

## 岐阜及び愛知県内で分離された肺炎球菌の各種抗菌薬に対する 感受性サーベイランス (2008年～2009年)

富山化学工業株式会社総合研究所,  
東海アンチバイオグラム研究会ワーキンググループ

古家由理・福田淑子・  
野村伸彦・満山順一  
富山化学工業株式会社総合研究所

渡邊邦友  
岐阜大学生命科学総合研究支援センター  
嫌気性菌研究分野

浅野裕子  
大垣市民病院医療技術部

山岡一清  
岐阜医療科学大学衛生技術学科

末松寛之  
岐阜県厚生農業協同組合連合会  
中濃厚生病院微生物検査室

澤村治樹  
岐阜大学医学部附属病院検査部

川原佑貴  
高山赤十字病院検査部

寺地真弓  
飛騨臨床検査センター

松原茂規  
松原耳鼻いんこう科医院

松川洋子  
岐阜県立多治見病院臨床検査部

荒井 亨  
岐阜県厚生農業協同組合連合会  
東濃厚生病院検査科

宮部高典  
公立学校共済組合東海中央病院臨床検査科

三嶋廣繁  
愛知医科大学感染制御部

(2011年10月25日受付)

2008年6月～2009年4月にかけて岐阜及び愛知県内の医療関連施設から分離された肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 377株の各種抗菌薬に対する感受性、ペニシリン結合蛋白質 (penicillin-binding protein: PBP) 遺伝子変異、マクロライド耐性遺伝子の有無及び血清型について検討した。また、2004年に分離された *S. pneumoniae* 160株のサーベイランス結果と比較した。

CLSI (M100-S17) 基準を参考に, benzylpenicillin (PCG) のMICが0.05 $\mu$ g/mL以下をペニシリン感性*S. pneumoniae* (penicillin-susceptible *S. pneumoniae*: PSSP), 0.1~0.78 $\mu$ g/mLをペニシリン中等度耐性*S. pneumoniae* (penicillin-intermediate *S. pneumoniae*: PISP) 及び1.56 $\mu$ g/mL以上をペニシリン耐性*S. pneumoniae* (penicillin-resistant *S. pneumoniae*: PRSP) とすると, PSSPは143株 (38%), PISPは185株 (49%), PRSPは49株 (13%) であった。分離材料別では鼻腔及び咽頭由来株でPISP, PRSPの分離頻度が高く, 地区別では中濃地区でPRSPの分離頻度が高かった。

PBP遺伝子に変異を有さないgPSSPは23株 (6.1%), 少なくとも1箇所に変異を有するgPISPは173株 (46%), 3箇所全てに変異を有するgPRSPは181株 (48%) であった。また, マクロライド耐性遺伝子を有さない株は28株 (7.4%), *mefA*のみを有する株は138株 (37%), *ermB*のみを有する株は166株 (44%), 両方の遺伝子を有する株は45株 (12%) であった。PBP遺伝子変異とマクロライド耐性遺伝子の両方を有する株は338株 (90%) であった。血清型は, 19型 (92株; 24%), 23型 (60株; 16%), 6型 (56株; 15%) の順に多く, PRSPでは19型及び6型で80%を占めた。

各種抗菌薬のMIC<sub>90</sub>は, imipenem, panipenem, garenoxacin; 0.1 $\mu$ g/mL, moxifloxacin; 0.2 $\mu$ g/mL, meropenem, tosufloxacin; 0.39 $\mu$ g/mL, amoxicillin, clavulanic acid/amoxicillin, cefditoren, cefcapene; 0.78 $\mu$ g/mL, PCG, piperacillin, cefteteram, levofloxacin; 1.56 $\mu$ g/mL, cefotiam, flomoxef, pazufloxacin; 3.13 $\mu$ g/mL, cefdinir; 6.25 $\mu$ g/mL, norfloxacin, minocycline; 12.5 $\mu$ g/mL, clarithromycin; >100 $\mu$ g/mLであり, いずれの薬剤も2004年の結果とほぼ同程度であった。

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) は呼吸器感染症及び中耳炎や髄膜炎などの主要起因菌であり,  $\beta$ -ラクタム系薬及びマクロライド系薬などへの多剤耐性化が臨床的な問題となっている<sup>1)</sup>。近年では, 分離頻度は低いものの, キノロン耐性株が徐々に分離されてきており<sup>2,3)</sup>, 薬剤感受性動向には留意する必要がある。

これまで東海アンチバイオグラム研究会では, 岐阜県の1999年<sup>4)</sup>, 2002年<sup>5)</sup>, 2004年<sup>6)</sup>, 2006年<sup>7)</sup>における*S. pneumoniae*の分離状況及び各種抗菌薬に対する薬剤感受性について報告してきた。今回, 2008年~2009年に岐阜及び愛知県内で分離された*S. pneumoniae*について分離状況及び各種抗菌薬に対する薬剤感受性を調査し, 2004年分離株の調査結果との比較により耐性化動向を検討したので報告する。

## I. 材料及び方法

### 1. 使用菌株

2008年6月~2009年4月に, 岐阜大学医学部附属病院, 公立学校共済組合東海中央病院 (岐阜地区), 岐阜県厚生農業協同組合連合会中濃厚生病院 (中濃地区), 岐阜県立多治見病院, 岐阜県厚生農業協同組合連合会東濃厚生病院 (東濃地区), 大垣市民病院 (西濃地区), 高山赤十字病院, 有限会社飛騨臨床検査センター (飛騨地区), 愛知医科大学病院 (愛知県), 松原耳鼻いんこう科医院 (開業医院) から分離された*S. pneumoniae* 377株を用いた。各施設でマイクロバンクに一時保存した菌株は, 5%綿羊脱繊維血液を添加したMueller Hinton寒天培地 (MHA) 上で純粋培養後, 同寒

