

ムコイド型肺炎球菌による侵襲性肺炎球菌感染症7症例の検討

¹⁾手稲溪仁会病院総合内科・感染症科, ²⁾市立札幌病院感染症科高松 茜¹⁾ 松坂 俊¹⁾ 児玉 文宏²⁾

(平成28年9月23日受付)

(平成28年11月10日受理)

Key words: mucoid, invasive pneumococcal disease

要 旨

侵襲性肺炎球菌感染症(以下IPD)は, 抗菌薬が発達した現在でも重篤な後遺症を残し, 致命的となる。また, 肺炎球菌は, コロニー形態の違いによりムコイド型と非ムコイド型に分類され, 一般的にムコイド型は病原性が高いと言われている。しかし, 臨床的意義に関する検討はほとんどされていない。本ケースシリーズ研究では地域医療支援病院における2009年から2015年までに髄液または血液からムコイド型肺炎球菌が検出された成人症例の臨床的また微生物学的特徴を検討した。該当症例は7例(男性6例, 女性1例), 年齢層は62歳から80歳であり1例を除き日常生活動作の自立した患者であった。2例は基礎疾患に悪性腫瘍, 糖尿病があったが, その他の症例は免疫能低下をきたす基礎疾患はなかった。いずれの症例も肺炎球菌ワクチンの接種歴はなかった。全ての症例において血液培養からムコイド型肺炎球菌が検出された。肺炎が6例と乳突峰巣炎, 髄膜炎, 人工関節感染の合併が1例であった。全ての菌株はβ-ラクタム系抗菌薬に感受性があり, 耐性薬剤は多くなかったが, 適切な抗菌薬治療にも関わらず4症例で人工呼吸器管理及び昇圧剤を必要とした。2例が入院中に死亡し, 1例が聴力障害の後遺症を残し, 重症例の比率が高かった。荚膜膨化法と遺伝子解析は1株のみで施行したが, 一般的にムコイド型肺炎球菌に多いとされている血清型3型(*pbp2x*変異, *ermB*遺伝子保有)であった。ムコイド型肺炎球菌によるIPDは重症化しやすく, 適切な抗菌薬治療を行っても予後不良になりやすいことを認識する必要がある。ムコイド型は肺炎球菌ワクチンに含まれる血清型3型が多く, 予防接種の普及が重要であると考えられた。

〔感染症誌 91:127~131, 2017〕

序 文

侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)は, 髄液または血液から *Streptococcus pneumoniae* が検出された感染症を指し, 成人では死亡率が24%と高値である¹⁾。肺炎球菌はコロニーの発育形態によってムコイド型と非ムコイド型に分類され²⁾, 一般的にムコイド型を有する細菌は荚膜が厚く, 白血球に貪食されにくいいため病原性が高いことが知られている³⁾。先行研究において, *Pseudomonas aeruginosa* や *Klebsiella pneumoniae* のムコイド型は薬剤感受性が良好にも関わらず病原性が高いことが示されているが^{4)~6)}, ムコイド型肺炎球菌については, 本邦では耳鼻咽喉科領域や成人の市中肺炎におい

て少数報告はあるものの⁷⁾⁸⁾, IPDに対する検討はわれわれが知り得る範囲では国内外を問わず報告がない。

今回われわれは, 自施設でムコイド型のIPDと診断された成人症例を対象に, 患者背景, 臨床経過, 薬剤感受性の検討を行った。

対象と方法

1. 対象

手稲溪仁会病院は, 札幌市北西部に位置し, 約200万人を対象人口とし病床数656床を有する地域医療支援病院である。2009年から2015年における年間平均入院数は16,521人, また年間血液培養セット数は約7,500セットで, 1,000 patient-daysあたりの採取セット数は39である。2009年4月から2015年10月までに血液もしくは髄液からムコイド型の *S. pneumoniae* が分離された成人の症例を対象として, 臨床的特徴と

