

岐阜及び愛知県下で分離された小児由来 *Haemophilus influenzae* の 感受性サーベイランス (2009～2010)

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

高倉真理子・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

山岡一清
岐阜医療科学大学衛生技術学科

浅野裕子
大垣市民病院医療技術部

澤村治樹
愛知医科大学病院中央臨床検査部

桂川晃一
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

橋渡彦典
高山赤十字病院検査部

松川洋子
岐阜県立多治見病院臨床検査部

松原茂規
松原耳鼻いんこう科医院

太田浩敏
岐阜大学医学部附属病院検査部

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

山岸由佳
愛知医科大学病院感染制御部

三嶋廣繁
愛知医科大学大学院医学研究科感染制御学

(2012年7月12日受付)

岐阜及び愛知県下の医療施設において、2009～2010年に分離・同定された小児由来 *Haemophilus influenzae* 197株の血清型、各種抗菌薬に対する感受性、 β -lactamase (BL) 産生の有無及びpenicillin-binding protein 3をコードする *ftsI* 遺伝子変異の有無、TEM型BL産生遺伝子の有無について検討した。

血清型別分離株数及び頻度は non-typeable が 177株 (89.8%) で最も多く、次いでb型16株 (8.1%)、e型3株 (1.5%)、f型1株 (0.5%) の順であった。

薬剤感受性を指標に *H. influenzae* 197株を分類すると、 β -lactamase non-producing

ampicillin-susceptible *H. influenzae* (BLNAS) は 54 株 (27.4%), β -lactamase non-producing ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) は 123 株 (62.4%), β -lactamase producing ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLPAR) は 12 株 (6.1%), β -lactamase producing amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae* (BLPACR) は 8 株 (4.1%) であった。

ftsI 遺伝子の変異及び TEM 型 BL 産生遺伝子の有無に基づき *H. influenzae* 197 株を分類すると, gBLNAS は 34 株 (17.3%), gLow-BLNAR は 13 株 (6.6%), gBLNAR は 130 株 (66.0%), gBLPAR は 11 株 (5.6%), gBLPACR-II は 9 株 (4.6%) であり, gLow-BLNAR と gBLNAR を合わせた分離頻度 (72.6%) は薬剤感受性による BLNAR の分離頻度 (62.4%) に比べ高かった。

各種抗菌薬の MIC₉₀ は, tosufloxacin, garenoxacin で 0.0156 μ g/mL, levofloxacin, pazufloxacin で 0.0313 μ g/mL, norfloxacin で 0.0625 μ g/mL, tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), ceftriaxone で 0.25 μ g/mL, TAZ/PIPC (1:8), cefditoren で 0.5 μ g/mL, piperacillin, ceftoram, cefotaxime, meropenem, tebipenem, minocycline で 1 μ g/mL, doripenem で 2 μ g/mL, cefcapene, imipenem, azithromycin で 4 μ g/mL, sulbactam/ampicillin, clavulanic acid/amoxicillin (1:2, CVA/AMPC), cefdinir で 8 μ g/mL, CVA/AMPC (1:14), flomoxef, clarithromycin で 16 μ g/mL, ampicillin で 32 μ g/mL であった。

今回の検討では過去の検討と比べ薬剤耐性化に急速な進行は認められなかったが, 依然, BLNAR の分離頻度は 50% を上回っていた。適切な化学療法を行うためにも, 今後も定期的なサーベイランスを行い, *H. influenzae* の薬剤感受性動向を把握していくことが重要である。

Haemophilus influenzae は小児科領域において髄膜炎, 肺炎, 中耳炎などの主要な原因菌であり, 莢膜の有無により莢膜型と無莢膜型に分類される。莢膜型の中でも b 型は予後の悪い侵襲性感染症の原因菌であることが報告されている¹⁾。また, 1990 年代後半から β -lactamase non-producing ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) の増加により ampicillin 耐性だけでなくセフェム系やカルバペネム系抗菌薬にも低感受性を示す *H. influenzae* が増加しており, 本菌を原因菌とする重症感染症の難治化が懸念されている²⁾。

これまで, 我々は地域を限定したサーベイランスとして 1999~2000 年及び 2005~2006 年に岐阜県下の基幹病院及び臨床検査センター, 開業医院

より分離された *H. influenzae* の分離状況並びに各種抗菌薬に対する感受性を測定し, BLNAR の分離頻度が増加傾向にあることを報告してきた³⁾。今回, 我々は 2009~2010 年に岐阜及び愛知県下で分離された小児由来 *H. influenzae* の血清型及び各種抗菌薬に対する感受性を測定すると共に, β -lactamase (BL) 産生の有無及び penicillin-binding protein 3 (PBP3) をコードする *ftsI* 遺伝子変異の有無, TEM 型 BL 産生遺伝子の有無について検討した。また, 1999~2000 年及び 2005~2006 年分離株の薬剤感受性と比較し, その耐性化動向を調べたので報告する。

