldstein MH, Kowalski RP, Gordon YJ : Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis A 5-year review. *Ophthalmology* 106 : 1313—1318, 1999.

- 2) Kowalski RP, Yates KA, Romanowski EG, Karenchak LM, Mah FS, Gordon YJ : An Ophthalmologist's guide to understanding antibiotic susceptibility and minimum inhibitory concentration data. *Ophthalmology* 112 : 1987—1991, 2005.
- 3) Oliveira AD, D'Azevedo PA, Francisco W : *In vitro* activity of fluoroquinolones against ocular bacterial isolates in Sao Paulo, Brazil. *Cornea* 26 : 194—198, 2007.
- 4) Asbell PA, Colby KA, Deng S, McDonnell P, Meisler DM, Raizman MB, et al : Nationwide antimicrobial susceptibility patterns in ocular isolates. *Am J Ophthalmol* 145 : 951—958, 2008.
- 5) Sueke H, Kaye S, Neal T, Murphy C, Hall A, Whittaker D, et al : Minimum inhibitory concentrations of standard and novel antimicrobials for isolates from bacterial keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51 : 2519—2524, 2010
- 6) 宮尾益也, 本山まり子, 阿部達也, 笹川智幸, 大石正夫 : 新潟大学眼感染症クリニックにおける検出菌と薬剤感受性検査の成績(1982—1991年). *眼紀* 44 : 1577—1583, 1993.
- 7) 浅野浩一, 村山禎一郎, 北川和子, 佐々木一之, 早瀬 満 : 外眼部感染症分離菌とその薬剤感受性(1989年～1993年). *眼科* 41 : 1035—1042, 1999.
- 8) 青山繁樹, 下田幸紀, 北川和子, 佐々木一之 : 外眼部感染症分離菌とその薬剤感受性(1994年～1996年). *眼科* 41 : 1149—1155, 1999.
- 9) 秋葉真理子, 秋葉 純 : 乳幼児細菌性の検出菌と薬剤感受性の検討. *あたらしい眼科* 18 : 929—931, 2001.
- 10) 原 二郎, 横山順子, 田聖 花, 清水一弘, 池田恒彦 : 外眼部感染症からの臨床分離菌の薬剤感受性あたらしい眼科 18 : 89—93, 2001.
- 11) 藤 紀彦, 田原昭彦 : 脂脂培養による細菌の薬剤感受性 *臨眼* 57 : 439—443, 2003.
- 12) 砂田淳子, 上田安希子, 井上幸次, 大橋裕一, 宇野敏彦, 北川和子, 他 : 感染性角膜炎全国サーベイランス分離菌における薬剤感受性と市販点眼薬の postantibiotic effect の比較 *日眼会誌* 110 : 973—983, 2006.
- 13) 松本治恵, 井上幸次, 大橋裕一, 白井正彦, COI 細菌性結膜炎検出菌スタディグループ : 多施設共同による細菌性結膜炎における検出菌動向調査. *あたらしい眼科* 24 : 647—654, 2007.
- 14) 堀由紀子, 望月清文, 村瀬寛紀, 末松寛之, 山岸由香, 三嶋廣繁 : 外眼部感染症における検出菌とその薬剤感受性に関する検討(1998年～2006年). *日眼会誌* 113 : 583—595, 2009.
- 15) Japanese Respiratory Society : Diagnosis of hospital-acquired pneumonia and methods of testing for pathogens *Respirology* 14 : S 10—22, 2009.
- 16) 三井幸彦, 北野周作, 内田幸男, 田中直彦, 小林俊作, 徳田久弥, 他 : 細菌性外眼部感染症に対する汎用抗生物質等点眼薬の評価基準, 1985 : *日眼会誌* 90, 511—515, 1986.

