

当院における小児の臨床材料から分離された ampicillin 耐性 *Haemophilus influenzae* の 10 年間の変動

坂田 宏

旭川厚生病院小児科

(2009年5月14日受付)

1999年7月から2008年12月までの9年6か月間に当院小児科で治療した生後1か月から12歳までの小児から分離された3784株の *Haemophilus influenzae* の ampicillin (ABPC) 耐性の頻度を検討した。薬剤感受性は Etest で測定し、耐性は Clinical and Laboratory Standards Institute の基準で判定した。1999年には87.1%が MIC 2 $\mu\text{g/ml}$ 未満の感受性菌であったが、年々減少し2008年には28.7%まで有意に低下した ($p < 0.001$)。MIC 4 $\mu\text{g/ml}$ 以上の β -lactamase negative ABPC resistant (BLNAR) 株は1999年には2.9%であったが、2008年には43.3%に有意に増加した ($p < 0.001$)。MIC₉₀ は、1999年が2 $\mu\text{g/ml}$ であったが、2008年には16 $\mu\text{g/ml}$ に上昇した。

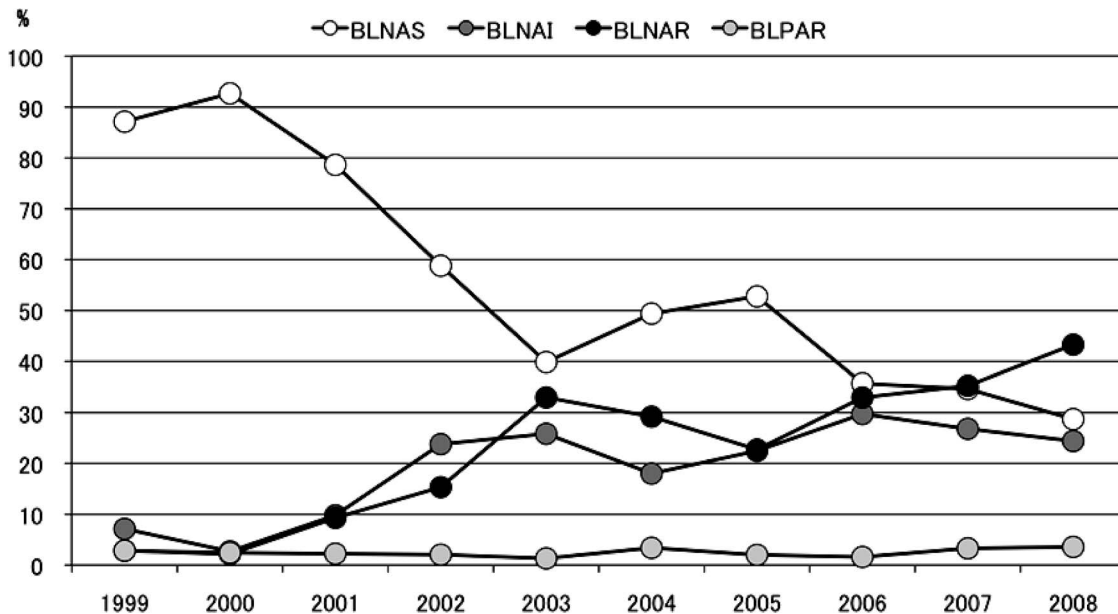
1990年代から、*Haemophilus influenzae* において β -lactamase negative ampicillin (ABPC) resistant (BLNAR) 株の増加が大きな問題となってきた。耐性の機序としては penicillin 結合蛋白 (penicillin binding protein, PBP) 遺伝子の変異が原因とされている¹⁾。本菌はただ単に ABPC に耐性を有するだけでなく cephem 系抗菌薬にも感受性が低下していることが明らかになっている²⁾。今回、最近10年間における当院の小児の臨床材料から分離された *H. influenzae* について ABPC 耐性菌の頻度の推移を検討したので報告する。

対象と方法

1999年7月から2008年12月までの9年6か月間に当院小児科で治療した生後1か月から12歳までの呼吸器感染症患者の喀痰、上咽頭から分離された *H. influenzae* を対象とした。検出された菌が