I. 材料及び方法

1. 使用菌株

2009～2010年に愛知医科大学病院，大垣市民病院，岐阜県立多治見病院，岐阜大学医学部附属病院，高山赤十字病院，中濃厚生病院，松原耳鼻いんこう科医院から分離された小児由来 *H. influenzae* 197株を用いた。各施設でマイクロバンクに保存した菌株は，寒天平板上で増菌し，5代継代以内の単一コロニーを各測定に使用した。

2. 使用抗菌薬

Ampicillin (ABPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), clavulanic acid/amoxicillin (CVA/AMPC), piperacillin (PIPC), tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), ceftoram (CFTM), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), cefdinir (CFDN), flomoxef (FMOX), ceftriaxone (CTRX), cefotaxime (CTX), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), tebipenem (TBPM), doripenem (DRPM), azithromycin (AZM), clarithromycin (CAM), minocycline (MINO), tosufloxacin (TFLX), norfloxacin (NFLX), garenoxacin, levofloxacin (LVFX), pazufloxacin (PZFX) の計26薬剤を用いた。SBT/ABPCはABPC換算，CVA/AMPCはAMPC換算，TAZ/PIPCはPIPC換算として最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) を測定した。なおCVA/AMPCは1:2または1:14の濃度比，TAZ/PIPCはTAZ濃度固定 (4 μ g/mL) または1:8の濃度比でMIC測定に使用した。

3. 薬剤感受性測定

MICの測定はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の方法に従い⁴⁾，*Haemophilus test medium* (HTM) を用いた微量液体希釈法で行っ

た。

CLSIのブレイクポイント⁵⁾を参考に，*H. influenzae*を以下のように分類した。すなわち，BL非産生でABPCのMICが1 μ g/mL以下の株を β -lactamase non-producing ampicillin-susceptible *H. influenzae* (BLNAS)，2 μ g/mL以上の株をBLNAR，BL産生でCVA/AMPC (1:2) のMICが4 μ g/mL以下の株を β -lactamase producing ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLPAR)，8 μ g/mL以上の株を β -lactamase producing amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae* (BLPACR) とした。なお，BL産生能は「IDENTIFICATION STICKS β -LACTAMASE (OXOID)」を用い，ニトロセフィン法により確認した。

4. *ftsI* 遺伝子の変異，TEM型BL産生遺伝子に関する検討

「インフルエンザ菌遺伝子検出試薬 (湧永製薬)」を用いてPBP3をコードしている *ftsI* 遺伝子の変異及びTEM型BL産生遺伝子の有無を確認し，生方らの報告を参考に⁶⁾ gBLNAS，gLow-BLNAR，gBLNAR，gBLPAR，gBLPACR-I，gBLPACR-IIの6種類に分類した。

5. 血清型判別

血清型の判別には，「インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清「生研」(デンカ生研)」を用いた。

II. 結果

1. 被験菌株の背景と血清型

2009～2010年に小児より分離された *H. influenzae* 197株の材料別分離株数及び頻度は，咽頭由来121株 (61.4%)，鼻腔由来58株 (29.4%)，耳漏・耳膿由来11株 (5.6%)，静脈血由来2株 (1.0%) その他5株 (2.5%) であった。また，年齢別分離株数及び頻度は，0歳36株 (18.3%)，1

表1. 2009～2010年に分離された小児由来 *H. influenzae* の耐性分類別分離株数及び頻度

耐性分類	分離株数 (分離頻度)	
	<i>H. influenzae</i> 197株	Hib 16株
BLNAS / gBLNAS	54 (27.4) / 34 (17.3)	9 (56.3) / 0 (0.0)
- / gLow-BLNAR	- / 13 (6.6)	- / 1 (6.3)
BLNAR / gBLNAR	123 (62.4) / 130 (66.0)	4 (25.0) / 12 (75.0)
BLPAR / gBLPAR	12 (6.1) / 11 (5.6)	3 (18.8) / 2 (12.5)
BLPACR / gBLPACR-II	8 (4.1) / 9 (4.6)	0 (0.0) / 1 (6.3)

歳46株 (23.4%), 2歳26株 (13.2%), 3歳20株 (10.2%), 4歳21株 (10.7%), 5歳23株 (11.7%), 6～15歳25株 (12.7%) であった。

H. influenzae 197株の内訳は、愛知医科大学病院6株、大垣市民病院27株、岐阜県立多治見病院50株、岐阜大学医学部附属病院13株、高山赤十字病院30株、中濃厚生病院45株、松原耳鼻いんこう科医院26株であった。

血清型別分離株数及び頻度は non-typeable が 177株 (89.8%) で最も多く、次いで b 型 16株 (8.1%), e 型 3株 (1.5%), f 型 1株 (0.5%) の順であった。また、b 型 16株のうち咽頭由来は 8株 (50.0%), 鼻腔由来は 4株 (25.0%), 静脈血由来は 2株 (12.5%), その他は 2株 (12.5%) であった。