- 17) Inoue Y, Usui M, Ohashi Y, Shiota H, Yamazaki T for the Preoperative Disinfection Study Group : Preoperative disinfection of the conjunctival sac with antibiotics and iodine compounds : A prospective randomized multicenter study. *Jpn J Ophthalmol* 52 : 151—161, 2008.
- 18) 井上幸次, 大橋裕一, 浅利誠志, 石橋康久, 宇野敏彦, 木下 茂, 他 : 感染性角膜炎診療ガイドライン. *日眼会誌* 111 : 769—809, 2007.
- 19) Funke G, Pagano-Niederer M, Bernauer W : *Corynebacterium macginleyi* has to date been isolated exclusively from conjunctival swabs. *J Clin Microbiol* 36 : 3670—3673, 1998.
- 20) Jousseaume AM, Funke G, Jousseaume F : *Corynebacterium macginleyi* : a conjunctiva specific pathogen. *Br J Ophthalmol* 84 : 1420—1422, 2000.
- 21) 柿丸晶子, 川口亜佐子, 三原悦子, 宮崎 大, 井上幸次 : レボフロキサシン耐性コリネバクテリウム縫合糸感染の 1 例. *あたらしい眼科* 21 : 801—804, 2004.
- 22) Suzuki T, Iihara H, Uno T, Hara Y, Ohkusu K, Hata H, et al : Suture-related keratitis caused by *Corynebacterium macginleyi* *J Clin Microbiol* 45 : 3833—3836, 2007.
- 23) 稲田耕大, 前田郁世, 池田欣史, 宮崎 大, 井上幸次, 江口 洋, 他 : コリネバクテリウムが起炎菌と考えられた感染性角膜炎の 1 例. *あたらしい眼科* 26 : 1105—1107, 2009.
- 24) Eguchi H, Kuwahara T, Miyamoto T, Nakayama-Imaohji H, Ichimura M, Hayashi T, et al : High-level fluoroquinolone resistance in ophthalmic clinical isolates belonging to the species *Corynebacterium macginleyi* *J Clin Microbiol* 46 : 527—532, 2008.
- 25) Nascimento JS, Ceotto H, Nascimento SB, Giambiagi-Demarval M, Santos KR, Bastos MC : Bacteriocins as alternative agents for control of multiresistant staphylococcal strains. *Lett Appl Microbiol* 42 : 215—221, 2006.
- 26) Nakata K, Inoue Y, Harada J, Maeda N, Watanabe H, Tano Y, et al : A high incidence of *Staphylococcus aureus* colonization in the external eyes of patients with atopic dermatitis. *Ophthalmology* 107 : 2167—2171, 2000.
- 27) 感染性角膜炎全国サーベイランス・スタディグループ : 感染性角膜炎全国サーベイランス—分離菌・患者背景・治療の現況—. *日眼会誌* 110 : 961—972, 2006.

## 前眼部・外眼部感染症起炎菌の薬剤感受性

## —日本眼感染症学会による眼感染症起炎菌・薬剤感受性多施設調査(第二報)—

秦野 寛<sup>1)</sup>, 井上 幸次<sup>2)</sup>, 大橋 裕一<sup>3)</sup>, 下村 嘉一<sup>4)</sup>, 坂本 雅子<sup>5)</sup>  
岡本 豊<sup>5)</sup>; 眼感染症薬剤感受性スタディグループ

<sup>1)</sup>ルミネはたの眼科, <sup>2)</sup>鳥取大学医学部視覚病態学, <sup>3)</sup>愛媛大学医学部視機能外科学

<sup>4)</sup>近畿大学医学部眼科学, <sup>5)</sup>一般財団法人阪大微生物病研究会臨床検査部

## 要 約

目的: 前眼部・外眼部感染症からの起炎菌について, その薬剤感受性調査を2007年9月から2008年8月の間に, 全国規模で実施した。

対象と方法: 別報の起炎菌・推定起炎菌判定基準により選定した起炎菌について, 現在日本で使用されている主要抗菌点眼薬(6系統10種類)について最小発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration)を測定して, 薬剤感受性の現状分析を行った。

結果: 起炎菌全281株全体としてセフメノキシム(CMX)が最も高度感受性で, 次いでフルオロキノロン系薬剤であった。さらに, 各主要菌種別に同様の感受性分析を行った。ブドウ球菌属, レンサ球菌属には概ねフ

ルオロキノロン系薬剤が高度感受性で, インフルエンザ菌にはフルオロキノロン系が例外なく高度感受性であった。コリネバクテリウムにはCMXが, アクネ菌にはエリスロマイシンがそれぞれ高度感受性であった。

結論: 前眼部・外眼部感染症起炎菌に対してCMX, フルオロキノロン系薬剤は全般的に良好な感受性を有している。(日眼会誌115:814-824, 2011)

キーワード: 前眼部・外眼部感染症, 抗菌薬, 薬剤感受性, 最小発育阻止濃度(MIC), フルオロキノロン系薬剤

## Drug Sensitivity of Causative Agents in Ocular Infection of External Adnexa and Anterior Segments

## —Multicenter Study of Causative Agents and Drug Sensitivity of Ocular Infection by the Japanese Association for Ocular Infection Part II

Hiroshi Hatano<sup>1)</sup>, Yoshitsugu Inoue<sup>2)</sup>, Yuichi Ohashi<sup>3)</sup>, Yoshikazu Shimomura<sup>4)</sup>, Masako Sakamoto<sup>5)</sup>  
and Yutaka Okamoto<sup>5)</sup>; Drug Sensitivity for Ocular Infection Study Group

<sup>1)</sup>Hatano Eye Clinic

<sup>2)</sup>Division of Ophthalmology and Visual Science, Faculty of Medicine, Tottori University

<sup>3)</sup>Department of Ophthalmology, Ehime University School of Medicine

<sup>4)</sup>Department of Ophthalmology, Kinki University Faculty of Medicine

<sup>5)</sup>Laboratory Diagnostic Service Section, The Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University

## Abstract

**Purpose:** To report the drug sensitivity of causative agents produced by ocular infection of external adnexa and anterior segments investigated by the nationwide survey conducted by Japanese Association for Ocular Infection between September, 2007 and August, 2008.