別刷請求先: (〒006-8555) 北海道札幌市手稲区前田1条
12-1-40
手稲溪仁会病院医局 高松 茜

Table 1 Clinical characteristics and laboratory data for 7 patients with the IPD with the mucoid phenotype

Case No.	Age (years)	Sex	Diagnosis	Underlying diseases	ADL	Vaccine status	WBC (μL)	CRP (mg/dL)	Antibiotics	Hospitalization (days)	Outcome
1	62	M	Pneumonia	AF HTN	Independent	None	2,900	44.7	CTR	1	Died
2	70	M	Pneumonia	None	Independent	None	840	41.3	CTR → PCG → ABPC/SBT	12	Died
3	68	M	Pneumonia	Parkinson's disease	Partly dependent	None	520	21.7	ABPC/SBT → PIPC/TAZ → AMPC/CVA	21	Cured
4	77	M	Pneumonia	IP SLE DM Lung cancer Colon cancer	Independent	None	11,110	1.5	PIPC + AZM → MCFG + VCM + PIPC/TAZ	61	Cured
5	74	M	Pneumonia	Lung cancer DM	Independent	None	14,060	9.9	CTR → MEPM	22	Cured
6	66	M	Pneumonia	None	Independent	None	3,550	49.5	CTR → CPF → ABPC → AMPC	28	Cured
7	80	F	Meningitis Mastoiditis PJI	HTN THA	Independent	None	28,090	30.5	CTR	56	hypacusis

IPD, invasive pneumococcal disease; ADL, activities of daily living; PJI, prosthetic joint infection; AF, atrial fibrillation; HTN, hypertension; IP, interstitial pneumonia; SLE, systemic lupus erythematosus; DM, diabetes mellitus; THA, total hip arthroplasty; CTR, ceftriaxone; PCG, penicillin G; ABPC/SBT, ampicillin/sulbactam; PIPC/TAZ, piperacillin/tazobactam; AMPC/CVA, amoxicillin/clavulanate; PIPC, piperacillin; AZM, azithromycin; MCFG, micafungin; VCM, vancomycin; MEPM, meropenem; CPF, ciprofloxacin; ABPC, ampicillin; AMPC, amoxicillin

微生物学的データを診療録から収集し後方視的に検討した。また、今回の検討は手稲溪仁会病院倫理委員会の承認を得て個人情報保護に配慮しつつ分析を行った。

2. 分離培養, 同定方法

血液培養は、Bact/ALERT 3D (bioMérieux, 東京) を使用し、7日間培養を行った。培養陽性時はまずグラム染色を行い、グラム陽性双球菌と確認した場合は、TSA II 5% ヒツジ血液寒天培地 (BD, 東京) に塗布し、35°C、炭酸ガス培養器で24時間サブカルチャーを行った。Vitek2 (bioMérieux, 東京) で菌種の同定を行い、分離された時期の米国臨床検査標準協会 (CLSI) に準拠して、MICroSTREPplus Panel (BD, 東京) を使用し薬剤感受性試験検査を行った。髄液培養も同様にグラム染色と直接血液寒天培地に塗布し同定と薬剤感受性試験を行った。血液寒天培地上で中心窩を欠き粘性の大きなコロニーを形成し、グラム染色上で莢膜部分が赤く染色される株をムコイド型と定義し²⁾、2名の微生物検査技師が判定した。1株のみ莢膜膨化法と real-time PCR を行った。

成 績

1. 疫学

研究期間に56症例が血液もしくは髄液から *S. pneumoniae* が検出され、そのうちムコイド型は7症例であり、その臨床的特徴を Table 1 に示した。年齢は62歳から80歳 (中央値: 70歳) まで分布し、男性6例、女性1例と男性が多かった。6例は日常生活動作 (ADL) の自立した患者であった。5例に基礎疾患があり、そのうち2例に悪性腫瘍と糖尿病を認めた。