2. 耐性分類別分離頻度

H. influenzae 197株及び b 型 *H. influenzae* (Hib) 16株の耐性分類別分離株数及び頻度を表1に示す。*H. influenzae* 197株の薬剤感受性による耐性分類別分離株数及び頻度は、BLNAS 54株 (27.4%), BLNAR 123株 (62.4%), BLPAR 12株 (6.1%), BLPACR 8株 (4.1%) であった。一方、遺伝子による耐性分類別分離株数及び頻度は、gBLNAS 34株 (17.3%), gLow-BLNAR 13株 (6.6%), gBLNAR 130株 (66.0%), gBLPAR 11株 (5.6%), gBLPACR-II 9株 (4.6%) であり、

gLow-BLNAR と gBLNAR を合わせた分離頻度 (72.6%) は薬剤感受性による BLNAR の分離頻度 (62.4%) に比べ高かった。

Hib 16株の薬剤感受性による耐性分類別分離株数及び頻度は、BLNAS 9株 (56.3%), BLNAR 4株 (25.0%), BLPAR 3株 (18.8%) であった。また、遺伝子による耐性分類別分離頻度は、gLow-BLNAR 1株 (6.3%), gBLNAR 12株 (75.0%), gBLPAR 2株 (12.5%), gBLPACR-II 1株 (6.3%) であり、gBLNAS は認められなかった。

3. 各種抗菌薬に対する感受性

2009～2010年に分離された小児由来 *H. influenzae* 197株、各耐性分類別及び Hib の各種抗菌薬に対する感受性分布、MIC₅₀ 及び MIC₉₀ を表2に示す。

全株に対する β -ラクタム系抗菌薬の MIC₅₀ は、PIPC, TAZ/PIPC, TAZ/PIPC (1:8) が 0.0625 μ g/mL で最も低く、CDTR, CTRX で 0.125 μ g/mL, MEPM で 0.25 μ g/mL, CFTM, CTX, TBPM で 0.5 μ g/mL, IPM, DRPM で 1 μ g/mL, CFPN で 2 μ g/mL, ABPC, SBT/ABPC, CVA/AMPC (1:2 及び 1:14), CFDN で 4 μ g/mL, FMOX で 8 μ g/mL であった。また、MIC₉₀ は TAZ/PIPC, CTRX が 0.25 μ g/mL で最も低く、TAZ/PIPC (1:8), CDTR で 0.5 μ g/mL, PIPC, CFTM, CTX, MEPM,

表2. *H. influenzae* 197株, 各耐性分類及びHibの各種抗菌薬に対する感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀ (1)

薬剤及び 各耐性分類	MIC (µg/mL)										MIC ₅₀		MIC ₉₀							
	≤0.001	0.002	0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128	
ABPC																				
全株 (n = 197)																				
BLNAS (n = 54)																				
BLNAR (n = 123)																				
BLPAR (n = 12)																				
BLPACR (n = 8)																				
Hib (n = 16)																				
SBT / ABPC																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				
CVA / AMPC (1:2)																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				
CVA / AMPC (1:14)																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				

(continue)

表2. *H. influenzae* 197株, 各耐性分類及びHibの各種抗菌薬に対する感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀ (2)

薬剤及び 各耐性分類	MIC (µg/mL)											MIC ₅₀	MIC ₉₀							
	≤0.001	0.002	0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1			2	4	8	16	32	64	128
PIPC																				
全株	8	16	27	59	39	21	7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	11	0.0625	1
BLNAS	8	13	12	10	8	2	1												0.0313	0.125
BLNAR		3	15	49	31	19	6												0.0625	0.25
BLPAR								1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	>128	>128
BLPACR																		128	>128	>128
Hib			1	10	2													1	0.0625	8
TAZ / PIPC *																				
全株	1	12	25	33	66	40	17	3											0.0625	0.25
BLNAS	1	10	14	12	10	5	2												0.0313	0.125
BLNAR		4	20	51	31	15	2												0.0625	0.25
BLPAR	2	7	1	2															0.0156	0.0625
BLPACR								1											0.125	0.5
Hib	2	2	3	9	2														0.0625	0.125
TAZ / PIPC (1:8)																				
全株	7	12	32	60	41	25	9	8	3										0.0625	0.5
BLNAS	7	11	17	10	5	3	1												0.0313	0.125
BLNAR		1	15	50	35	20	2												0.0625	0.25
BLPAR					1	1	4	4	2										0.5	2
BLPACR								4	1										1	2
Hib			2	8	4	1	1												0.0625	0.25
CFTM																				
全株	6	31	14	5	1	8	46	80	6										0.5	1
BLNAS	3	24	10	4	3	7	3	3											0.0156	0.5
BLNAR		1	2	1	1	5	37	72	4										1	1
BLPAR	3	6	2				1	1											0.0156	0.0313
BLPACR								1	5	2									1	2
Hib	2		1		2	8	3												0.5	1

