

[原 著]

小児急性中耳炎より分離された肺炎球菌のワクチン導入後における血清型と薬剤感受性

高島且統¹⁾・真崎純子¹⁾・小澤大樹²⁾

¹⁾ 独立行政法人労働者健康安全機構東北労災病院中央検査部

²⁾ 東北大学耳鼻咽喉頭頸部外科

(令和2年9月1日受付, 令和2年10月14日受理)

肺炎球菌は急性中耳炎の代表的な原因菌である。本邦では2013年11月から13価結合型肺炎球菌ワクチン(PCV13)が導入されたが、PCV導入後にはPCVでカバーできない血清型の肺炎球菌が増加する菌交代現象が問題となっている。われわれは、PCV13導入後の菌交代現象を調査することを目的とし、2017年3月から2018年2月までに東北労災病院耳鼻咽喉科を受診し急性中耳炎と診断された小児の中耳貯留液検体を用い、培養検査により肺炎球菌と同定された44株の荚膜膨化反応による血清型の調査と薬剤感受性検査を実施した。44株中ペニシリン感受性肺炎球菌は38.6%、ペニシリン中等度耐性肺炎球菌は40.9%、ペニシリン耐性肺炎球菌は20.5%であった。最も多く検出された血清型は15A(15.9%)で、次いで23B(11.4%)であった。7価結合型肺炎球菌ワクチン(PCV7)でカバーされる血清型は0%で、PCV13でカバーされる血清型は9.1%であった。血清型15Aはすべての株がペニシリン非感受性株で、2歳未満で認められた。本研究で多く検出された血清型15A、23BはPCV13でカバーされておらず、菌交代現象が起きている可能性が示唆された。また、ペニシリン耐性率の高い血清型15Aが2歳未満で多く認められたことは、2歳未満で罹患しやすいとされる難治性急性中耳炎の病態の一因として留意しなければならないと考えられた。今後も血清型15Aの検出動向には注視する必要がある。

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, 小児急性中耳炎, PCV13, serotype, 血清型 15A

I. はじめに

Streptococcus pneumoniae (肺炎球菌)は小児感染症において肺炎や急性中耳炎の原因となる細菌で、髄膜炎や敗血症などの侵襲性肺炎球菌感染症(invasive pneumococcal diseases: IPD)を引き起こす細菌である。急性中耳炎は小児に多くみられる感染症であり、生後3歳までに約70%の小児が少なくとも1回は罹患するとされている¹⁾。1977年に世界で初めてペニシリン耐性肺炎球菌(penicillin-resistant *S. pneumoniae*: PRSP)が報告されたが²⁾、小児急性中耳炎においては、1990年代以降のPRSPの増加や、核家族化に伴う0歳児からの集団保育開始による原因菌の暴露機会の増大などを背景にした難治化が社会問題となっていた³⁾。

近年、結合型肺炎球菌ワクチン(pneumococcal conjugate vaccine: PCV)の普及が進み、肺炎球菌感染症の動向に変化が認められている。本邦では2010年に7価結合型肺炎球菌ワクチン(7-valent pneumococcal conjugate vaccine: PCV7)が任意接種ワクチンとして導入され、2013年4月からは定期接種となった。その後、2013年11月には13価結

合型肺炎球菌ワクチン(13-valent pneumococcal conjugate vaccine: PCV13)への切り替えが行われた。しかし、ワクチンに含まれている血清型の肺炎球菌が減少する一方で、ワクチンに含まれない血清型の肺炎球菌が増える菌交代現象が問題となっている⁴⁾。PCV普及による肺炎球菌感染症の疫学は変化しており、その現状を理解することは臨床診療上重要である。本研究においては、当院耳鼻咽喉科において急性中耳炎と診断された小児中耳由来肺炎球菌について、PCV13導入後の菌交代現象の調査を目的として、血清型および薬剤感受性との関係について検討したので報告する。