実際にその疾患の原因菌かどうかは不明である。同一の児から、複数回検出されている場合には、その年の最初に採取した株を採用した。株数は1999年140株、2000年369株、2001年398株、2002年437株、2003年449株、2004年411株、2005年396株、2006年434株、2007年332株、2008年418株の計3784株である。

検出された株について Etest を用いて、ABPC に対する最小発育阻止濃度 (Minimal inhibitory concentration, MIC) を測定した。Etest の方法は分離された菌をコロニーからかきとり、滅菌生理食塩水で攪拌し、McFarland No.0.5 に調整した。この菌液を滅菌綿棒で、ミューラーヒントンチョコレート寒天培地に均一に塗抹した。ampicillin (ABPC) の Etest ストリップ (ABBIODISK, スウェーデン) を平板上においた。35°C にて18時間培養を行い、阻止円の目盛りから MIC を求めた。*H. influenzae* の β -lactamase 産生能は nitro-

図1. *Haemophilus influenzae*の耐性頻度の変動

BLNAS: β -lactamase negative ampicillin susceptible *H. influenzae*, BLNAI: β -lactamase negative ampicillin intermediate resistant *H. influenzae*, BLNAR: β -lactamase negative ampicillin resistant *H. influenzae*, BLPAR: β -lactamase positive ampicillin resistant *H. influenzae*

cefimを基質とした chromogenic disc method (セフィナーゼ, Becton Dickinson Microbiology Systems)を用いて測定した。

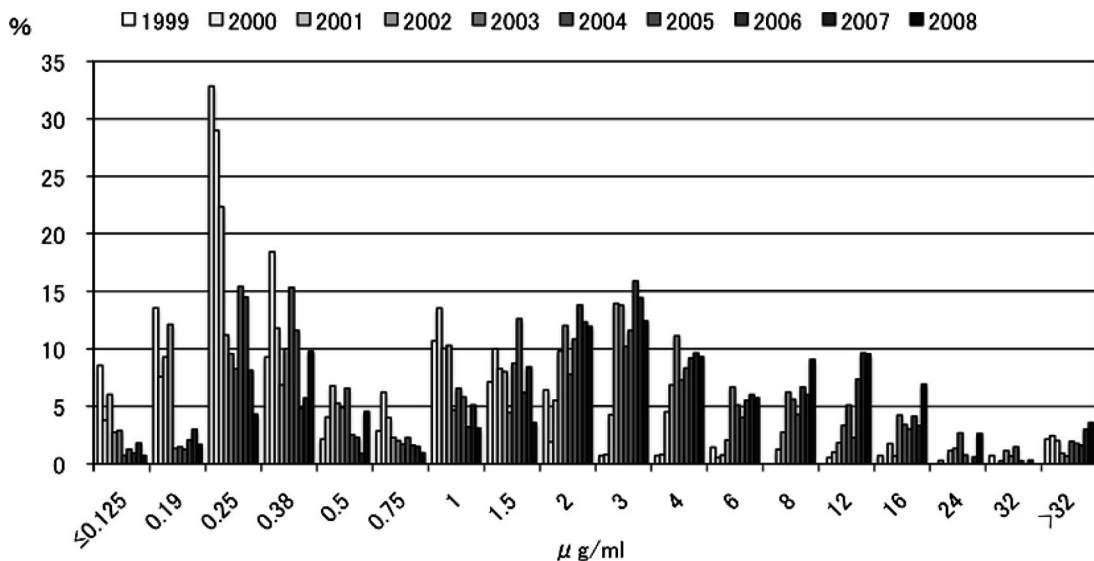
*H. influenzae*の分類は Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI)³⁾の分類にしたがって、 β -lactamase陰性で ABPCの MICが $2 \mu\text{g/ml}$ 未満を BLNAS (β -lactamase negative ABPC susceptible) 株, ABPCの MICが $2 \mu\text{g/ml}$ 以上 $4 \mu\text{g/ml}$ 未満を BLNAI (β -lactamase negative ABPC intermediate resistant) 株, $4 \mu\text{g/ml}$ 以上を BLNAR (β -lactamase negative ABPC resistant) 株, β -lactamase陽性の株を BLPAR (β -lactamase positive ABPC resistant) 株とした。

有意差の検定は StatMate III for Macintosh (アトムス)によりカイ二乗検定を行い, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