天平板上で増菌し、5代継代以内の単一コロニーを試験に使用した。

## 2. 使用抗菌薬

$\beta$ -ラクタム系薬としてbenzylpenicillin (PCG: Meiji Seika ファルマ), amoxicillin (AMPC: 和光純薬工業), clavulanic acid/amoxicillin (1:14; CVA/AMPC, CVA: 和光純薬工業), piperacillin (PIPC: 富山化学工業), ceftoram (CFTM: 富山化学工業), cefditoren (CDTR: Meiji Seika ファルマ, 市販品より抽出), cefcapene (CFPN: 塩野義製薬, 市販品より抽出), cefdinir (CFDN: Sigma-Aldrich), cefotiam (CTM: 武田薬品工業), flomoxef (FMOX: 塩野義製薬), imipenem (IPM: MSD), meropenem (MEPM: 大日本住友製薬), panipenem (PAPM: 第一三共) を, キノロン系薬として garenoxacin (GRNX: 富山化学工業), tosufloxacin (TFLX: 富山化学工業), pazufloxacin (PZFX: 富山化学工業), moxifloxacin (MFLX: バイエル薬品, 市販品より抽出), levofloxacin (LVFX: Chem-Impex International), norfloxacin (NFLX: Sigma-Aldrich) を, その他の系統として clarithromycin (CAM: LKT Laboratories) 及び minocycline (MINO: ファイザー) を使用した。

## 3. 薬剤感受性測定

最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) の測定は, 日本化学療法学会に準拠した,  $10^6$ CFU/mL 接種の寒天平板希釈法<sup>8)</sup>で行った。測定培地には5%綿羊脱纖維血液加MHAを用いた。PCGに対する耐性基準は, 既報<sup>4-7)</sup>との比較により幅広く薬剤耐性動向を把握するため, 2007年のCLSI (M100-S17)<sup>9)</sup> 基準を参考に, 以下のように設定した。すなわち, PCGのMICが $0.05\mu\text{g/mL}$ 以下をペニシリン感性 *S. pneumoniae* (penicillin-susceptible *S. pneumoniae*: PSSP),  $0.1\sim 0.78\mu\text{g/mL}$ をペニシリン中等度耐性

*S. pneumoniae* (penicillin-intermediate *S. pneumoniae*: PISP) 及び $1.56\mu\text{g/mL}$ 以上をペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (penicillin-resistant *S. pneumoniae*: PRSP) とした。

## 4. ペニシリン結合蛋白質遺伝子及びマクロライド耐性遺伝子の検討

ペニシリン結合蛋白質 (penicillin-binding protein: PBP) 遺伝子及びマクロライド耐性遺伝子 (*mefA*, *ermB*) の検出には, ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) 遺伝子検出試薬 ver. 2.0 (湧永製薬) を用い, PCR法にて行った。PBP遺伝子変異については, 生方ら<sup>10)</sup>の基準に従い, *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x*の3つの遺伝子のうち, いずれの遺伝子にも変異を有さない株をgPSSP, 少なくとも1つ変異を有する株をgPISP, 3つ全てに変異を有する株をgPRSPとした。

## 5. 血清型別試験

血清型は, 肺炎球菌莢膜型別用免疫血清「生研」(デンカ生研) を用いて決定した。

## II. 結果

### 1. 被験菌株の施設構成と検体の背景

調査した *S. pneumoniae* 377株の分離施設別内訳は, 岐阜大学医学部附属病院49株, 東海中央病院18株, 中濃厚生病院50株, 岐阜県立多治見病院50株, 東濃厚生病院9株, 大垣市民病院48株, 高山赤十字病院48株, 飛騨臨床検査センター43株, 愛知医科大学病院12株, 松原耳鼻いんこう科医院50株であった。

材料別分離株数は, 鼻腔138株 (37%), 喀痰95株 (25%), 咽頭69株 (18%), 耳漏49株 (13%), 血液11株 (2.9%), その他 (眼, 髄液, 膿, 皮膚及び膣) 15株 (4.0%) であった。

**2. PSSP, PISP及びPRSPの分離頻度**

*S. pneumoniae* 377株に対するPCGのMIC分布を2004年時の結果と併せてFig. 1に示す。今回の調査では、PSSPは143株 (38%), PISPは185株 (49%), PRSPは49株 (13%) で、2004年と比べてPSSPが30%から38%に増加し、PRSPが19%から13%に減少した。

**1) 材料別分離頻度**

材料別のPSSP, PISP及びPRSPの分離頻度をTable 1に示す。PRSPの分離頻度は、鼻腔、咽頭

及び喀痰由来株では11~18%でほぼ同程度であったが、耳漏由来株では4.1%と低かった。PSSPの分離頻度は、喀痰由来株で51%と最も高かった。2004年<sup>6)</sup> と比べ、鼻腔及び咽頭由来株ではPSSPの分離頻度が増加傾向、PRSPが減少傾向を示した。

**2) 地区別分離頻度**

地区別のPSSP, PISP及びPRSPの分離頻度をTable 2に示す。PRSPの分離頻度は中濃地区で32%と最も高く、岐阜、東濃及び飛騨地区では

Fig. 1. *S. pneumoniae* に対するPCGのMIC分布 (2004年との比較)