II. 対象および方法

1. 対象菌株

2017年3月から2018年2月までの1年間に、東北労災病院耳鼻咽喉科を受診し、急性中耳炎と診断された小児の中耳貯留液検体を対象とした。中耳貯留液の採取は、滅菌吸引瓶(熊沢式蓄留瓶)を用い採取した。採取後の培養は、5%羊血液寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン)とチョコレート寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン)を用い18~24時間、35℃、5%炭酸ガス培養を行った。菌の同定は、血液寒天培地上でα溶血を示すコロニーからグラム染色を行い、顕微鏡下に観察しグラム陽性連鎖球菌であることを確認した。また、そのα溶血を示すコロニーを血液寒天培地に塗り広げ、オプトヒンディスク‘栄研’(栄研化学)を培地上に載せ、18~24時間、35℃、好気培養後、13mm以上の発育阻止円が形成された株を肺炎球菌と同定した。同一患者からの

著者連絡先: (〒981-8563) 宮城県仙台市青葉区台原 4-3-21
独立行政法人労働者健康安全機構東北労災病院中央
検査部
高島且統
TEL: 022-275-1507
FAX: 022-275-1350
E-mail: saikin@tohokuh.johas.go.jp

表1. CLSIが定める肺炎球菌のMICによるブレイクポイント

抗菌薬	MIC (µg/mL)		
	S	I	R
PCG	≤0.06	0.125-1	≥2
ABPC	—*	—	—
ABPC/SBT	—*	—	—
AMPC/CVA	≤2	4	≥8
CTRX	≤1	2	≥4
CDTR	—*	—	—
PAPM	—*	—	—
MEPM	≤0.25	0.5	≥1
CLDM	≤0.25	0.5	≥1
EM	≤0.25	0.5	≥1
LVFX	≤2	4	≥8

*ABPC, ABPC/SBT, CDTR, PAPM はブレイクポイント設定なし

表2. 本研究における対象菌株全44株の患者背景

背景	菌株数	(%)
性別		
男児	21	(47.7)
女児	23	(52.3)
年齢		
0歳	14	(31.8)
1歳	16	(36.4)
2歳	6	(13.6)
3歳	1	(2.3)
4歳	3	(6.8)
5歳	1	(2.3)
7歳	3	(6.8)

菌株に関しては初回分離株のみを対象とし、重複例は除外した。最終的に肺炎球菌と同定された株は44株であった。

2. 血清型の判定

分離した44株の肺炎球菌は、各々の血清型の莢膜抗原に対して特異的な免疫血清である Neufeld antisera (Statens Serum Institut, コペンハーゲン, デンマーク) を用いた莢膜膨化反応により血清型分類を行った。

3. 薬剤感受性試験

米国臨床検査標準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI) に準拠の微量液体希釈法 (オプトパネル MP, 極東製薬工業) により、最小発育阻止濃度 (Minimum inhibitory concentrations: MIC) を測定した。測定した抗菌薬は、penicillin G (PCG), ampicillin (ABPC), ampicillin/sulbactam (ABPC/SBT), amoxicillin/clavulanic acid (AMPC/CVA), ceftriaxone (CTRX), cefditoren (CDTR), panipenem (PAPM), meropenem (MEPM), clindamycin (CLDM), erythromycin (EM), levofloxacin (LVFX) の11種類とした。ペニシリン系薬剤に関しては2008年以前のCLSI推奨ブレイクポイントに基づいて分類を行い、PCGのMICをもとに≤0.06 µg/mLをペニシリン感性肺炎球菌 (penicillin-susceptible *S. pneumoniae*: PSSP), 0.125~1 µg/mLをペニシリン中等度耐性肺炎球菌 (penicillin-intermediate *S. pneumoniae*: PISP), ≥2 µg/mLをペニシリン耐性肺炎球菌 (penicillin-resistant *S. pneumoniae*: PRSP) に分類した。その他の抗菌薬は、CLSI M100-S26のブレイクポイントに基づき分類を行った (表1)。また、精度管理菌株として *S. pneumoniae* ATCC49619を用いた。

III. 結果

1. 患者背景

対象となった44株のうち男女比は男児が21株 (47.7%), 女児が23株 (52.3%) で、性差はなかった。年齢は0歳~7歳で、0歳児が14株 (31.8%), 1歳児が16株 (36.4%), 2歳児が6株 (13.6%) で、3歳未満で36株 (81.8%) であった (表2)。