**Subjects and Methods:** Among all strains isolated, causative and presumed causative agents were selected according to the criteria described, and drug sensitivity tests were conducted by minimum inhibitory concentrations (MIC) with 10 kinds of antimicrobial agents including 5 fluoroquinolones.

**Results:** Among 281 causative isolates, cefmenoxime (CMX) showed the highest sensitivity, followed by fluoroquinolones. Staphylococci and Streptococci

were more sensitive to fluoroquinolones when compared to the others. *Haemophilus influenzae* was very sensitive to all fluoroquinolones. *Corynebacterium* spp. and *Propionibacterium acnes* were most sensitive to CMX and erythromycin respectively.

**Conclusion:** CMX and fluoroquinolones showed generally good sensitivity among causative pathogens of ocular infection.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 115: 814-824, 2011)

**Key words:** External eye infections, Antimicrobial agents, Drug sensitivity, Minimum inhibitory concentration (MIC), Fluoroquinolones

別刷請求先: 251-0052 藤沢市藤沢 438-1 JR 藤沢駅ビル・ルミネ7F ルミネはたの眼科 秦野 寛

(平成22年10月7日受付, 平成23年3月15日改訂受理) E-mail: hrsh@ha-ta-no.jp

Reprint requests to: Hiroshi Hatano, M.D. Hatano Eye Clinic, 438-1 Fujisawa, Fujisawa-shi, Kanagawa-ken 251-0052, Japan

(Received October 7, 2010 and accepted in revised form March 15, 2011)

## I 緒 言

近年、強い抗菌力と広い抗菌スペクトルを持つ抗菌薬が開発されてきた一方で、こうした抗菌薬に対する耐性菌の増加が報告されている。1961年に英国で初報告後、日本では1980年代に初めて報告されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)<sup>1)</sup>に対してバンコマイシン(VCM)が広く使用されているが、最近ではVCM耐性のvancomycin-resistant *S. aureus*(VISA)の出現も報告されている。さらに肺炎球菌<sup>2)</sup>やインフルエンザ菌<sup>3)</sup>などの新たな耐性菌の出現も報告されており、これらによる感染症の難治化が懸念されていることは周知の事実である。眼科領域でもMRSAなどの耐性菌による結膜炎<sup>4)</sup>をはじめとして、涙嚢炎、角膜炎、眼内炎<sup>5)</sup>などが報告されている。

耐性菌感染症をコントロールするには薬剤感受性の最新情報が不可欠である。そのためには定期的な眼疾患別の起炎菌とその薬剤感受性の把握を行い、抗菌薬の適正使用を図る必要がある。

我々は現在我が国で主に商品として入手できる抗菌点眼薬の適正使用の指標を得るため、全国多施設研究を実施した。分離検出された菌についてその感受性をみるのが一般的に行われているが、本来臨床的に重要なのは、検出菌ではなく、起炎菌である。そこで今回は前眼部・外眼部感染症からの検出菌を分析し、起炎菌判定基準を用いて判定した起炎菌株について薬剤感受性を検討したので報告する。なお、起炎菌判定については本研究第一報にて詳細に記述されている。

## II 実験方法

対象は、全国18の試験参加施設において、2007年9月22日から2008年8月25日の間に、前眼部・外眼部感染症疑いで受診した患者(抗菌薬の投与症例を含む)である。症例は478例(男性191人、女性287人)、平均年齢は59歳(0歳~97歳)である。疾患別では結膜炎306例、角膜炎86例、麦粒腫・化膿性霰粒腫(眼瞼炎を含む)41例、涙嚢炎(涙小管炎を含む)43例であった。2例は後眼部の感染であったため対象から除外した。分離された株は全部で909株あったが、真菌を除いた890株の細菌について検討した。

対象患者に本調査の説明のうえ、文書同意を取得した後、対象患者の感染部位から、綿棒による擦過により2種類の検体を採取した。1種類は塗抹検鏡用にリング付きスライドガラスに塗抹し、メチルアルコールで固定した。また、もう1種類は分離培養のため、輸送用培地(ANAポート微研<sup>®</sup>)に検体を保管し、輸送や保存期間の影響を受けないようにするために凍結保存した。2種類の検体を一般財団法人阪大微生物病研究会へ輸送し、検鏡ならびに好気性・嫌気性培養を実施し、菌の分離・

同定を行った。なお、本研究については参加施設を一括して中央倫理審査を行った。

外眼部感染症の起炎菌判定基準を設け、起炎菌と判定された対象菌に対しモキシフロキサシン(MFLX)、ガチフロキサシン(GFLX)、トスフロキサシン(TFLX)、レボフロキサシン(LVFX)、ノルフロキサシン(NFLX)、ミクロノマイシン硫酸塩(MCR)、セフメノキシム硫酸塩(CMX)、エリスロマイシン(EM)、クロラムフェニコール(CP)、バンコマイシン(VCM)の10剤の最小発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration: MIC)を測定した。