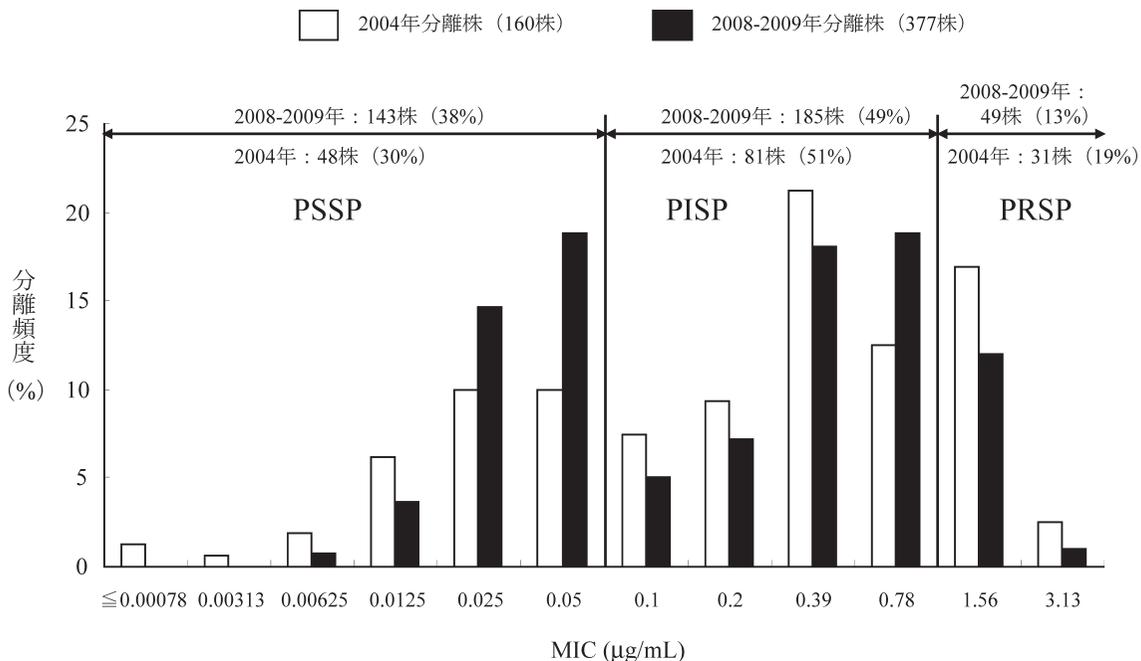


Table 1. 材料別におけるPSSP, PISP及びPRSPの分離頻度

材料	PSSP		PISP		PRSP		株数
鼻腔	40	(29%)	73	(53%)	25	(18%)	138
喀痰	48	(51%)	37	(39%)	10	(11%)	95
咽頭	23	(33%)	36	(52%)	10	(14%)	69
耳漏	24	(49%)	23	(47%)	2	(4.1%)	49
その他	8	(31%)	16	(62%)	2	(7.7%)	26
全体	143	(38%)	185	(49%)	49	(13%)	377

Table 2. 各地区における PSSP, PISP 及び PRSP の分離頻度

地区	PSSP		PISP		PRSP		株数
	株数	(%)	株数	(%)	株数	(%)	
岐阜	25	(37%)	36	(54%)	6	(9.0%)	67
中濃	16	(32%)	18	(36%)	16	(32%)	50
西濃	18	(38%)	21	(44%)	9	(19%)	48
東濃	24	(41%)	30	(51%)	5	(8.5%)	59
飛騨	39	(43%)	48	(53%)	4	(4.4%)	91
愛知	7	(58%)	5	(42%)	-	-	12
開業	14	(28%)	27	(54%)	9	(18%)	50
全体	143	(38%)	185	(49%)	49	(13%)	377

Table 3. 各地区における PBP 遺伝子変異別の分離頻度

地区	PBP 遺伝子変異による耐性分類							株数
	gPSSP		gPISP				gPRSP	
	No mutation	<i>pbp2x</i>	<i>pbp2b</i>	<i>pbp1a</i> <i>pbp2x</i>	<i>pbp2x</i> <i>pbp2b</i>	<i>pbp1a</i> <i>pbp2x</i> <i>pbp2b</i>		
岐阜	2 (3.0%)	23 (34%)	-	-	3 (4.5%)	4 (6.0%)	35 (52%)	67
中濃	1 (2.0%)	12 (24%)	-	-	5 (10%)	5 (10%)	27 (54%)	50
西濃	1 (2.1%)	13 (27%)	-	-	6 (13%)	4 (8.3%)	24 (50%)	48
東濃	5 (8.5%)	19 (32%)	-	-	7 (12%)	6 (10%)	22 (37%)	59
飛騨	12 (13%)	23 (25%)	1 (1.1%)	-	4 (4.4%)	9 (9.9%)	42 (46%)	91
愛知	2 (17%)	4 (33%)	-	-	-	2 (17%)	4 (33%)	12
開業	-	14 (28%)	-	-	5 (10%)	4 (8.0%)	27 (54%)	50
全体	23 (6.1%)	108 (29%)	1 (0.27%)	-	30 (8.0%)	34 (9.0%)	181 (48%)	377

9.0%, 8.5% 及び 4.4% と低かった。愛知地区では株数が少なく、明確な傾向を把握できないものの、PRSP は分離されなかった。2004年<sup>6)</sup> と比べ、西濃地区では他地区に比べて PRSP の分離頻度が増加しており (4.2% → 19%)、岐阜、中濃及び東濃地区では減少傾向を示した。

### 3. PBP 遺伝子の変異状況

PBP 遺伝子の変異状況を Table 3 に示す。全 377 株のうち、gPSSP は 23 株 (6.1%)、gPISP 及び gPRSP がそれぞれ 173 株 (46%)、181 株 (48%) であり、2004年<sup>6)</sup> の結果とほぼ同程度であった。地区別で見ると、東濃及び愛知地区以外における gPRSP の分離頻度は約半数を占めていた。岐阜

地区では 2004年<sup>6)</sup> に比べ、gPRSP の分離頻度が大幅に減少していたが (73% → 52%)、飛騨地区では増加していた (28% → 46%)。