2. 莢膜膨化反応による肺炎球菌の血清型分類

全44株の中で最も多く検出されたのは、血清型15Aで7株 (15.9%) であった。次いで血清型23Bが5株 (11.4%), 血清型25Aが4株 (9.1%), 血清型3・15B・10A・11Aがいずれも3株 (6.8%) と続いた。PCV7でカバーされる血清型は44株中0株で、PCV13でカバーされる血清型は4株 (9.1%) であった。PCV7でもPCV13でもカバーされない血清型 (非ワクチンタイプ) は40株 (90.9%) であった (図1)。

3. 年齢別の血清型

最も多く検出された血清型15Aは2歳未満 (0歳, 1歳) であった。次に多く検出された血清型23Bは1歳と2歳でみられた。またPCV13でカバーされる血清型は4株検出され、その中で血清型3は全例3歳以上で3株が検出され、血清型19Aは0歳で1株のみ検出された (表3)。

4. 薬剤感受性試験

PCGの薬剤感受性測定結果から、全44菌株中PSSPは17株 (38.6%), PISPは18株 (40.9%), PRSPは9株 (20.5%) であった。PCGのMIC₅₀は0.12 µg/mL, MIC₉₀は2 µg/mLであった。感性の割合が高かった薬剤は、AMPC/CVA (100%), CTRX (100%), LVFX (97.7%) で、一方EM (18.2%) では高率に耐性を示した (表4)。

5. 各血清型におけるPCGの感受性に基づく分類

最も多く検出された血清型15Aは、PSSPが0%, PISPが14.3%, PRSPが85.7%で、すべての株がペニシリン非感性株であった。次に多く検出された血清型23Bは、PSSPが80%, PISPが20%であった。またPCV13でカバーされる血清型のうち、血清型3, 血清型19Aともにすべての株がPSSPであった (表5)。

6. 血清型15Aの薬剤感受性

血清型15Aで非感性株の割合が高かった薬剤はPCG (100%), MEPM (85.7%), CLDM (85.7%), EM (100%) であった (表6)。

IV. 考察

小児急性中耳炎は近年、新規小児用経口抗菌薬の開発、PCVの普及などにより、臨床像が大きく変化してきている⁵⁾。2000年代後半になり、PCVの接種開始に加えて急性中耳炎への効果が期待される経口カルバペネム製剤である tebipenem (TBPM) が2009年に、キノロン製剤である tosuflox-