MIC測定の際の菌液調製は、非選択寒天培地に被検菌株を一夜培養し、滅菌生理食塩水でMcFarland 1に懸濁して行った。さらに、滅菌生理食塩水で10倍希釈し、接種用菌液とした。測定は微量液体希釈法で行った。薬剤含有Muller Hinton培地の入った96穴プレートの各ウエルに接種用菌液0.0025 ml接種し、これにより最終接種菌量は $5 \times 10^4$  cfu(colony forming unit)/ウエルになった。プレートは $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 、16~24時間培養したが、培地、培養条件は菌種により異なった。判定は、薬剤を含まない対照ウエルの菌発育を確認したうえで、菌の発育を認めない最小濃度のウエルの薬剤濃度をMICと判定した。

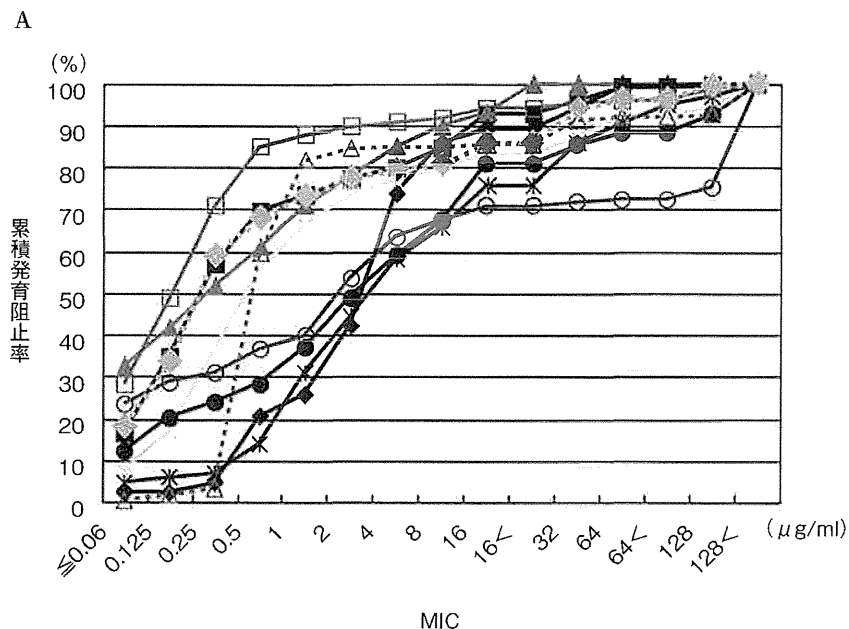
MICの結果は累積発育阻止率曲線としてまとめ、MIC<sub>80</sub>、MIC<sub>90</sub>を求めて、薬剤間の差異を検討した。

## III 結 果

今回対象となった476例の前眼部・外眼部感染症症例から890株の菌が分離(増菌培養も含む)された。これらの分離菌に対し、第一報にて記述されたごとく、前眼部・外眼部感染症の起炎菌判定基準を設け、起炎菌ならびに推定起炎菌を判定した。全分離株890株中、起炎菌と判定された菌が167株(18.8%)、推定起炎菌と判定された菌が134株(15.1%)であった。詳しい菌種については第一報にて報告している。これら301株のうち、発育不良などにより感受性検査が適切に行えない菌を除いた281株について感受性検査を行った。

次に、今回分離された起炎菌について、薬剤感受性の結果を示す。図1~8に累積発育阻止率とMIC range、MIC<sub>80</sub>、MIC<sub>90</sub>を示しているが、本文ではすべての薬剤感受性比較はMIC<sub>90</sub>を基準に記載する。まずはじめに、起炎菌ならびに推定起炎菌と判定された全菌株(合計281株)に対する累積発育阻止率とMICを図1に示す。全菌株に対する薬剤感受性を比べるとMIC<sub>90</sub>値はCMXが4  $\mu\text{g/ml}$ で最も低く、次いでTFLXの8、GFLXの16、MFLX、VCM、CPの32  $\mu\text{g/ml}$ の順で感受性が高い結果であった。

次に、主要な菌種別についてみる。黄色ブドウ球菌のうち、methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*(MSSA)



## B

	Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
MFLX	≤0.06~128	8	32
GFLX	≤0.06~128<	4	16
TFLX	≤0.06~16<	4	8
LVFX	≤0.06~128<	16	64
NFLX	≤0.06~128<	32	64
MCR	≤0.06~128<	16	128
CMX	≤0.06~128<	0.5	4
EM	≤0.06~128<	128<	128<
CP	≤0.06~128	8	32
VCM	≤0.06~128<	1	32

図 1 起炎菌 281 菌株に対する累積発育阻止率曲線(A)と MIC(B).

◆◆◆: MFLX(モキシフロキサシン), ■■■: GFLX(ガチフロキサシン), ▲▲▲: TFLX(トスフロキサシン), ○○○: LVFX(レボフロキサシン), \*-\*: NFLX(ノルフロキサシン), ●●●: MCR(マイクロノマイシン硫酸塩), □□□: CMX(セフメノキシム塩酸塩), ○○○: EM(エリスロマイシン), ◆◆◆: CP(クロラムフェニコール), ▲▲▲: VCM(バンコマイシン).