*: TAZ 濃度固定 (4 µg/mL)

(continue)

表2. *H. influenzae* 197株, 各耐性分類及びHibの各種抗菌薬に対する感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀ (3)

薬剤及び 各耐性分類	MIC (µg/mL)											MIC ₅₀	MIC ₉₀							
	≤0.001	0.002	0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1			2	4	8	16	32	64	128
CDTR																				
全株	1	13	28	13	9	36	73	20	3	3	1								0.125	0.5
BLNAS		11	20	9	3	6	2	1	2										0.0156	0.125
BLNAR		2	2	2	6	29	65	17	1	1									0.25	0.5
BLPAR	1	2	6	2	2	1													0.0156	0.0313
BLPACR							6	2											0.25	0.5
Hib	1		1	1	2	8	2	1											0.125	0.25
CFPN																				
全株	3	27	10	11	5	3	4	31	78	24	1								2	4
BLNAS	1	21	8	8	4	1	1	4	5	1									0.0313	2
BLNAR				2	1	2	3	25	71	18	1								2	4
BLPAR	2	6	2	1				1	2	5									0.0156	0.0625
BLPACR								1	1	2	5								4	4
Hib	1	1	1	1			1	6	6										1	2
CFDN																				
全株					2	22	17	19	31	50	49	7							4	8
BLNAS				1	17	12	11	7	3	3	4								0.5	4
BLNAR					1	1	7	22	46	44	3								4	8
BLPAR				1	5	4	1	1	1	1	2	4							0.25	1
BLPACR								1	1	1	2	4							8	16
Hib				1	1	1	3	8	2	1									2	4
FMOX																				
全株				1	19	21	5	25	102	24									8	16
BLNAS				13	18	3	12	8											1	8
BLNAR						1	13	88	21										8	16
BLPAR				1	6	3	1	1	1	1	5	3							0.5	2
BLPACR																			8	16
Hib				1	1	1	1	5	8	4									4	8

(continue)

表2. *H. influenzae* 197株, 各耐性分類及びHibの各種抗菌薬に対する感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀ (4)

薬剤及び 各耐性分類	MIC (µg/mL)											MIC ₅₀	MIC ₉₀							
	≤0.001	0.002	0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1			2	4	8	16	32	64	128
CTX																				
全株	6	26	16	6	3	7	49	83	1											0.125
BLNAS	3	20	12	6	1	3	7	2												0.0078
BLNAR			2		2	4	40	74	1											0.25
BLPAR	3	6	2				1	7												0.0039
BLPACR																				0.25
Hib	2	1			2	8	3													0.125
CTX																				
全株	5	26	13	11	2	6	36	81	16	1										0.5
BLNAS	3	20	9	9	2	2	6	3												0.0313
BLNAR			2	2		4	27	76	12											1
BLPAR	2	6	2				2													0.0156
BLPACR							1	2	4	1										2
Hib	1	1		1		2	7	4												0.5
IPM																				
全株				5	5	53	74	33	18	9										1
BLNAS				3	3	26	18	3	1											0.5
BLNAR				2	22	50	27	13	9											1
BLPAR				2	5	5														0.5
BLPACR					1	3	4													2
Hib				3	3	10														0.5
MEPM																				
全株	1	5	38	24	52	55	18	2	2											0.25
BLNAS	1	4	28	16	5															0.0625
BLNAR			1	6	46	50	17	1	2											0.5
BLPAR		1	9	2	1	5	1	1												0.0625
BLPACR																				0.5
Hib			7	6	3															0.125

(continue)

表2. *H. influenzae* 197株, 各耐性分類及びHibの各種抗菌薬に対する感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀ (5)