### 4. マクロライド耐性遺伝子の保有状況

マクロライド耐性遺伝子の保有状況を Table 4 に示す。全 377 株のうち、*mefA* 及び *ermB* のいずれも有さない株は 28 株 (7.4%)、*mefA* のみを有する株は 138 株 (37%)、*ermB* のみを有する株は 166 株 (44%)、両方を有する株は 45 株 (12%) であり、2004年<sup>6)</sup> の結果とほぼ同程度であった。マクロライド耐性遺伝子の保有率は全体的に高く、地域間の差は認められなかった。

全 377 株のうち、PBP 遺伝子変異とマクロライ

Table 4. 各地区におけるマクロライド耐性遺伝子別の分離頻度

地区	マクロライド耐性遺伝子								株数
	None		<i>mefA</i>		<i>ermB</i>		<i>mefA</i> <i>ermB</i>		
岐阜	4	(6.0%)	28	(42%)	31	(46%)	4	(6.0%)	67
中濃	3	(6.0%)	16	(32%)	25	(50%)	6	(12%)	50
西濃	4	(8.3%)	15	(31%)	25	(52%)	4	(8.3%)	48
東濃	2	(3.4%)	27	(46%)	22	(37%)	8	(14%)	59
飛騨	13	(14%)	28	(31%)	34	(37%)	16	(18%)	91
愛知	-	-	6	(50%)	5	(42%)	1	(8.3%)	12
開業	2	(4.0%)	18	(36%)	24	(48%)	6	(12%)	50
全体	28	(7.4%)	138	(37%)	166	(44%)	45	(12%)	377

ド耐性遺伝子の両方を有する株は338株 (90%) であり、その中でも gPRSP で *mefA* 及び *ermB* の両方を有する株は40株 (11%) であった。

## 5. 血清型

全377株の血清型は、19型 (92株; 24%)、23型 (60株; 16%)、6型 (56株; 15%) が多く、73株 (19%) は型別不能であった。PSSP 143株では、19型 (22株; 15%)、9型 (12株; 8.4%)、6型 (10株; 7.0%) が多く、その他は3, 4, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 18, 22, 23, 29, 31, 34及び35型に分類された。PISP 185株では、23型 (57株; 31%)、19型 (54株; 29%)、6型 (23株; 12%)、15型 (11株; 5.9%) が多く、その他は7, 10, 11, 14, 21, 32, 33, 35及び46型に分類された。PRSP 49株では、6型 (23株; 47%) 及び19型 (16株; 33%) で80%を占め、その他は4, 10, 16, 23, 40及び41型に分類された。

## 6. 薬剤感受性

各種抗菌薬に対する *S. pneumoniae* 377株並びに PSSP 143株、PISP 185株、PRSP 49株の感受性分布及び MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> を Table 5~8 に示す。

全377株に対するペニシリン系薬の MIC<sub>90</sub> は、AMPC 及び CVA/AMPC で 0.78 µg/mL、PCG 及び PIPC で 1.56 µg/mL であった。PRSP に対するペニ

シリン系薬の MIC<sub>90</sub> は、PSSP の 32~64 倍であった。

セフェム系薬の MIC<sub>90</sub> は、CDTR 及び CFPN で 0.78 µg/mL、CFTM で 1.56 µg/mL、CTM 及び FMOX で 3.13 µg/mL、CFDN で 6.25 µg/mL であり、CDTR 及び CFPN が強い抗菌活性を示した。PRSP に対するセフェム系薬の MIC<sub>90</sub> は、PSSP の 4~32 倍であった。

カルバペネム系薬の MIC<sub>90</sub> は、IPM 及び PAPM で 0.1 µg/mL、MEPM で 0.39 µg/mL であり、良好な抗菌活性を示した。PRSP に対する MIC<sub>90</sub> は、いずれの薬剤でも PSSP の 32 倍であった。

キノロン系薬の MIC<sub>90</sub> は、GRNX が 0.1 µg/mL で最も低く、次いで MFLX が 0.2 µg/mL、TFLX が 0.39 µg/mL、LVFX が 1.56 µg/mL、PZFX が 3.13 µg/mL、NFLX が 12.5 µg/mL であった。いずれの薬剤においても、PSSP、PISP 及び PRSP に対する MIC<sub>50</sub> と MIC<sub>90</sub> に大きな差はなかった。

マクロライド系薬である CAM の MIC<sub>90</sub> は >100 µg/mL であった。テトラサイクリン系薬である MINO の MIC<sub>90</sub> は 12.5 µg/mL であった。

2004年<sup>6)</sup>の結果と比べて、MIC<sub>50</sub> 及び MIC<sub>90</sub> に大きな変動が見られる薬剤はなかった。また、今回の調査では、2004年には分離されなかった LVFX 耐性株 (LVFX の MIC: 12.5 µg/mL) が1株分離された。

Table 5. 各種抗菌薬に対する *S. pneumoniae* 377 株の感受性分布及びMIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>