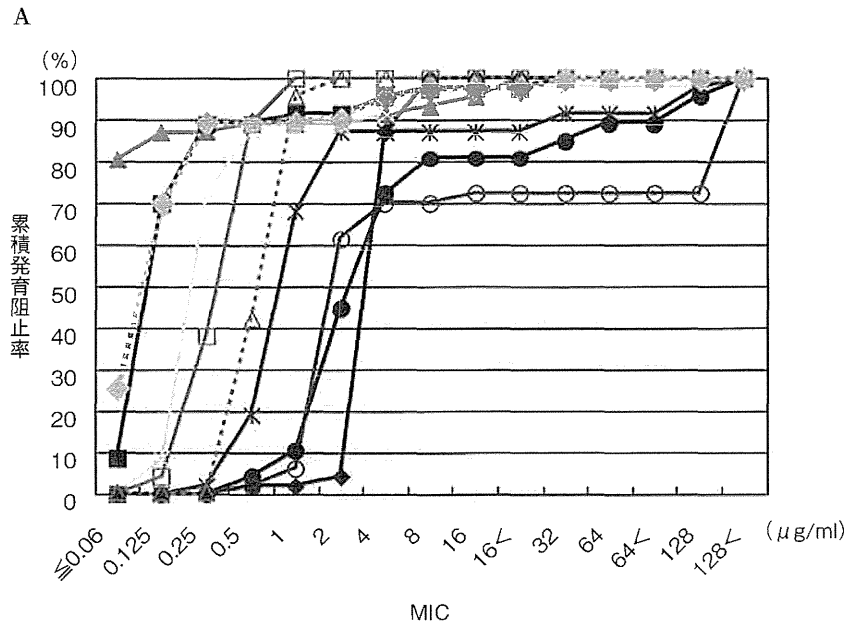
MIC: minimum inhibitory concentration.

47 株(図 2)の MIC<sub>90</sub>は CMX, VCM, GFLX が 1 µg/ml, 次いで MFLX が 2, TFLX, LVFX が 4 µg/ml の順で感受性が高い結果であった。一方, MRSA 12 株(図 3)に対しては, フルオロキノロン系を含めて多くの薬剤の累積発育阻止率曲線が右側にシフトしており, 耐性傾向を認める中, MIC<sub>90</sub>は VCM; 2, 次いで CP; 8 µg/ml で, 他剤に比べ低い MIC 値であった。肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae*) 7 株(図 4)においては TFLX が 0.25 µg/ml で最も低く, 次いで CMX, VCM, MFLX, GFLX が 0.5 µg/ml であった。インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*) 14 株(図 5)では MFLX, GFLX, TFLX, LVFX のフルオロキノロン系の薬剤が 0.06 µg/ml 以下ときわめて低い MIC 値を示し, 対照的に

MRSA に有用な VCM はこのインフルエンザ菌では 32 µg/ml と高い MIC 値を示した。

次に, 特定菌ではなく, 一般に常在菌と称される菌種についての結果をみる。まず, 今回最も多く起炎菌と判定されたコリネバクテリウム属(*Corynebacterium spp.*) 87 株(図 6)では, CMX; 0.25, VCM; 1 µg/ml, 次いで, TFLX; 16, MFLX, GFLX; 32 µg/ml の順であった。MCR は MIC<sub>90</sub> 128 µg/ml であったが, 累積発育阻止率のカーブは左方に位置しており, MIC<sub>50</sub>は 1 µg/ml と 3 番目に低い値を示しており, 多くの株は感受性を示すと考えられた。アクネ菌(*Propionibacterium acnes*) 35 株(図 7)では MIC<sub>90</sub>は EM; 0.125 µg/ml が最も低く, 次いで CMX; 0.25 µg/ml, 次いで VCM, MFLX,





B

	Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
MFLX	≤0.06~32	0.25	2
GFLX	≤0.06~32	0.25	1
TFLX	≤0.06~16<	≤0.06	4
LVFX	0.125~128<	0.5	4
NFLX	0.25~128<	2	32
MCR	0.5~128<	8	128
CMX	0.125~1	0.5	1
EM	0.5~128<	128<	128<
CP	0.5~8	4	8
VCM	0.5~2	1	1

図 2 Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) 47 株に対する累積発育阻止率曲線(A)と MIC (B).

◆◆◆: MFLX(モキシフロキサシン), ■: GFLX(ガチフロキサシン), ▲: TFLX(トスフロキサシン), ◆◆: LVFX(レボフロキサシン), \*◆: NFLX(ノルフロキサシン), ●: MCR(マイクロノマイシン硫酸塩), □: CMX(セフメノキシム塩酸塩), ○: EM(エリスロマイシン), ◆: CP(クロラムフェニコール), ◆◆: VCM(バンコマイシン).

MIC: minimum inhibitory concentration.