全症例にて肺炎球菌ワクチンの接種歴はなかった。

2. 臨床症状

6例が呼吸器症状を主訴に救急外来を受診し入院24時間以内に血液培養が採取された、うち3例 (Case 2~4) に入院時37.5°C以上の発熱を認めた。1例 (Case 5) が入院化学療法中に発熱があり血液培養が採取された。肺炎が6例、乳突蜂巣炎、髄膜炎、人工関節感染の合併が1例であった。

3. 血液検査所見

血液培養採取時の血液検査では、WBCの中央値は3,550/ μL (範囲: 520~28,090/ μL)、CRPの中央値は30.5mg/dL (範囲: 1.5~49.5mg/dL) であった。

4. 微生物学的特徴

全例血液培養からの分離であった。薬剤感受性試験の結果を Table 2 に示した。全ての菌株は penicillin G を含む β -ラクタム系抗菌薬に感受性があったが、erythromycin (EM), clarithromycin (CAM), clindamycin (CLDM), chloramphenicol (CP) に対しては6株が耐性であった。1株 (Case 7) のみ莢膜膨化法と遺伝子解析を行い、血清型3型 (*pbp2x* 変異, *ermB* 遺伝子保有) との結果であった。

5. 治療と予後

全例で血液培養採取後から感受性のある β -ラクタム系抗菌薬による治療を行った。4例 (Case 1~3, 7) で人工呼吸器管理と昇圧剤を必要とした。2例が入院中にIPDで死亡し、そのうち1例は入院24時間以内であった。1例が聴力障害の後遺症を残し、4例が軽快した。生存例の5例の入院期間は3週間以上 (範囲:

Table 2 Antimicrobial susceptibility testing results for the mucoid phenotype of *S. pneumoniae*

Case No.	MIC ($\mu\text{g/mL}$)											
	PCG	CTX	MEPM	EM	CAM	CLDM	TC	CP	VCM	RFP	LVFX	ST
1	≤ 0.03	0.25	≤ 0.13	≥ 2	≥ 2	≥ 2	≤ 0.5	16	0.5	≤ 1	1	≤ 0.95
2	≤ 0.03	0.25	≤ 0.13	≥ 2	≥ 2	≥ 2	≤ 0.5	16	0.5	≤ 1	0.5	≤ 0.95
3	≤ 0.03	0.25	≤ 0.13	≥ 4	≥ 4	≥ 2	≥ 8	16	0.5	≤ 1	1	≤ 0.95
4	0.06	0.5	≤ 0.13	≥ 2	≥ 2	≥ 2	≥ 8	16	0.5	≤ 1	1	≤ 0.95
5	≤ 0.03	0.25	≤ 0.13	≥ 4	1	≥ 2	≥ 8	16	0.5	≤ 1	1	≤ 0.95
6	≤ 0.03	≤ 0.06	≤ 0.13	≤ 0.13	≤ 0.13	≤ 0.13	≥ 8	≤ 4	0.5	≤ 1	1	≤ 0.95
7	≤ 0.03	0.25	≤ 0.13	> 2	NA	> 1	NA	16	0.25	≤ 1	1	≤ 10

PCG, penicillin G; CTX, cefotaxime; MEPM, meropenem; EM, erythromycin; CAM, clarithromycin; CLDM, clindamycin; TC, tetracycline; CP, chloramphenicol; VCM, vancomycin; RFP, rifampicin; LVFX, levofloxacin; ST, Trimethoprim/sulfamethoxazole; NA, not assessed

21~61日間)であり,うち2例は入院によるADLの低下があり,リハビリ転院をした。

考 察

本研究では,ムコイド型肺炎球菌によるIPDはADLの自立した免疫不全をきたす基礎疾患のない高齢者で発症しやすく,適切な治療を行っても重症化しやすいことが示唆された。