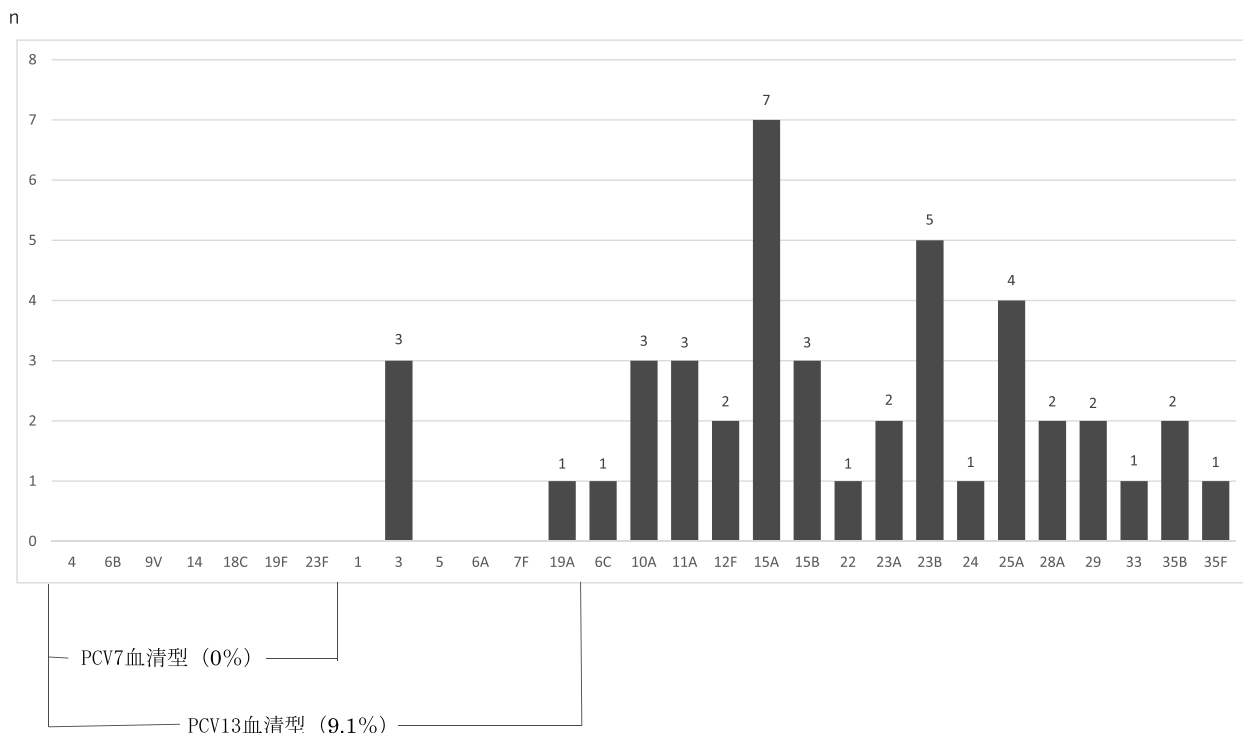


図1. 本研究における小児急性中耳炎由来肺炎球菌の血清型（全菌株：44株）

表3. 本研究の対象菌株全44株における年齢別の血清型

血清型	全年齢 (n=44)	(%)	0歳 (n=14)	(%)	1歳 (n=16)	(%)	2歳 (n=6)	(%)	3歳以上 (n=8)	(%)
15A	7	(15.9)	3	(21.4)	4	(25.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
23B	5	(11.4)	0	(0.0)	3	(18.8)	2	(33.3)	0	(0.0)
25A	4	(9.1)	2	(14.3)	0	(0.0)	2	(33.3)	0	(0.0)
3	3	(6.8)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	3	(37.5)
15B	3	(6.8)	0	(0.0)	3	(18.8)	0	(0.0)	0	(0.0)
10A	3	(6.8)	1	(7.1)	0	(0.0)	0	(0.0)	2	(25.0)
11A	3	(6.8)	1	(7.1)	1	(6.3)	0	(0.0)	1	(12.5)
23A	2	(4.6)	1	(7.1)	1	(6.3)	0	(0.0)	0	(0.0)
12F	2	(4.6)	0	(0.0)	2	(12.5)	0	(0.0)	0	(0.0)
28A	2	(4.6)	1	(7.1)	0	(0.0)	1	(16.7)	0	(0.0)
29	2	(4.6)	1	(7.1)	0	(0.0)	1	(16.7)	0	(0.0)
35B	2	(4.6)	2	(14.3)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
6C	1	(2.3)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(12.5)
19A	1	(2.3)	1	(7.1)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
22	1	(2.3)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(12.5)
24	1	(2.3)	1	(7.1)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
33	1	(2.3)	0	(0.0)	1	(6.3)	0	(0.0)	0	(0.0)
35F	1	(2.3)	0	(0.0)	1	(6.3)	0	(0.0)	0	(0.0)

acin (TFLX) が2010年に本邦で許可されるなど、小児急性中耳炎を取り巻く治療環境はめまぐるしく変化してきた。そのような治療環境の変化に対応すべく、小児急性中耳炎診療ガイドラインも2006年に初版が作成されて以降、2009年、2013年とガイドラインは改訂され、2018年には4代目となる小児急性中耳炎ガイドライン2018年版が公表されている。

PCVの影響として、米国ではIPDの発現率が大きく減少

することや、集団免疫効果でワクチン非接種群に接種群と同様の効果が表れることが報告されている⁶⁾⁷⁾。PCV7からPCV13へとワクチンが変遷し普及していく一方で、ワクチン接種後の変化としてワクチンに含まれないタイプの肺炎球菌の増加が報告されている⁸⁾。