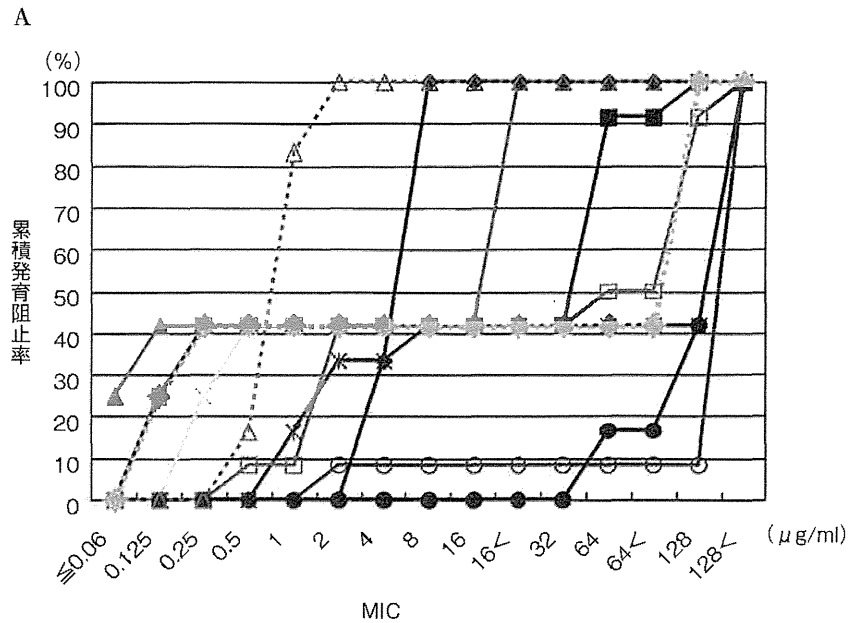
GFLX, LVFX; 0.5 μg/mlであった。また、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 9 株 (図 8) では MFLX, GFLX が 4 μg/ml で MIC<sub>90</sub>値が最も低く、次いで LVFX; 8, CMX, TFLX; 16 μg/mlであった。

#### IV 考 按

感染症への対応では効率的な治療と耐性菌の発生抑制の両面が重要である。そのための基礎資料として、病巣からの分離検出菌の中から真の起炎菌を適切に判定し、抗菌薬の適正使用を目指す必要がある。近年、感染症の対応にあたっては薬剤の有効性と安全性の両面を基礎とした最終的な有用性を評価するために、PK/PD(phar-

macokinetics/pharmacodynamics)を考慮することが重要とされている<sup>6)</sup>。医療現場でも「抗菌薬 PK/PD チェックシート」を用い、処方内容・起炎菌・MIC などを確認して処方提案などを行う取り組みが行われており、処方内容の変化や多剤耐性緑膿菌の検出頻度の減少などが報告されている<sup>7)</sup>。

今回の調査での主な検出菌は、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、肺炎球菌、アクネ菌、コリネバクテリウム、インフルエンザ菌などであった。関連文献として、前眼部・外眼部感染症から分離された検出菌の他の報告をみても、坂本ら<sup>8)</sup>は結膜炎を主とした 1,378 症例を対象とした細菌培養結果について報告している。その全



B

	Range	MIC <sub>20</sub>	MIC <sub>90</sub>
MFLX	0.125~128	128	128
GFLX	0.125~128	64	64
TFLX	≦0.06~16<	16<	16<
LVFX	0.125~128	128<	128<
NFLX	1~128<	128<	128<
MCR	64~128<	128<	128<
CMX	0.5~128<	128	128
EM	2~128<	128<	128<
CP	4~8	8	8
VCM	0.5~2	1	2

図 3 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 12 株に対する累積発育阻止率曲線(A)と MIC(B).

◆◆◆: MFLX(モキシフロキサシン), ■■■: GFLX(ガチフロキサシン), ▲▲▲: TFLX(トスフロキサシン), ○○○: LVFX(レボフロキサシン), \*:\*:\*: NFLX(ノルフロキサシン), ●●●: MCR(ミクロノマイシン硫酸塩), □□□: CMX(セフメノキシム塩酸塩), ○○○: EM(エリスロマイシン), ◆◆◆: CP(クロラムフェニコール), ▲▲▲: VCM(バンコマイシン).