ムコイド型と非ムコイド型のコロニー形態の違いは,莢膜ポリサッカライドの厚さに関連し,前者では莢膜ポリサッカライドの産生量が多い⁹⁾。ムコイド型肺炎球菌は非ムコイド型と比較して乳幼児から高齢者までより幅広い年齢層で分離され,呼吸器検体以外にも耳漏や褥瘡など様々な部位から分離される¹⁰⁾。先行研究では無菌検体から検出された肺炎球菌のうち,ムコイド型は10%以下であったという報告や¹⁰⁾,成人肺炎球菌性市中肺炎の35%がムコイド型であったという報告もあり⁸⁾,決して稀ではない。本研究では,56症例中7例であり,ムコイド型は全体の12.5%と先行研究より若干割合が多かった。

IPDは,乳幼児や高齢者以外に,慢性腎臓病や慢性心不全,糖尿病,無脾症などの基礎疾患のある患者で罹患しやすいと言われている¹¹⁾。本研究ではそのような基礎疾患を持った症例は2例のみで,ほとんどの患者がADLの自立した高齢者であり,ムコイド型IPDは基礎疾患のない人でも発症の可能性があることが示唆された。

薬剤感受性試験について,ムコイド型は非ムコイド型と比較して β -ラクタム系抗菌薬に対する感受性がより保持される傾向にあることが報告されている⁷⁾⁸⁾¹⁰⁾。これはムコイド型の厚い莢膜が形質転換を起こしにくいことが一因と推察されている¹²⁾。一方,CPに対してはムコイド型の方が耐性を示しやすく,マクロライド系抗菌薬については両者とも高率で耐性となることが知られている¹⁰⁾。本研究でもマクロライド系抗菌薬とCPには6株耐性を示しており,その他の抗

菌薬に対して感受性は良好であった。

肺炎球菌の薬剤耐性は, β -ラクタム系抗菌薬の標的部分であるペニシリン結合蛋白 (penicillin binding protein : PBP) 遺伝子変異 (耐性遺伝子 : *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x*) による。また,マクロライド系抗菌薬の耐性化には,マクロライド耐性遺伝子 (*ermB*, *mefA/E*) が関与しており, *ermB* は EM, CAM, CLDM の3剤に耐性を示すといわれている¹³⁾。本邦の報告では,ムコイド型は,PBPに対する遺伝子変異のなかでもセフェム系抗菌薬に耐性を示す *pbp2x* 変異株とマクロライド高度耐性を示す *ermB* 遺伝子を保有している割合が高い¹⁴⁾。本研究では,1株のみ遺伝子解析を行い, *pbp2x* 変異と *ermB* 遺伝子を確認した。セフェム系抗菌薬やマクロライド系抗菌薬は外来での経口抗菌薬のみならず入院患者においても点滴抗菌薬として多用されているため,今後のムコイド型の抗菌薬に対する抗菌薬耐性化による治療失敗が懸念される。

肺炎球菌の莢膜は90以上の血清型に分類されるが,ヒトに病原性を示す血清型は20~30種類といわれている¹⁵⁾。そのうち主に3, 6C, 14, 19A型がIPDを起こすことが知られている¹⁶⁾。ムコイド型は,73%が3型であり¹⁷⁾,その他にも8, 37型がムコイド型を示す¹⁸⁾。一方で,3型の29%のみがムコイド型であったという報告もある¹⁷⁾。本研究では,1例のみに対し血清型を調べ,3型であった。3型は敗血症性ショックになりやすく,また死亡率も高いことが知られており¹⁹⁾,ムコイド型がIPDにおける予後予測因子になりうることを推測される。その他のIPDの重症度,予後予測因子には,白血球数が4,000/ μL 未満,80歳以上,肝疾患の既往等が知られているが³⁾。本研究では死亡症例の2例とも白血球減少を認めたが軽快症例でも低値の症例はあり,また死亡症例では免疫不全をきたす基礎疾患はなかった。全例で血液培養採取後から適切な抗菌薬は開始しており,その他の因子についても死亡例と生存例に大きな差はみられなかった。