2007年に神谷らは、ワクチン導入前の小児急性中耳炎から検出された肺炎球菌の血清型の中で最も多く検出された血

表 4. 本研究における対象菌株全 44 株の薬剤感受性

抗菌薬	MIC 分布範囲 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S	(%)	I	(%)	R	(%)
PCG	$\leq 0.016-2$	0.12	2	17	(38.6)	18	(40.9)	9	(20.5)
ABPC	$\leq 0.06-4$	0.12	4	—	—	—	—	—	—
ABPC/SBT	$\leq 0.06/0.03-4/2$	0.12/0.06	4/2	—	—	—	—	—	—
AMPC/CVA	$\leq 0.12-2$	≤ 0.12	2	44	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
CTR	$\leq 0.03-0.5$	0.25	0.5	44	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
CDTR	$\leq 0.016-0.5$	0.12	0.25	—	—	—	—	—	—
PAPM	$\leq 0.008-0.25$	≤ 0.008	0.12	—	—	—	—	—	—
MEPM	$\leq 0.008-0.5$	0.016	0.5	34	(77.3)	10	(22.7)	0	(0.0)
CLDM	$\leq 0.12->16$	≤ 0.12	>16	26	(59.1)	1	(2.3)	17	(38.6)
EM	$\leq 0.06->8$	2	>8	8	(18.2)	6	(13.6)	30	(68.2)
LVFX	$\leq 0.12->8$	1	2	43	(97.7)	0	(0.0)	1	(2.3)

表 5. 本研究の対象菌株全 44 株における血清型の PCG 感受性に基づく分類

血清型	菌株数	PSSP	(%)	PISP	(%)	PRSP	(%)
15A	7	0	(0.0)	1	(14.3)	6	(85.7)
23B	5	4	(80.0)	1	(20.0)	0	(0.0)
25A	4	1	(25.0)	3	(75.0)	0	(0.0)
3	3	3	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
15B	3	2	(66.7)	1	(33.3)	0	(0.0)
10A	3	2	(66.7)	1	(33.3)	0	(0.0)
11A	3	1	(33.3)	2	(66.7)	0	(0.0)
23A	2	0	(0.0)	2	(100.0)	0	(0.0)
12F	2	1	(50.0)	1	(50.0)	0	(0.0)
28A	2	0	(0.0)	2	(100.0)	0	(0.0)
29	2	0	(0.0)	1	(50.0)	1	(50.0)
35B	2	0	(0.0)	0	(0.0)	2	(100.0)
6C	1	0	(0.0)	1	(100.0)	0	(0.0)
19A	1	1	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
22	1	0	(0.0)	1	(100.0)	0	(0.0)
24	1	0	(0.0)	1	(100.0)	0	(0.0)
33	1	1	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
35F	1	1	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)

表 6. 本研究における血清型 15A 肺炎球菌 7 株の薬剤感受性

抗菌薬	S	(%)	I	(%)	R	(%)
PCG	0	(0.0)	1	(14.3)	6	(85.7)
ABPC	—	—	—	—	—	—
ABPC/SBT	—	—	—	—	—	—
AMPC/CVA	7	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
CTR	7	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
CDTR	—	—	—	—	—	—
PAPM	—	—	—	—	—	—
MEPM	1	(14.3)	6	(85.7)	0	(0.0)
CLDM	1	(14.3)	1	(14.3)	5	(71.4)
EM	0	(0.0)	0	(0.0)	7	(100.0)
LVFX	6	(85.7)	0	(0.0)	1	(14.3)

血清型は 19F (25.9%) で、以下 6B (14.9%), 23F (11.9%) と続き、全菌株の PCV7 カバー率は、62.7% であったことを報告している⁹⁾。また、2015 年に Ozawa らは、PCV7 導入後 PCV13 導入前の血清型の報告として、最も多く検出され

た血清型は 19A (27.3%) で、以下 15A (14.2%), 3 (11.9%) と続き、PCV7 カバー率は 4.5%, PCV13 カバー率が 44.9% であったとしている¹⁰⁾。これらの報告から PCV7 導入前から導入後の変化として PCV7 カバー率が減少し、PCV7 導入後の菌交代現象が本邦の小児急性中耳炎においても発生している可能性が示唆された。本研究では、PCV13 導入後の調査を行い、最も多く検出された血清型は 15A (15.9%) で、次いで 23B (11.4%), 25A (9.1%) であった。PCV7 のカバー率は 0% で、PCV13 カバー率は 9.1% であった。PCV7 のカバー率の更なる減少および PCV13 カバー率の減少は PCV7 の菌交代現象に続き、PCV13 による菌交代現象が発生していることが考えられた。PCV13 の導入によって PCV13 タイプの肺炎球菌が減少してきている一方、菌交代現象には今後も継続的な注意が必要であると考えられた。