薬剤	MIC (µg/mL)														MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>				
	≤0.00078	0.00156	0.00313	0.00625	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25			12.5	25	50	100
PCG	3	14	55	71	19	27	68	71	45	4									0.2	1.56
AMPC	3	28	95	29	15	58	59	69	15	5	1								0.2	0.78
CVA/AMPC*	4	30	94	28	16	61	54	71	14	3	2								0.2	0.78
PIP	3	18	75	44	12	10	25	67	89	30	4								0.78	1.56
CFTM	1	14	3	7	30	54	84	119	50	9	5	1							0.39	1.56
CDTR	1	14	3	14	72	85	138	40	7	1	2								0.2	0.78
CFPN	3	12	3	6	29	83	144	81	10	3	1	1							0.39	0.78
CFDN					16	11	54	70	23	92	65	39	5	2					1.56	6.25
CTM					1	78	68	59	29	38	68	33	2	1					0.39	3.13
FMOX					1	60	105	28	58	52	58	12	3						0.39	3.13
IPM	54	94	33	43	26	91	33	3											0.025	0.1
MEPM	12	120	27	41	48	83	44	1	1										0.05	0.39
PAPM	1	24	33	42	20	95	37	2											0.0125	0.1
GRNX					18	171	178	9	1										0.05	0.1
TFLX					58	275	43	1											0.2	0.39
PZFX									32	318	26	1							3.13	3.13
MFLX					4	102	259	11	1										0.2	0.2
LVFX								1	176	199	1								1.56	1.56
NFLX									1	44	119	178	23	11	1				12.5	12.5
CAM					5	23	3	19	73	46	23	19	14	6	32	31			1.56	>100
MINO					1	28	12	2	1	2	10	70	128	115	8				6.25	12.5

\*: CVA:AMPC=1:14

Table 6. 各種抗菌薬に対する PSSP 143 株の感受性分布及びMIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>

薬剤	MIC (µg/mL)																MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>			
	≤0.00078	0.00156	0.00313	0.00625	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25			50	100	>100
PCG	3	14	55	71																0.025	0.05
AMPC	3	28	91	19	2															0.025	0.05
CVA/AMPC*	4	30	89	18	2															0.025	0.05
PIP	3	18	69	37	9	3	2	2												0.025	0.1
CFTM	1	14	2	6	23	42	40	11	4											0.2	0.78
CDTR	1	14	3	9	59	41	14	2												0.1	0.39
CFPN	3	12	3	3	20	53	44	5												0.2	0.39
CFDN				16	9	48	57	6	7											0.2	0.39
CTM				1	78	48	4	11	1											0.1	0.39
FMOX				1	57	81	4													0.2	0.2
IPM	53	85	3	2																0.00625	0.00625
MEPM	12	118	10	2	1															0.0125	0.0125
PAPM	1	24	112	4	2															0.00313	0.00313
GRNX				4	74	62	3													0.05	0.1
TFLX				20	105	18														0.2	0.39
PZFX									8	124	11									3.13	3.13
MFLX				44	98	1														0.2	0.2
LVFX									73	70										0.78	1.56
NFLX									14	53	56	9	10	1						12.5	25
CAM				4	20	1	17	13	14	9	12	6	3	15	8	21				3.13	>100
MINO				1	26	5	1	1	2	18	32	52	5							6.25	12.5

\*: CVA:AMPC=1:14

Table 7. 各種抗菌薬に対するPISP 185株の感受性分布及びMIC<sub>50</sub>・MIC<sub>90</sub>

薬剤	MIC (µg/mL)														MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>					
	≤0.00078	0.00156	0.00313	0.00625	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25			12.5	25	50	100	>100
PCG							19	27	68	71										0.39	0.78
AMPC				4	10	13	58	59	36	5										0.39	0.78
CVA/AMPC*				5	10	14	61	54	36	5										0.39	0.78
PIP				6	7	3	7	23	65	65	8	1								0.78	1.56
CFTM				1	1	7	12	44	85	27	6	2								0.78	1.56
CDTR				5	13	44	102	18	3											0.39	0.78
CFPN				3	9	30	77	58	6	1	1									0.39	0.78
CFDN				2	6	6	13	17	85	50	12									1.56	3.13
CTM							20	55	18	36	48	8								0.78	3.13
FMOX				3	24	24	24	58	50	21	5									0.78	3.13
IPM	1	9	30	41	26	73	5													0.05	0.1
MEPM				2	17	39	47	71	9											0.1	0.2
PAPM	11	29	40	20	75	10														0.025	0.05
GRNX				11	81	89	4													0.1	0.1
TELX							31	132	22											0.2	0.39
PZFX													20	156	9					3.13	3.13
MFLX				3	50	124	8													0.2	0.2
LVFX										1	86	98								1.56	1.56
NFLX													25	56	95	9				12.5	12.5
CAM				1	3	2	19	43	22	6	10	6	8	1	17	21	26		1.56	>100	
MINO				2	4					1	6	39	84	48	1					6.25	12.5

\*: CVA:AMPC=1:14

Table 8. 各種抗菌薬に対する PRSP 49 株の感受性分布及び MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>

薬剤	MIC (µg/mL)														MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>					
	≤0.00078	0.00156	0.00313	0.00625	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25			12.5	25	50	100	>100
PCG											45	4								1.56	1.56
AMPC										33	10	5	1							0.78	3.13
CVA/AMPC*										35	9	3	2							0.78	3.13
PPC										24	22	3								3.13	3.13
CFTM										23	19	3	3	1						1.56	3.13
CDTR									22	20	4	1	2							0.78	1.56
CFPN									23	18	4	2	1	1						0.78	1.56
CFDN											15	27	5	2						6.25	12.5
CTM										1	20	25	2	1						6.25	6.25
FMOX										2	37	7	3							3.13	6.25
IPM									18	28	3									0.2	0.2
MEPM									12	35	1	1								0.39	0.39
PAPM									20	27	2									0.1	0.1
GRNX								3	16	27	2	1								0.1	0.1
TELX									7	38	3	1								0.2	0.2
PZFX										4	38	6	1							3.13	6.25
MFLX								1	8	37	2	1								0.2	0.2
LVFX										17	31	1								1.56	1.56
NFLX										1	5	10	27	5	1					12.5	25
CAM										13	11	3	4	1	2			2	13	1.56	>100
MINO								3	2		2	13	12	15	2					6.25	12.5