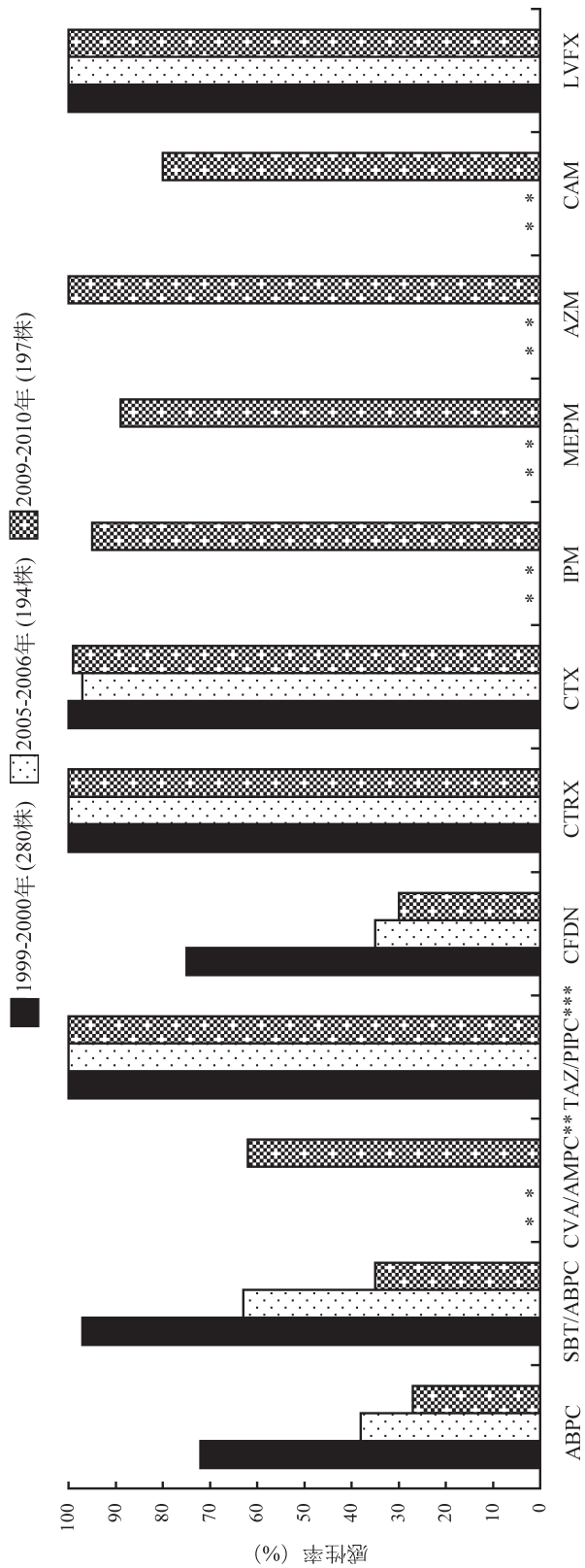
薬剤及び 各耐性分類	MIC (µg/mL)											MIC ₅₀	MIC ₉₀							
	≤0.001	0.002	0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1			2	4	8	16	32	64	128
TRPM																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				
DRPM																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				
AZM																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				
CAM																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				
MINO																				
全株																				
BLNAS																				
BLNAR																				
BLPAR																				
BLPACR																				
Hib																				

(continue)

表2. *H. influenzae* 197株, 各耐性分類及びHibの各種抗菌薬に対する感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀ (6)

薬剤及び 各耐性分類	MIC (µg/mL)																				
	≤0.001	0.002	0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128	MIC ₅₀	MIC ₉₀
TFLX																					
全株	1	39	131	24	2															0.0078	0.0156
BLNAS	1	16	32	5																0.0078	0.0078
BLNAR		23	81	17	2															0.0078	0.0156
BLPAR			12																	0.0078	0.0078
BLPACR			6	2																0.0078	0.0156
Hib		2	12	2																0.0078	0.0156
NFLX																					
全株					41	146	9	1												0.0625	0.0625
BLNAS					16	38														0.0625	0.0625
BLNAR					22	92	8	1												0.0625	0.0625
BLPAR						12														0.0625	0.0625
BLPACR					3	4	1													0.0625	0.125
Hib					3	13														0.0625	0.0625
Garenoxacin																					
全株	6	50	72	51	13	4	1													0.0078	0.0156
BLNAS	5	17	14	15	1	2														0.0078	0.0156
BLNAR	1	33	43	33	10	2	1													0.0078	0.0313
BLPAR			10		2															0.0078	0.0313
BLPACR			5	3																0.0078	0.0156
Hib		2	8	6																0.0078	0.0156
LVFX																					
全株			7	145	41	4														0.0156	0.0313
BLNAS			2	42	10															0.0156	0.0313
BLNAR			5	86	28	4														0.0156	0.0313
BLPAR				10	2															0.0156	0.0313
BLPACR				7	1															0.0156	0.0313
Hib				10	6															0.0156	0.0313
PZFX																					
全株			11	149	33	3	1													0.0156	0.0313
BLNAS			1	43	10															0.0156	0.0313
BLNAR			10	89	20	3	1													0.0156	0.0313
BLPAR				10	2															0.0156	0.0313
BLPACR				7	1															0.0156	0.0313
Hib				10	6															0.0156	0.0313

図1. 1999～2000年, 2005～2006年及び2009～2010年に分離された*H. influenzae*の各種抗菌薬に対する感性率



*: not tested

**.: CVA / AMPC = 1 : 2

***.: TAZ 濃度固定 (4 µg/mL)

TBPMで $1\mu\text{g}/\text{mL}$, DRPMで $2\mu\text{g}/\text{mL}$, CFPN, IPMで $4\mu\text{g}/\text{mL}$, SBT/ABPC, CVA/AMPC (1:2), CFDNで $8\mu\text{g}/\text{mL}$, CVA/AMPC (1:14), FMOXで $16\mu\text{g}/\text{mL}$, ABPCで $32\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