成績

図1に BLNAS, BLNAI, BLNAR, BLPARの推移を示した。1999年~2000年には約90%が BLNASであったが, 年々減少し2008年には28.7%まで低下した。一方, BLNARは1999~2000年には3%以下であったが, 2002年に15.3%, 2007年に35.2%でBLNASの頻度を上回り, 2008年には43.3%に達した。BLNAIは, 2002年以降は20~30%で推移していた。BLPARは1.3~3.6%で, ほぼ一定していた。1999年のBLNASの頻度と各年のBLNASの頻度を比較すると, 2002年以降は有意にBLNASが減少した ($p < 0.001$)。

図2には ABPCの MIC分布を示した。1999年には $0.25 \mu\text{g/ml}$ が32.9%, $1 \mu\text{g/ml}$ が10.7%と二峰性であったが, しだいに $0.25 \mu\text{g/ml}$ のピークが低くなりながら $0.38 \mu\text{g/ml}$ に移行していた。2004年以降は $3 \mu\text{g/ml}$ の BLNAIにピークを認め, 2008

図2. *Haemophilus influenzae*に対するABPCのMIC分布表1. *Haemophilus influenzae*に対するABPCのMIC₅₀とMIC₉₀の変動

	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
MIC ₅₀ (μ g/ml)	0.25	0.38	0.5	1	2	2	1.5	3	3	3
MIC ₉₀ (μ g/ml)	2	1.5	4	6	12	12	8	12	12	16

年では12 μ g/mlにも小さなピークが出現してきている。

表1にはABPCのMIC₅₀とMIC₉₀の推移を示したが、1999年にはMIC₅₀が0.25 μ g/ml、MIC₉₀が2 μ g/mlであったのが、2003年にはMIC₅₀が2 μ g/ml、MIC₉₀が12 μ g/ml、2008年にはMIC₅₀が3 μ g/ml、MIC₉₀が16 μ g/mlまで上昇した。

考案

当院では、通常の感受性試験は自動薬剤感受性測定機を用いているが、*H. influenzae*に関しては、4 μ g/ml以上の値が測定できず、臨床的に有用性が充分でないと考え、Etestで感受性を1999年から実施しており、その10年間でまとめた。その結果、この10年間でBLPARは大きな変動はなかったが、BLNARが著しく増加し、しかもMIC

も高くなっていることが判明した。この成績は、自動機器では得られず、Etestの有用性を認めた。

全国の小児科施設により構成されている、小児科領域耐性菌研究会が、それぞれの施設から収集した*H. influenzae*菌株2001年448株、2004年376株、2007年386株の耐性頻度を報告⁴⁾している。その成績では、2001年にはBLNAS 62.9%、BLNAI 17.6%、BLNAR 11.2%、BLPAR 8.3%であったが、2003年にBLNAS 34.3%、BLNAI 16.0%、BLNAR 43.4%、BLPAR 6.4%、2007年にBLNAS 34.5%、BLNAI 22.8%、BLNAR 38.3%、BLPAR 4.4%とBLNASが著しく低下していた。この結果は著者の成績と同様であり、BLNASの減少は全国的なレベルで起こっていると考えられる。

2004年～2005年におけるヨーロッパ各国のBLNARとBLPARの頻度はスペイン33.9%と

5.4%, ドイツ 11.8%と0%, トルコ 11%と2.4%, オーストリア 10%と5%, ポルトガル 9.6%と15.4%, ポーランド 8.6%と11.4%, アイルランド 8%と8%, イタリア 3.3%と7.5%, 英国 1.5%と13.2%, フランス 0%と17.6%, オランダ 0%と0%と国によって大きな差が認められた⁵⁾。全体では8.8%と7.6%であったが, 1997~1998年には8.8と11%であり, BLNARの頻度に大きな変化を認めなかった⁵⁾。米国では1994~1995年にBLPAR 36.4%, BLNAR 1.3%であったが, 2002~2003年には26.3%, 0.1%と両者とも減少していた⁶⁾。

このように, 本邦で顕著にBLNARが増加している原因として, UBUKATAら¹⁾は本邦において市中呼吸器感染症に対する経口の第一選択薬がcephem系薬の使用頻度が高いことをあげている。*H. influenzae*に対するcephem系薬の抗菌力はPBP3との親和性が関連しているので, 血中濃度が低く, 菌を殺菌しえない経口cephem系薬が投与されることによって生じる選択圧によって, PBP3との親和性が低下した遺伝子変異を有する株が選択されると推測している。