\*: CVA:AMPC=1:14

### III. 考察

我々はこれまでに岐阜県内で分離された各種病原細菌について継続的なサーベイランスを実施してきた<sup>4-7,11-14</sup>。このような地域に根ざした継続的サーベイランスは、流行クローンの早期発見、耐性菌出現の抑制、迅速かつ適正な治療に繋がる有用な情報として直接地域に還元することができる。*S. pneumoniae*に関しては、1999年より同地域でサーベイランスを実施しており<sup>4-7</sup>、今回我々は、2008年～2009年に岐阜及び愛知県内で分離された*S. pneumoniae* 377株の各種抗菌薬に対する感受性を測定し、2004年に分離された*S. pneumoniae* 160株の測定結果と比較した。

近年の全国サーベイランスでは、PISPとPRSPを合わせた比率（耐性率）は減少しており<sup>3</sup>、耐性化の進行に歯止めが掛かっている状況である。岐阜県下におけるPCGに対する耐性率は、1999年から2004年にかけて増加傾向であった（1999年：63%→2004年：70%）<sup>6</sup>が、2008～2009年分離株では62%と減少しており、全国サーベイランスの傾向と一致するものであった。今回の調査結果について、現在のCLSI (M100-S19)<sup>15</sup>基準を参考にPCGのMICが1.56 $\mu$ g/mL以下をPSSP、3.13 $\mu$ g/mLをPISP、6.25 $\mu$ g/mL以上をPRSPとした場合、4株（1.1%）がPISPに分類され、PRSPに分類される株はなかった。一方、生方ら<sup>10</sup>の基準による遺伝子上の分類では、gPISPとgPRSPの分離頻度を合わせた耐性率は94%であり、2004年の結果と変わらず高い値を示した。日本では、欧米に比べてセフェム耐性に関与する*pbp2x*変異株の分離頻度が高く、MICではPCGに対して感受性を示しても、セフェム系薬に低感受性を示す株が多く分離されている<sup>16,17</sup>。今回の調査でも*pbp2x*変異株の分離頻度は高く、ペニシリン系薬に対する*pbp2x*単独変異株のMIC<sub>50</sub>が

gPSSPの1～4倍であるのに対し、経口セフェムでは8～16倍であった（成績未提示）。MICでのPCGに対する耐性率は減少傾向を示したが、PBP遺伝子変異株の分離頻度は依然として高く、PCGのみならずセフェム系薬に対する感受性動向についても注意が必要である。

PRSPの地区別分離頻度は、中濃地区で高く、飛騨地区では低かった。これは2004年分離株と同様の傾向<sup>6</sup>であったが、岐阜地区では大幅に減少し（35%→9.0%）、西濃地区では増加していた（4.2%→19%）。各地域における薬剤の使用状況は不明であるが、地域によって感受性動向に差が認められており、今後も継続的な調査が必要と考えられた。

日本で多く分離される*S. pneumoniae*の血清型は、19F、6B及び23F型である<sup>18-21</sup>。今回の調査では、19、6及び23型の分離頻度が高く、同様の傾向を示した。現在、日本で承認されている23価ポリサッカライドワクチン及び小児適応の7価コンジュゲートワクチンはいずれも19F、6B及び23F型をカバーしており、これら分離頻度の高い血清型に関しては、ワクチンの効果が期待できる。実際、アメリカでは7価ワクチン導入後にワクチン含有血清型株による疾患率の減少が認められている<sup>22</sup>。しかし、その一方でワクチン非含有血清型である19A型が増加し、それらの多くがペニシリン非感受性であることが問題となっている<sup>23</sup>。今回の検討では、少数ながらワクチン非含有血清型株が分離されたが、亜型の特定を行っておらず、正確なワクチンカバー率を把握できなかった。今後は、国内におけるワクチンの有効性及びワクチン非含有血清型株の動向を把握するために、亜型の特定まで含んだ詳細な検討を継続的に実施していく必要があると考えられた。

2004年の結果と比べて各種抗菌薬のMIC<sub>50</sub>及びMIC<sub>90</sub>に大きな変動は見られなかった。しかし、セフェム系薬ではMIC rangeが2004年と比べて

耐性側に1管以上上昇している薬剤が多く見られ、緩やかながら耐性化が進行していると考えられた。 $\beta$ -ラクタム系薬の中では、カルバペネム系薬が比較的良好的な抗菌活性を示したが、PSSP、PISP及びPRSPの感受性に差が認められ、PISP及びPRSPのMIC<sub>90</sub>はPSSPの16~32倍であった。一方、キノロン系薬はPSSP、PISP及びPRSPの感受性に大きな差は認められず、良好的な抗菌活性を示した。

今回、2004年には分離されなかったLVFX耐性株が1株分離された。その分離頻度は0.27%で、2006年の耐性分離率1.7%<sup>7)</sup>より低く、耐性化の進行は認められなかった。全国及び他の地域におけるLVFX耐性率は1.2~1.6%であり<sup>3,24,25)</sup>、今回の調査における岐阜及び愛知県内のLVFX耐性率は極めて低かった。今回、唯一分離されたLVFX耐性株に対する各種キノロン薬のMICは、LVFXで12.5  $\mu$ g/mL、GRNXで0.78  $\mu$ g/mL、TFLXで1.56  $\mu$ g/mL、MFLXで3.13  $\mu$ g/mL、PZFX及びNFLXで50  $\mu$ g/mLであり、GRNXが最も低かった。また、PCGのMICは1.56  $\mu$ g/mLであった。キノロン耐性の主要メカニズムとして、DNAジャイレース(GyrA, GyrB)及びトポイソメラーゼIV(ParC, ParE)のキノロン耐性決定領域(quinolone resistance-determining region: QRDR)におけるアミノ酸変異が知られている<sup>26)</sup>。今回分離されたLVFX耐性株について各サブユニットのQRDR変異を確認したところ<sup>27)</sup>、ParCのSer-79がTyrに変異しており、その他にアミノ酸変異は認められなかった(成績未提示)。これまでに分離されているLVFX耐性株の多くはQRDRに2箇所以上変異を有しており、今回のように1変異のみで耐性を示す株は少なく、1変異株の多くは感受性を示す<sup>24,28,29)</sup>。日本ではLVFX感受性株のうち、QRDRに1箇所変異を有している株は約6%とそれほど高くはないが<sup>3)</sup>、このような株はLVFX作用によりさらにQRDRに変異が加わり、耐性化しやすく<sup>30)</sup>、海外では治療失敗例も報告されている