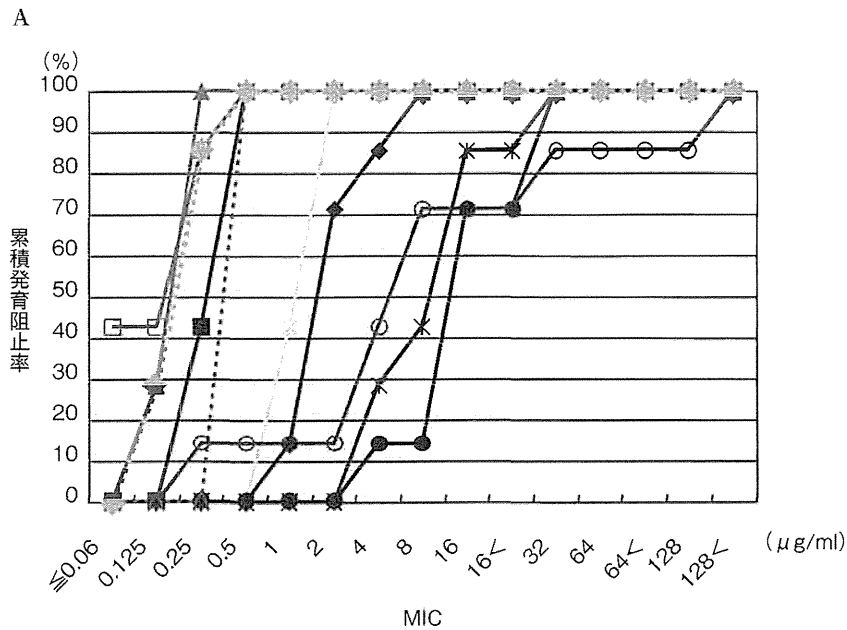
MIC: minimum inhibitory concentration.

検出菌中、最多は表皮ブドウ球菌、次いで黄色ブドウ球菌、アクネ菌であった。MRSA は全検出菌の 1.4% であり、その他グラム陽性球菌は肺炎球菌、グラム陽性桿菌はコリネバクテリウムが検出された。これら検出菌はあくまで分離されたものであり、今回の我々の調査研究のように一定の判定基準によった起炎菌か否かの検証はなされていない。改めて、今回の研究の意義は、単なる検出菌ではなく、あくまでも起炎菌として判定された細菌種の薬剤感受性傾向をみた点である。

今回の調査で起炎菌と判定された全菌株に対する薬剤感受性は、検査に用いた点眼剤として利用しうる抗菌薬のうちで CMX, VCM, 各種キノロン系抗菌薬の感

受性が全般に高い傾向がみられた(図 1)。他方、古典的なマクロライド系の EM, アミノ配糖体系の MCR, また CP などには低い感受性が観察された。ただしこの傾向は菌種間で株数が大幅に異なった状況での累積成績なので、それなりの見方が必要である。以下に、改めて各菌種について各系統薬剤の感受性を検討してみたい。

まず、MSSA (47 株) ではフルオロキノロン系薬剤群と CMX, VCM が高い感受性を示した(図 2)。黄色ブドウ球菌は外眼部感染症の主要起炎菌であり CMX は従来から第 1 選択治療薬として使用されることの多いセフェム系抗菌薬の一つである。今回、MSSA に対する MIC<sub>90</sub> では CMX, VCM, GFLX が 1 µg/ml と最も良好であるが、



B

	Range	MIC <sub>80</sub>	MIC <sub>90</sub>
MFLX	0.125~0.5	0.25	0.5
GFLX	0.125~0.5	0.5	0.5
TFLX	0.125~0.25	0.25	0.25
LVFX	1~2	2	2
NFLX	4~32	16	32
MCR	4~32	32	32
CMX	≤0.06~0.5	0.25	0.5
EM	0.25~128<	32	128<
CP	1~8	4	8
VCM	0.5	0.5	0.5

図 4 *Streptococcus pneumoniae* 7 株に対する累積発育阻止率曲線(A)と MIC(B).

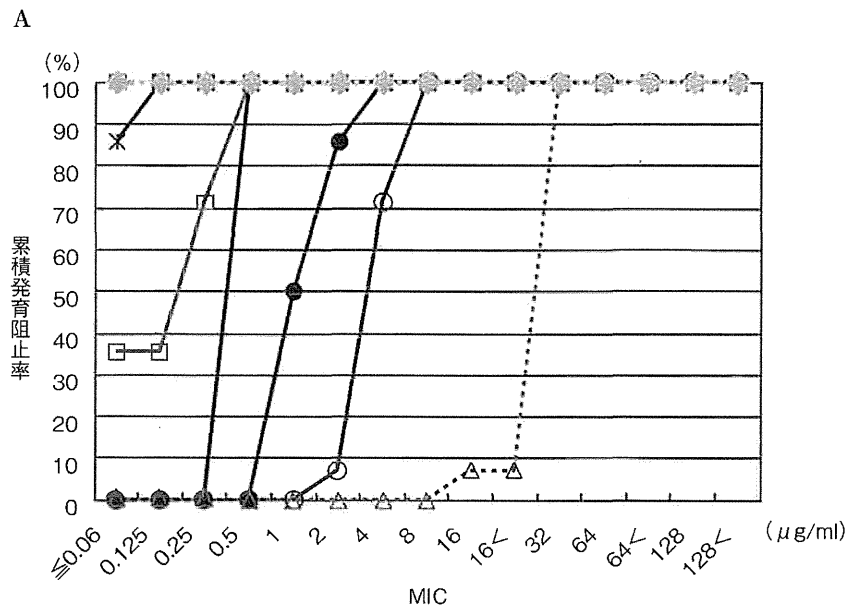
◆◆: MFLX(モキシフロキサシン), ■: GFLX(ガチフロキサシン), ▲: TFLX(トスフロキサシン), ✕: LVFX(レボフロキサシン), ✖: NFLX(ノルフロキサシン), ●: MCR(マイクロノマイシン硫酸塩), □: CMX(セフメノキシム塩酸塩), ○: EM(エリスロマイシン), ◆: CP(クロラムフェニコール), ▲: VCM(バンコマイシン).