マクロライド系抗菌薬の MIC_{50} 及び MIC_{90} は, AZMでそれぞれ $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び $4\mu\text{g}/\text{mL}$, CAMでそれぞれ $8\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び $16\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また, テトラサイクリン系抗菌薬であるMINOの MIC_{50} 及び MIC_{90} はそれぞれ $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び $1\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

キノロン系抗菌薬のMICは他系統の抗菌薬に比べて低く, MIC_{50} はTFLX及びgarenoxacinで $0.0078\mu\text{g}/\text{mL}$, LVFX及びPZFXで $0.0156\mu\text{g}/\text{mL}$, NFLXで $0.0625\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また, MIC_{90} はTFLX及びgarenoxacinで $0.0156\mu\text{g}/\text{mL}$, LVFX及びPZFXで $0.0313\mu\text{g}/\text{mL}$, NFLXで $0.0625\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

BLNAR 123株に対する β -ラクタム系抗菌薬の MIC_{50} は, PIPC, TAZ/PIPC, TAZ/PIPC (1:8)が $0.0625\mu\text{g}/\text{mL}$ で最も低く, CDTR, CTRXで $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$, MEPM, TBPMで $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$, CFTM, CTX, IPMで $1\mu\text{g}/\text{mL}$, CFPN, DRPMで $2\mu\text{g}/\text{mL}$, ABPC, SBT/ABPC, CFDNで $4\mu\text{g}/\text{mL}$, CVA/AMPC (1:2及び1:14), FMOXで $8\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また, MIC_{90} はPIPC, TAZ/PIPC, TAZ/PIPC (1:8), CTRXが $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ で最も低く, CDTRで $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$, CFTM, CTX, MEPMで $1\mu\text{g}/\text{mL}$, TBPMで $2\mu\text{g}/\text{mL}$, CFPN, IPM, DRPMで $4\mu\text{g}/\text{mL}$, ABPC, SBT/ABPC, CVA/AMPC (1:2), CFDNで $8\mu\text{g}/\text{mL}$, CVA/AMPC (1:14), FMOXで $16\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。マクロライド系, テトラサイクリン系抗菌薬の MIC_{50} 及び MIC_{90} は*H. influenzae*全株と同値であった。また, キノロン系抗菌薬の MIC_{50} も*H. influenzae*全株と同値であり, MIC_{90} はTFLXで $0.0156\mu\text{g}/\text{mL}$, garenoxacin, LVFX, PZFXで $0.0313\mu\text{g}/\text{mL}$, NFLXで $0.0625\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

BLNASと比較して, BLNARではABPC, SBT/ABPC, CVA/AMPC (1:2及び1:14)の MIC_{50} または MIC_{90} が4~16倍に上昇した。BLNASに比べBLNARに対するセフェム系抗菌薬の MIC_{90} に大きな差は認められなかったが, MIC_{50} は8~64倍に上昇した。また, カルバペネム系抗菌薬の MIC_{90} は4~8倍に上昇し, MEPM, TBPM, DRPMの MIC_{50} は4~8倍に上昇した。BLNASと比較して, BLPARではSBT/ABPCの MIC_{50} 及び MIC_{90} がそれぞれ16倍及び8倍に上昇した。各耐性分類におけるキノロン系抗菌薬の MIC_{50} 及び MIC_{90} に4倍以上の違いは認められなかった。

*H. influenzae*全株と比較すると, Hibに対するABPCの MIC_{90} は4倍に, PIPCの MIC_{90} は8倍に上昇した。なお, non-typeable *H. influenzae* 177株に対する各種抗菌薬の MIC_{50} 及び MIC_{90} は*H. influenzae*全株と概ね同程度であり, 4倍以上の違いは認められなかった。

1999~2000年, 2005~2006年及び2009~2010年に分離された*H. influenzae*の各種抗菌薬に対する感性率⁵⁾を図1に示す。いずれの分離年においても, TAZ/PIPC, CTRX及びLVFXに対する感性率は100%であり, CTXに対する感性率は100%, 97%, 99%と高い値で推移していた。一方, 他の β -ラクタム系抗菌薬に対する感性率には低下傾向が認められ, ABPCで72%, 38%, 27%, SBT/ABPCで97%, 63%, 35%, CFDNで75%, 35%, 30%と低下した。2009~2010年分離株のCVA/AMPC (1:2), IPM, MEPM, AZM, CAMに対する感性率は, それぞれ62%, 95%, 89%, 100%, 80%であった。

III. 考察

我々は岐阜県を中心とした医療施設において分離された*H. influenzae*の感受性測定を定期的に行っている。今回, 2009~2010年に分離された小

児由来 *H. influenzae* 197株の各種抗菌薬に対する感受性を測定し、1999～2000年及び2005～2006年に分離された *H. influenzae* の感受性³⁾ と比較した。