著者は以前に当院の小児の臨床材料から分離された*H. influenzae*のABPC以外の注射用抗菌薬に対する感受性を2002~2003年と2007~2008年を比較して報告した⁷⁾。2007~2008年分離株で最も優れた感受性を示したのはceftriaxone (CTRX) に対してで, MIC₉₀が0.38 µg/mlであった。次いでpiperacillin (PIPC) MIC₉₀が0.5 µg/ml, meropenem (MEPM) が1.5 µg/ml, cefotaxime (CTX) が2 µg/mlであった。2002~2003年ではMEPMのMIC₉₀が0.5 µg/ml, CTRXとPIPCはともに0.25 µg/mlであったので, 抗菌活性の低下が確認された。

BLNARが増加することにより, 抗菌薬の使用は従来と異ならざるを得なくなっている。特に髄膜炎の時には, ABPCが有効な例が明らかに減少

していると考えられ, 初期治療薬には適さず, CTRXやMEPMが推奨されている。肺炎に関しては, 黒崎⁸⁾はBLNARが原因菌の場合, 経口薬ではcefditoren pivoxil, cefcapene pivoxilなどのセフェム系抗菌薬かazithromycin, 注射剤ではPIPC, CTX, CTRX, MEPMを推奨している。

この10年間で, *H. influenzae*の感受性は抗菌薬耐性の傾向を強めていることが確認された。この現象はこれまでの抗菌薬の投与方法にその一因があることと考えられる。今後は, 耐性菌を増加させることなく, 患者により有効な抗菌薬による治療を考慮しなければならない。その上で, 耐性の動向を追跡していく必要性を感じる。

文献

- 1) UBUKATA, K.; Y. SHIBASAKI, K. YAMAMOTO, *et al.*: Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1693~1697, 2001
- 2) 生方公子: 市中感染症3年間のまとめ。肺炎球菌とインフルエンザ菌についての疫学的考察。 *Jpn. J. Antibiotics* 54 (Suppl. B): 72~79, 2001
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th Information Supplement Document M100~S15, 2005
- 4) 星野 直, 佐藤吉壮, 豊永義清, 他: 小児科領域における薬剤耐性化の2007年全国調査—インフルエンザ菌の薬剤感受性—。 *日本化学療法学会雑誌* 56 (Suppl. A): 154, 2008
- 5) JANSEN, W. T.; A. VEREL, M. BEITSMA, *et al.*: Longitudinal European surveillance study of antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 58: 873~877, 2006
- 6) HEILMANN, K. P; C. L. RICE, A. L. MILLER, *et al.*: Decreasing prevalence of beta-lactamase production among respiratory tract isolates of

- Haemophilus influenzae* in the United States. Antimicrob. Agents Chemother. 49: 2561~2564, 2005
- 7) 坂田 宏：小児の臨床材料から分離された *Haemophilus influenzae* の静注用抗菌薬に対する薬剤感受性。日本化学療法学会雑誌 57: 101~105, 2009
- 8) 黒崎知道：インフルエンザ菌。化学療法の領域 25 (増刊)：1014~1021, 2009

Changes over 10 years of ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolated from children

HIROSHI SAKATA

Department of Pediatrics, Asahikawa Kosei Hospital

We examined the frequency of ampicillin (ABPC) resistance of 3784 strains of *Haemophilus influenzae* isolated from the infants aged from 1 month after birth to 12 years who had been treated in the Pediatric Department of our hospital for 9 years and 6 months from July 1999 to December 2008. We determined the drug susceptibility by Etest, and judged the resistance by the standard of Clinical and Laboratory Standard Institute. The rate of strains of MIC of less than 2 $\mu\text{g/ml}$ to ABPC was 87.1% in 1999, but the ratio was decreasing year after year significantly up to 28.7% in 2008 ($p < 0.001$). β -lactamase negative ABPC resistant (BLNAR) strains whose MIC to ABPC was more than 4 $\mu\text{g/ml}$ was 2.9% in 1999, but increased significantly to 43.3% in 2008 ($p < 0.001$). MIC₉₀ was 2 $\mu\text{g/ml}$ in 1999, but increased to 16 $\mu\text{g/ml}$ in 2008.