肺炎球菌の薬剤感受性においては、PCG への感受性が良好となってきた報告がある。神谷らは、6 歳未満の急性中耳炎の中耳貯留液からの肺炎球菌の感受性を PSSP 40.3%, PISP 42.8%, PRSP 16.9% としている⁹⁾。その後 Ozawa ら

は、2001年から2012年までの調査の中で、PCV7導入後の2012年の3歳未満の中耳貯留液からの肺炎球菌の感受性を、PSSP 61.9%、PISP 23.8%、PRSP 14.3%と報告し、PCV7導入後にペニシリン感受性の改善が認められたとしている¹¹⁾。しかしながら、今回のわれわれの研究では、PSSP 38.6%、PISP 40.9%、PRSP 20.5%と再びペニシリン感受性が耐性側へシフトしている傾向がみられた。これは非PCV13タイプの血清型である、血清型15Aの割合が高くなったことが要因の一つと推察される。今回検出された肺炎球菌のなかで最も多く検出された肺炎球菌は血清型15Aであり、PISPが14.3%、PRSPが85.7%で、すべてペニシリン非感性株であった。Ozawaらは、PCV7導入後の血清型からPCV13導入後には、PCV13に含まれない血清型15Aのペニシリン非感性株が多くなると考察しており¹⁰⁾、われわれの今回の結果と一致していた。

また、Nakanoらは、血清型15Aがペニシリン耐性に加えカルバペネム系への耐性も認めることを報告している¹²⁾。本研究の血清型15AのMEPMの感受性は、CLSIの判定基準Sは7株中1株(14.3%)のみであとの6株(85.7%)は判定基準Iであり、Nakanoらの報告を裏付ける結果となった。さらに、Chibaらは、血清型15Aがマクロライド耐性を示すことを報告している⁸⁾。本研究の血清型15AのEMの感受性においても、7株すべて耐性であった。血清型15Aがペニシリン非感性のみでなく他の薬剤にも耐性傾向を示し、3系統以上に耐性を示す多剤耐性肺炎球菌が多いとの報告もあり¹⁰⁾、本研究においても血清型15Aは全菌株多剤耐性肺炎球菌であった。

さらに、血清型15Aは本研究では2歳未満(0歳児3名、1歳児4名)で検出されていた。2歳未満で急性中耳炎は難治化しやすいとされており¹³⁾¹⁴⁾、このことは、2歳未満の難治性急性中耳炎の病態の一因として留意しなければならない。

PCVによる血清型カバー率の減少による菌交代現象が進行している中で、本研究では少数であったが、PCV13に含まれている血清型3と19Aが確認された。これらの血清型はPCV7導入後からPCV13導入前のIPDサーベイランスで増加がみられていた血清型であった⁴⁾。本研究では血清型3は3株検出されたがいずれも3歳以上から分離した株であった。血清型3の肺炎球菌は厚い莢膜を持つムコイド型のコロニーであることが多く、免疫抵抗性を持ち保菌されやすく重症化しやすいのが特徴である¹⁵⁾。急性中耳炎は2歳未満で重症化しやすいとされるが3歳以降の急性中耳炎であってもムコイド型コロニーを示す肺炎球菌では、重症化に注意が必要である。ムコイド型コロニーを呈する肺炎球菌は薬剤感受性のうへではPSSPがほとんどであるが¹⁶⁾、検査室側はムコイド型コロニーが検出されたら、抗菌薬の適切な選択の為にも臨床側への報告を速やかに行うべきと考えられる。

本研究では、PCV13でカバーされていない血清型が90%を超えて検出され、PCV13による菌交代現象が進んでいるものと推測された。2歳未満でのペニシリン非感性肺炎球菌血清型15Aによる急性中耳炎の増加は、難治性中耳炎の増加となる可能性を示唆しており、今後さらに継続的な調査が重要であると考えられた。

なお、本論文の要旨は、第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会(2019年2月、東京)において発表した。