今回の研究において、ムコイド型肺炎球菌による IPD は重症化しやすく、適切な抗菌薬治療を行っても予後不良となることが多いことが示唆された。乳児や高齢者での肺炎球菌ワクチンの普及により、莢膜血清型への関心が高まりつつあるが、臨床培養検体での血清型の判定は一部の施設でしか実施できない。一方で、死亡率が高く IPD の原因頻度が高い 3 型を示すことが多いムコイド型の判定は、細菌検査室のある一般病院であれば実施可能であり、予後予測因子としての有用性の検討が期待される。また、本研究ではいずれの症例も肺炎球菌ワクチンの接種歴がなかったが、3 型は 23 価肺炎球菌多糖体ワクチンおよび 13 価肺炎球菌結合型ワクチンのどちらにも含有されており、かつ後者には、非接種者への間接効果 (herd immunity) も期待されるため¹⁶⁾、免疫不全者や高齢者における両者の普及が望まれる。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- Hanada S, Iwata S, Kishi K, Morozumi M, Chiba N, Wajima T, *et al.* : Host factors and biomarkers associated with poor outcomes in adults with invasive pneumococcal disease. *PLoS ONE* 2016 ; 11 : e0147877.
- Spellerberg B, Brandt C : *Streptococcus*. In : Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, *et al.*, eds. *Manual of clinical microbiology*. American Society for Microbiology, Washington DC, 2015 ; p. 383—402.
- Kakuta R, Yano H, Hidaka H, Miyazaki H, Irimada M, Oda K, *et al.* : Severe acute otitis media caused by mucoid *Streptococcus pyogenes* in a previously healthy adult. *Tohoku J Exp Med* 2014 ; 232 : 301—4.
- Speert DP, Farmer SW, Campbell ME, Musser JM, Selander RK, Kuo S : Conversion of *Pseudomonas aeruginosa* to the phenotype characteristic of strains from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1990 ; 28 : 188—94.
- Fang CT, Lai SY, Yi WC, Hsueh PR, Liu KL, Chang SC : *Klebsiella pneumoniae* genotype K1 : an emerging pathogen that causes septic ocular or central nervous system complications from pyogenic liver abscess. *Clin Infect Dis* 2007 ; 45 : 284—93.
- Ciofu O, Fussing V, Bagge N, Koch C, Høiby N : Characterization of paired mucoid/non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Danish cystic fibrosis patients : antibiotic resistance, beta-lactamase activity and RiboPrinting. *J Antimicrob Chemother* 2001 ; 48 : 391—6.
- 末武光子, 入間田美保子, 高橋 辰, 沖津尚弘, 大山健二 : ムコーズス中耳炎の現況と問題点. *Otol Jpn* 2000 ; 10 : 89—94.
- 川崎 聡, 青木信樹, 田端 篤, 本間康夫 : ムコイド型, 非ムコイド型肺炎球菌性市中肺炎の比較. *日化療会誌* 2016 ; 64 : 280—5.
- Kim JO, Weiser JN : Association of intrastain phase variation in quantity of capsular polysaccharide and teichoic acid with the virulence of *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 1998 ; 177 : 368—77.
- Ogihara S, Saito R, Akikura T, Iwama A, Adachi Y, Kaji D, *et al.* : Characterization of mucoid and non-mucoid *Streptococcus pneumoniae* isolated from outpatients. *Ann Lab Med* 2015 ; 35 : 410—5.
- CDC : Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine for adults with immunocompromising conditions : recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012 ; 61 : 816—9.
- 紺野昌俊, 生方公子 : V. 肺炎球菌の血清型と病原性. ペニシリン耐性肺炎球菌. 協和企画, 東京, 1997 ; p. 55—68.
- 宮本仁志, 井上千春, 村上 忍, 村瀬光春 : 臨床材料より分離された *Streptococcus pneumoniae* の遺伝子解析と薬剤感受性. *日臨微誌* 2001 ; 11 : 90—7.
- 宮本仁志, 村瀬光春 : *Streptococcus pneumoniae* における耐性遺伝子の解析. *感染症誌* 2004 ; 78 : 508—13.
- Geno KA, Gilbert GL, Song JY, Skovsted IC, Klugman KP, Jones C, *et al.* : Pneumococcal capsules and their types : past, present, and future. *Clin Microbiol Rev* 2015 ; 28 : 871—99.
- Ubukata K, Chiba N, Hanada S, Morozumi M, Wajima T, Shouji M, *et al.* : Serotype changes and drug resistance in invasive pneumococcal diseases in adults after vaccinations in children, Japan, 2010-2013. *Emerging Infect Dis* 2015 ; 21 : 1956—65.
- Dunne EM, Montgomery J, Lupiwa T, Michael A, Lehmann D : *Streptococcus pneumoniae* serogroups and colony morphology : a look back. *P N G Med J* 2010 ; 53 : 166—8.
- Waite RD, Penfold DW, Struthers JK, Dowson CG : Spontaneous sequence duplications within capsule genes *cap8E* and *tts* control phase variation in *Streptococcus pneumoniae* serotypes 8 and 37. *Microbiology* 2003 ; 149 : 497—504.
- Ahl J, Littorin N, Forsgren A, Odenholt I, Resman F, Riesbeck K : High incidence of septic shock caused by *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 - a retrospective epidemiological study. *BMC Infect Dis* 2013 ; 13 : 492.