ため<sup>31)</sup>、今後もキノロン感受性の動向には注意が必要である。

以上、今回の調査では、2004年の結果と比較して各種抗菌薬の薬剤感受性について大きな変化は認められなかったが、地域間で薬剤感受性の動向に差が認められた。今後も継続的にサーベイランスを実施し、感受性動向に注視していきたい。

## 文献

- 1) 賀来満夫, 金光敬二, 國島広之, 他: 肺炎球菌およびインフルエンザ菌における薬剤耐性の検討—開業医および大学病院臨床分離株での比較—. 化学療法の領域23: 1318~1326, 2007
- 2) NIKI, Y.; H. HANAKI, T. MATSUMOTO, *et al.*: Nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the Japanese Society of Chemotherapy in 2007: general view of the pathogens' antibacterial susceptibility. *J. Infect. Chemother.* 15: 156~167, 2009
- 3) 山口恵三, 大野 章, 石井良和, 他: 2007年に全国72施設から分離された臨床分離株12,919株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *Jpn. J. Antibiotics* 62: 346~370, 2009
- 4) 石郷潮美, 玉舎輝彦, 松原茂規, 他: 岐阜県下における肺炎球菌の検出状況と各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *Jpn. J. Antibiotics* 53: 652~659, 2000
- 5) 三嶋廣繁, 末松寛之, 田中香お里, 他: 岐阜県下における肺炎球菌の疫学解析—2002年—. *Jpn. J. Antibiotics* 57: 172~186, 2004
- 6) 満山順一, 山岡一清, 浅野裕子, 他: 岐阜県下における肺炎球菌の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス—2004年—. *Jpn. J. Antibiotics* 59: 137~151, 2006
- 7) 松川洋子, 山岸由佳, 三嶋廣繁, 他: 岐阜県下における肺炎球菌の疫学解析. *Jpn. J. Antibiotics* 63: 224~241, 2010
- 8) 日本化学療法学会: 抗菌薬感受性測定法検討委員会最終報告(2007年). 日本化学療法学会雑誌56: 49~57, 2008
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Seventeenth Informational Supplement. M100-S17, 2007
- 10) UBUKATA, K.; T. MURAKI, A. IGARASHI, *et al.*: Identification of penicillin and other beta-lactam

- resistance in *Streptococcus pneumoniae* by polymerase chain reaction. *J. Infect. Chemother.* 3: 190~197, 1997
- 11) 田中知暁, 満山順一, 山岡一清, 他: 岐阜県下で分離されたグラム陰性菌に対するフルオロキノロン系薬の抗菌力 (2005年)。*Jpn. J. Antibiotics* 60: 141~152, 2007
  - 12) 帰山 誠, 水永真吾, 満山順一, 他: 岐阜県下で分離されたインフルエンザ菌の感受性サーベイランス (2006)。*Jpn. J. Antibiotics* 61: 195~208, 2008
  - 13) 河元宏史, 野村伸彦, 満山順一, 他: 岐阜県下より分離されたStreptococciに対する各種抗菌薬の感受性サーベイランス (2005年~2007年)。*Jpn. J. Antibiotics* 62: 509~524, 2009
  - 14) 河元宏史, 野村伸彦, 満山順一, 他: 血液材料より分離された肺炎球菌に対する各種抗菌薬の抗菌活性及びモンテカルロシミュレーションを用いたレスピラトリーキノロン薬の有効性評価。*Jpn. J. Antibiotics* 63: 1~10, 2010
  - 15) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Nineteenth Informational Supplement. M100-S19, 2009
  - 16) 生方公子, 小林玲子, 千葉菜穂子, 他: 本邦において1998年から2000年の間に分離された*Streptococcus pneumoniae*の分子疫学解析。日本化学療法学会雑誌 51: 60~70, 2003
  - 17) 西村龍夫, 深澤 満, 吉田 均, 他: 小児科外来で経験した肺炎球菌occult bacteremia症例の臨床疫学的検討。日本小児科学会雑誌112: 973~980, 2008
  - 18) CHIBA, N.; R. KOBAYASHI, K. HASEGAWA, *et al.*: Antibiotic susceptibility according to genotype of penicillin-binding protein and macrolide resistance genes, and serotype of *Streptococcus pneumoniae* isolates from community-acquired pneumonia in children. *J. Antimicrob. Chemother.* 56: 756~760, 2005
  - 19) 坂田 宏, 生方公子, 千葉菜穂子: 侵襲性肺炎球菌感染症の小児から分離された*Streptococcus pneumoniae*の血清型と耐性遺伝子の検討。感染症学雑誌80: 91~96, 2006
  - 20) 神谷 齊, 加藤達夫, 富樫武弘, 他: 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。感染症学雑誌 81: 59~66, 2007
  - 21) SAKAI, F.; N. CHIBA, A. ONO, *et al.*: Molecular epidemiologic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis in Japan from 2007 through 2009. *J. Infect. Chemother.* doi:10.1007/s10156-010-0180-3
  - 22) KYAW, M. H.; R. LYNFIELD, W. SCHAFFNER, *et al.*: Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N. Engl. J. Med.* 354: 1455~1463, 2006
  - 23) CDC: Emergence of antimicrobial-resistant serotype 19A *Streptococcus pneumoniae*—Massachusetts, 2001–2006. *MMWR* 56: 1077~1080, 2007
  - 24) 横田伸一, 佐藤 清, 吉田 繁, 他: フルオロキノロン耐性*Streptococcus pneumoniae*の検出状況と分子疫学的検討。感染症学雑誌78: 428~434, 2004
  - 25) 佐藤かおり, 小松 方, 島川宏一, 他: 近畿地区で分離された*Streptococcus pneumoniae*の抗菌薬耐性状況 (2003年~2004年)。*Jpn. J. Antibiotics* 58: 221~230, 2005
  - 26) 平井敬二: キノロン系薬の作用機序と耐性機構研究の歴史。日本化学療法学会雑誌53: 349~356, 2005
  - 27) PAN, X. S.; J. AMBLER, S. MEHTAR, *et al.*: Involvement of topoisomerase IV and DNA gyrase as ciprofloxacin targets in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 2321~2326, 1996
  - 28) RICHTER, S. S.; K. P. HEILMANN, S. E. BEEKMANN, *et al.*: The molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* with quinolone resistance mutations. *Clin. Infect. Dis.* 40: 225~235, 2005
  - 29) BRUEGGEMANN, A. B.; S. L. COFFMAN, P. RHOMBERG, *et al.*: Fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* in United States since 1994–1995. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 680~688, 2002
  - 30) 宮本仁志, 村瀬光春: *Streptococcus pneumoniae*におけるgyrA遺伝子およびparC遺伝子の遺伝子変異について。感染症学雑誌 77: 133~137, 2003
  - 31) DE CUETO, M.; J. M. RODRIGUEZ, M. J. SORIANO, *et al.*: Fatal levofloxacin failure in treatment of a bacteremic patient infected with *Streptococcus pneumoniae* with a preexisting parC mutation. *J. Clin. Microbiol.* 46: 1558~1560, 2008