1990年代後半から、本邦においてBLNARの増加に関する報告が多くなった⁷⁻⁹⁾。しかし、近年行われたサーベイランス¹⁰⁻¹²⁾により、2000年代後半にはBLNARの増加傾向は依然認められるものの、その傾向が弱まっていることが示されている。

岐阜及び愛知県におけるBLNARの分離頻度は、1999～2000年から2005～2006年にかけて19.6%から54.6%に増加したが³⁾、2005～2006年から2009～2010年にかけては54.6%から62.4%への増加にとどまっていた。坂野らによる薬剤耐性推移に関する報告¹³⁾では、免疫学的に未熟な3歳以下の年齢層では3歳以上の年齢層に比べ、耐性株の分離頻度が高くなることが示されている。今回、比較に用いた2005～2006年分離株は小児のみに限定されていないため、小児のみで構成した場合のBLNARの分離頻度は54.6%よりも高くなる可能性が考えられる。このように、岐阜及び愛知県においても、1999～2006年にかけて見られたBLNARの急速な増加傾向は2006～2010年の間では弱まっていることが確認された。

BLNARの分離頻度の増加に伴い、ABPCのMIC₉₀は1999～2000年で4 μ g/mL、2005～2006年で8 μ g/mL、2009～2010年で32 μ g/mLに上昇し、その感性率は72%、38%、27%と低下した。また、SBT/ABPCに対する感性率は97%、63%、35%、CFDNに対する感性率は75%、35%、30%と低下が認められたが、その他の抗菌薬に対する感受性に大きな差は認められなかった。小児呼吸器感染症診療ガイドライン¹⁴⁾において、2カ月から5歳児の外来患者に対する初期投与薬として推奨されているCVA/AMPCのMIC₅₀は2000～2001年分離株のサーベイランス¹⁵⁾時に比べ2倍の上昇が認

められたが、顕著な耐性化の進行は認められなかった。Nikiらが2008年に全国的に行ったサーベイランス¹⁶⁾においても同様の結果が得られており、耐性化の進行は認められなかった。

BLNASに比べ、BLNARの β -ラクタム系抗菌薬に対する感受性には低下傾向が認められた。小児呼吸器感染症診療ガイドライン¹⁴⁾では耐性菌による肺炎が疑われた場合の軽症患者に対する初期治療として、AMPC増量、CVA/AMPC、広域セフェムの高用量が、小児急性中耳炎診療ガイドライン¹⁷⁾では軽症の患者に対する治療薬としてAMPCの常用または高用量、CVA/AMPC (1:14)、CDTRが推奨されている。CRAIGはこれら β -ラクタム系抗菌薬が細菌学的効果を示すtime above the MIC (TAM)は40%以上であることを報告している^{18,19)}。今回の検討において、BLNAR 123株に対するCFTM及びCDTRのMIC₉₀は、小児呼吸器感染症を対象とした検討で報告されているTAM 40%に到達可能なMIC²⁰⁾よりも低く、良好な治療効果が期待された。一方、同じセフェム系抗菌薬であるCFPNのTAM 40%に到達可能なMICは、6mg/kg服用時の呼吸器感染症小児患者で0.55 μ g/mL²¹⁾と報告されているが、今回の検討ではMICが0.5 μ g/mL以下のBLNARは、123株のうち8株(6.5%)であった。CFDNについても、6mg/kg服用時の最高血中濃度(1.31 μ g/mL)²²⁾よりも高いMICを示す株が115株(93.5%)認められた。また、小児中耳炎を対象とした検討では、TAM 40%に到達可能なCVA/AMPC (1:14)のMICは4 μ g/mLと報告されている²³⁾が、今回の検討ではBLNAR 123株のうち77株(62.6%)のMICが8 μ g/mL以上であり、起炎菌がBLNARの場合、半数以上がTAM 40%に到達しない可能性が考えられた。これらのことから、BLNARによる小児感染症において一部の経口ペニシリン系またはセフェム系抗菌薬が十分な有効性を示し難い可能性が示唆された。また、小児呼吸器感染症診

療ガイドライン¹⁴⁾では初期治療が無効であった場合、TFLXの選択が推奨されており、今後、小児におけるキノロン系抗菌薬の使用機会が増えることが予想される。今回のサーベイランスにおいて、BLNARのキノロン系抗菌薬に対する感受性はBLNASと同様に良好であり、耐性株は検出されなかった。一方、2007年²⁴⁾及び2008年¹⁶⁾に行われたサーベイランスではキノロン耐性株がそれぞれ確認されており、キノロン系抗菌薬に対する耐性化動向には今後注意が必要である。