Clinical Characteristics of Invasive Pneumococcal Disease of the Mucoid Phenotype : A Case Series

Akane TAKAMATSU¹⁾, Suguru MATSUZAKA¹⁾ & Fumihiro KODAMA²⁾¹⁾Department of General Internal Medicine and Infectious Diseases, Teine Keijinkai Hospital,²⁾Department of Infectious Diseases, Sapporo City General Hospital

Streptococcus pneumoniae is a gram-positive coccus that causes invasive and non-invasive pneumococcal diseases. Invasive pneumococcal disease (IPD) is defined as an infection confirmed by the isolation of *S. pneumoniae* from a normally sterile site. IPD has a high mortality rate of around 20% in adults. Colonies of *S. pneumoniae* show various morphological features which include a mucoid appearance. The production of large amounts of capsular polysaccharide gives colonies of *S. pneumoniae* their mucoid appearance. This is thought to be a mechanism of microbial escape from phagocyte killing, leading to strong pathogenicity despite their high susceptibility to antibiotics. To our knowledge, the clinical characteristics of patients with mucoid IPD are unknown. We retrospectively analyzed the records of adult patients with IPD of the mucoid phenotype at Teine Keijinkai Hospital, Hokkaido, Japan, between 2009 and 2015.

Seven patients (six males) with age range between 62 and 80 years were diagnosed as having mucoid IPD during the study period. Two patients had a history of malignancy and diabetes mellitus respectively, and six patients were living independently. No patients were previously vaccinated with pneumococcal vaccine. Six patients had clinical manifestations of pneumonia : one patient had multiple concomitant complications of mastoiditis, meningitis, and prosthetic joint infection. All isolates were isolated from blood. All isolates were susceptible to beta-lactam antibiotics, while six isolates were resistant to macrolides and chloramphenicol. Based on the Quellung reaction and real-time polymerase chain reaction (PCR) results, one isolate of mucoid phenotype was confirmed as serotype 3 with the penicillin binding protein gene of *pbp2x* and the macrolide resistant gene of *ermB*. Although all patients received appropriate antibiotics based on susceptibility testing, four patients required mechanical ventilation and vasopressors. One patient had neurological sequelae (hypacusis) and two patients died during the course of hospitalization. This case series suggests that mucoid IPD can occur in immunocompetent hosts and can cause high mortality. Since most of the mucoid phenotype of *S. pneumoniae* are serotype 3, widespread use of pneumococcal vaccine is important to prevent morbidity and mortality associated with IPD.