## Sensitivity surveillance of *Streptococcus pneumoniae* isolates for several antibacterial agents in Gifu and Aichi prefecture (2008~2009)

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd.,  
Working Group of Tokai Anti-biogram Study Group

YURI FURUYA, YOSHIKO FUKUDA,  
NOBUHIKO NOMURA and JUNICHI MITSUYAMA

Research Laboratories,  
Toyama Chemical Co., Ltd.

YUKO ASANO

Department of Clinical Laboratory Medicine,  
Ogaki Municipal Hospital

HIROYUKI SUEMATSU

Clinical Laboratories, Chuno Kosei Hospital

YUUKI KAWAHARA

Takayama Red Cross Hospital

SHIGENORI MATSUBARA

Matsubara Otorhinolaryngology Clinic

TORU ARAI

Tohno Kosei Hospital

KUNITOMO WATANABE

Division of Anaerobe Research, Life  
Science Research Center, Gifu University

KAZUKIYO YAMAOKA

Gifu University of Medical Science

HARUKI SAWAMURA

Gifu University School of Medicine

MAYUMI TERAJI

Hida Medical Laboratory

YOKO MATSUKAWA

Clinical Laboratories,  
Gifu Prefectural Tajimi Hospital

TAKANORI MIYABE

Clinical Laboratories, Tokai Central Clinical  
Laboratories, Tokai Central Hospital

HIROSHIGE MIKAMO

Department of Infection Control and  
Prevention, Aichi Medical University

We investigated the susceptibility to antibacterials, genotype of penicillin-binding protein (PBP) genes and macrolide resistant genes, and the serotypes against 377 strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated from medical facilities in Gifu and Aichi prefectures between June 2008 and April 2009. These results were compared with those against 160 strains of *S. pneumoniae* isolated in 2004.

Referring to CLSI (M100-S17), the overall incidence of penicillin-susceptible (PSSP), penicillin-intermediate (PISP) and penicillin-resistant (PRSP) *S. pneumoniae* was 143 (38%), 185 (49%) and 49 (13%) strains, respectively. PISP and PRSP were isolated higher in the material of nasal cavity and throat, and PRSP was isolated higher in the area of Chuno district.

The number of gPSSP with 3 normal PBP genes, gPISP with 1 or 2 normal PBP genes and gPRSP with 3 abnormal genes was 23 (6.1%), 173 (46%) and 181 (48%) strains, respectively. The isolates with no macrolide-resistant gene, only *mefA*, only *ermB*, and both *mefA* and *ermB* were 28 (7.4%), 138 (37%), 166 (44%) and 45 (12%). The prevalent pneumococcal serotypes were type 19 (92 strains; 24%), following by type 23 (60 strains; 16%) and type 6 (56 strains; 15%). The 80% of pneumococcal serotypes of PRSP were serotype 19 and 6.

The MIC<sub>90</sub> of each antibacterial was as follows; 0.1 µg/mL for imipenem, panipenem and garenoxacin, 0.2 µg/mL for moxifloxacin, 0.39 µg/mL for meropenem and tosusfloxacin, 0.78 µg/mL for amoxicillin, clavulanic acid/ amoxicillin, cefditoren and cefcapene, 1.56 µg/mL for benzylpenicillin, piperacillin, ceftoram and levofloxacin, 3.13 µg/mL for cefotiam, flomoxef and pazufloxacin, 6.25 µg/mL for cefdinir, 12.5 µg/mL for norfloxacin and minocycline, >100 µg/mL for clarithromycin, and these MIC<sub>90</sub>s were about the same as those in 2004.