謝辞: 本研究はJSPS科研費 JP17K16885の助成を受けたものです。

利益相反: 申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) Teele, D.W., J.O. Klein, B. Rosner. 1989. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in Greater Boston. A prospective, cohort study. *J. Infect. Dis.* 160: 83-94.
- 2) Jacobs, M.R., H.J. Koornhof, R.M. Robins-Browne, et al. 1978. Emergence of multiply resistant pneumococci. *N. Engl. J. Med.* 299: 735-740.
- 3) Yano, H, M Suetake, A Kuga, et al. 2000. Pulsed-field gel electrophoresis analysis of nasopharyngeal flora in children attending a day care center. *J. Clin. Microbiol.* 38: 625-629.
- 4) 常 彬, 大西 真, 庵原俊昭. 2013. 小児侵襲性感染症由来肺炎球菌の細菌学的解析から見た肺炎球菌結合型ワクチンPCV7の効果. *Infectious Agents Surveillance Report* 34: 64-66.
- 5) 山中 昇. 2015. 肺炎球菌ワクチンと新規抗菌薬は小児急性中耳炎にどのような影響を与えているか. *耳鼻臨床* 108: 177-186.
- 6) Kyaw, M.H., R. Lynfield, W. Schaffner, et al. 2006. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N. Engl. J. Med.* 354: 1455-1463.
- 7) Talbot, T.R., K.A. Poehling, T.V. Hartert, et al. 2004. Elimination of racial differences in invasive pneumococcal disease in young children after introduction of the conjugate pneumococcal vaccine. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 23: 726-731.
- 8) Chiba, N, M Morozumi, M Shouji, et al. 2014. Changes in Capsule and Drug Resistance of Pneumococci after Introduction of PCV7, Japan, 2010-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 20: 1132-1139.
- 9) 神谷 齊, 加藤達夫, 富樫武弘, 他. 2007. 小児急性化膿性中耳炎における肺炎球菌血清型に関する疫学調査. *感染症誌* 81: 59-66.
- 10) Ozawa, D, H Yano, S Endo, et al. 2015. Impact of the Seven-valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Acute Otitis Media in Japanese Children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 34: 217-221.
- 11) Ozawa, D, H Yano, H Hidaka, et al. 2014. Twelve-year survey (2001-2012) of the antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolates from otorhinolaryngology clinics in Miyagi Prefecture, Japan. *J. Infect. Chemother.* 20: 702-708.
- 12) Nakano, S, T Fujisawa, Y Ito, et al. 2016. Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012-2014. *Vaccine* 34: 67-76.
- 13) Prellner, K., O. Kalm, F.K. Pedersen. 1984. Pneumococcal

- antibodies and complement during and after periods of re-current otitis. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 7: 39-49.
- 14) 山中 昇. 2015. 小児急性中耳炎を難治化させない治療法と難治化してしまった中耳炎の治療法. *小児耳* 36: 342-349.
- 15) 川崎 聡, 青木信樹, 田端 篤, 他. 2016. ムコイド型, 非ムコイド型肺炎球菌性市中肺炎の比較. *日治療会誌* 64: 280-285.
- 16) Suetake, M, M Irimada, S Takahashi, et al. 2000. Acute otitis media due to mucoid type *Streptococcus pneumoniae*. *Otol. Jpn.* 10: 89-94.

Serotype and drug susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from pediatric acute otitis media after 13-valent pneumococcal conjugate vaccine introduction

Katsunori Takashima¹⁾, Junko Masaki¹⁾, Daiki Ozawa²⁾

¹⁾Department of Central Clinical Laboratory, Tohoku Rosai Hospital, Organization of Occupational Health and Safety

²⁾Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Tohoku University

Streptococcus pneumoniae is one of the predominant bacteria that causes acute otitis media (AOM). The 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) has been included in the routine immunization schedule in Japan since November 2013. After vaccine introduction, non-vaccine types increased due to serotype replacement. We surveyed the serotypes and antimicrobial susceptibility profile of 44 *S. pneumoniae* isolates obtained from the middle ear fluid of children with AOM from March 2017 to February 2018. Only 38.6% of the strains were susceptible to penicillin G, while 40.9% were penicillin-intermediate strains, and 20.5% were penicillin-resistant strains. The most prevalent serotypes found were serotype 15A (15.9%), and serotype 23B (11.4%). PCV7 types accounted for 0% of all strains, while 9.1% were PCV13 types. Serotype 15A strains were 100% non-susceptible to penicillin G, and all were in under 2-year-olds. Serotype 15A and 23B are not included in the PCV13, suggesting serotype replacement may have occurred. Serotype 15A should be noted as a cause of intractable AOM in under 2-year-olds. Finally, the high prevalence of non-susceptible serotype 15A highlights the need for further monitoring of serotype 15A trends.