MIC: minimum inhibitory concentration.

MIC<sub>80</sub>では TFLX 0.06 以下, MFLX, GFLX が 0.25 μg/ml の順となっている。フルオロキノロン系薬剤は優れた抗菌作用をもつ抗菌薬として汎用されているが、残念ながらブドウ球菌に対する耐性率は増加している。今回の結果では MIC<sub>90</sub>が NFLX の 32, LVFX の 4 μg/ml, MIC<sub>80</sub>が NFLX の 2, LVFX の 0.5 μg/ml と程度の差はあるが MSSA においてさえ耐性傾向が指摘できる。この 2 剤以外のフルオロキノロン系薬剤も今後の耐性化に注意は必要で、万全の薬剤でないことを念頭におく必要がある<sup>9)</sup>。

ここで MRSA の結果について考察したい。MRSA 12 株(図 3)に対しては、フルオロキノロン系薬剤を含めて多くの薬剤の累積発育阻止率曲線が右側にシフトして抵

抗性を認める中、MIC<sub>90</sub>は VCM が 2 μg/ml、次いで CP が 8 μg/ml で、他剤に比べ高い感受性を認めた。MRSA 眼感染症が報告され始めた 1989 年頃は前眼部・外眼部感染症の報告が多く、フルオロキノロン系薬剤の局所療法で治癒する例が多かった。しかし、最近では白内障術後眼内炎<sup>5)</sup>などの重篤例も報告されており、その耐性傾向は問題である。米国で眼内炎から分離された MSSA と MRSA について薬剤感受性を比べた成績<sup>10)</sup>では、ともに全株が VCM に感受性であった。MSSA では検査薬はすべて感受性であったが、MRSA では第 4 世代フルオロキノロン系薬剤である MFLX, GFLX とともに 38% 耐性であったと報告されている。MRSA に対するフルオロキノロン系薬剤の効果には限界があるとの認識



## B

	Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
MFLX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
GFLX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
TFLX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
LVFX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
NFLX	$\leq 0.06 \sim 0.125$	$\leq 0.06$	0.125
MCR	1~4	2	4
CMX	$\leq 0.06 \sim 0.5$	0.5	0.5
EM	2~8	8	8
CP	0.5	0.5	0.5
VCM	16~32	32	32

図5 *Haemophilus influenzae* 14株に対する累積発育阻止率曲線(A)とMIC(B).

◆◆◆: MFLX(モキシフロキサシン), ■: GFLX(ガチフロキサシン), ▲: TFLX(トスフロキサシン), ○: LVFX(レボフロキサシン), \* : NFLX(ノルフロキサシン), ●: MCR(ミクロノマイシン硫酸塩), □: CMX(セフメノキシム塩酸塩), ⊖: EM(エリスロマイシン), ◆: CP(クロラムフェニコール), ▲: VCM(バンコマイシン).

MIC: minimum inhibitory concentration.

は必要である。最近、特効薬であるVCMの眼軟膏が製剤化されたが、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)も既に報告されており、その使用は慎重に考慮される必要があると考えられる。表皮ブドウ球菌(9株)ではフルオロキノロン系薬剤がMIC<sub>90</sub> 4~16 μg/mlと、薬剤間に感受性の幅がみられるものの、他の薬剤に比べれば全般に高い感受性を示したといえる。一方、1株ではあるがVCMで32 μg/mlを示したものがあり(図8)、病原性の低い表皮ブドウ球菌とはいえ、今後このような菌が増加してくる可能性もあり、この点からもVCMの眼軟膏の濫用は慎むべきであると考えられる。

肺炎球菌に対する感受性の報告では、MFLXのMIC<sub>90</sub>が0.25 μg/mlで、CMXの0.5 μg/mlとほぼ同等の活

性を示すことが示されている<sup>11)</sup>。今回の調査でも、肺炎球菌(7株)に対してフルオロキノロン系薬剤ならびにCMX、VCMが高い感受性を示しており(図4)、ほぼ同様のMIC<sub>90</sub>が得られた。フルオロキノロン系薬剤の中でみると、いわゆる第4世代フルオロキノロン系薬剤であるMFLXとGFLXはdual inhibitionから耐性化しにくいという利点があると考えられる。米国の報告<sup>12)</sup>では肺炎球菌(1,276株)の64%がペニシリン(PC)にsensitive、17% intermediate、19% resistantであり、約20%がPRSP(penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*)である。PC耐性株はセファロsporin系、マクロライド系、クリンダマイシン(CLDM)、テトラサイクリン(TC)、スルファメトキサゾール・トリメトプリムにも耐性傾向で