遺伝子による耐性分類別分離頻度を2005～2006年分離株と2009～2010年分離株とで比較すると、gBLNASは24.2%から17.3%に減少し、gBLNARは57.7%から66.0%に増加した。セフェム系抗菌薬はPBP3への親和性が高く、PBP3をコードする*ftsI*遺伝子に変異が生じるとその活性が低下することが知られている⁶⁾。今回、薬剤感受性によりBLNASに分類された54株のうち22株がgLow-BLNARまたはgBLNARに分類され、gBLNASに分類された32株と比べるとセフェム系抗菌薬に対するMIC₅₀及びMIC₉₀は4～16倍及び8～64倍に上昇していた。このように、薬剤感受性による耐性分類のみではセフェム系抗菌薬の耐性化動向を正確に把握することは困難であるため、薬剤感受性と同様に遺伝子変異の有無に関する検討も定期的実施する必要がある。

本邦における侵襲性インフルエンザ菌感染症の90%が化膿性髄膜炎であり、そのうちの97%はHibが起原因菌である。Hibによる髄膜炎は予後が悪く、5%が死亡、23%が難聴や硬膜下水腫、てんかんなどの後遺症を残すことが知られている¹⁾。米国ではHibワクチンを導入したことによりHib侵襲性感染症が導入前の1/100に激減しており²⁵⁾、本邦においてもHibワクチンの導入によるHib侵襲性感染症の減少が期待されている。今回の検討では、*H. influenzae*全株と比較してHibの各種抗菌薬に対する感受性は良好であったが、

BLNAS 9株を含むHib全株で*ftsI*遺伝子の変異またはTEM型BL産生遺伝子が確認され、これらの株に関しては今後もさらなる薬剤耐性化の進行が危惧された。

今回の検討では過去の検討と比べ薬剤耐性化に急速な進行は認められなかったが、依然、BLNARの分離頻度は50%を上回っていた。適切な化学療法を行うためにも、今後も定期的なサーベイランスを行い、*H. influenzae*の薬剤感受性動向を把握していくことが重要である。

文献

- 1) 庵原俊昭：インフルエンザ菌感染症とインフルエンザ菌b型(Hib)ワクチン。モダンメディア 54: 331～335, 2008
- 2) 坂田 宏：小児臨床分離 *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: 434～437, 2009
- 3) 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
- 4) CLSI: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard-Eighth Edition. M07-A8 29: 2009
- 5) CLSI: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth Informational Supplement. M100-S20 30: 2010
- 6) 生方公子, 千葉菜穂子, 小林玲子, 他：本邦において1998年から2000年の間に分離された *Haemophilus influenzae* の分子疫学解析—肺炎球菌等による市中感染症研究会収集株のまとめ—。日本化学療法学会雑誌 50: 794～804, 2002
- 7) NISHI, J.; M. YOSHINAGA, K. TOKUDA, *et al.*: Oral antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* isolates from Japanese children. Int. J. Antimicrob. Agents 20: 130～135, 2002
- 8) HASEGAWA, K.; N. CHIBA, R. KOBAYASHI, *et al.*: Rapidly increasing prevalence of β -lactamase-

- nonproducing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b in patients with meningitis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 1509~1514, 2004
- 9) 坂田 宏: 小児の呼吸器感染症患者から分離された *Haemophilus influenzae* の注射用抗菌薬に対する薬剤感受性。日本化学療法学会雑誌 51: 569~573, 2003
- 10) 澤田恭子, 佐藤洋子, 有馬聖永, 他: 2004年から2008年の小児由来 *Haemophilus influenzae* の抗菌薬感受性に関する検討。感染症学雑誌 84: 441~448, 2010
- 11) 坂田 宏: 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。Jpn. J. Antibiotics 62: 341~345, 2009
- 12) 鈴木賢二: 耳鼻咽喉科領域感染症の最近の動向と薬剤耐性。耳鼻咽喉科展望 53: 8~16, 2010
- 13) 坂野 堯, 捻橋紀久, 古江健樹, 他: 1997年から2006年までに分離されたインフルエンザ菌, 肺炎球菌の薬剤耐性推移。感染症学雑誌 83: 347~354, 2009
- 14) 日本小児呼吸器疾患学会, 日本小児感染症学会: 小児呼吸器感染症診療ガイドライン, 2011
- 15) SAKATA, H.; Y. TOYONAGA, Y. SATO, *et al.*: Nationwide survey of the development of drug-resistance in the pediatric field: drug sensitivity of *Haemophilus influenzae* in Japan. *J. Infect. Chemother.* 15: 402~409, 2009
- 16) NIKI, Y.; H. HANAKI, T. MATSUMOTO, *et al.*: Nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the Japanese Society of Chemotherapy in 2008: general view of the pathogen's antibacterial susceptibility. *J. Infect. Chemother.* 17: 510~523, 2011
- 17) 日本耳科学会, 日本小児耳鼻咽喉科学会, 日本耳鼻咽喉科感染症研究会: 小児急性中耳炎診療ガイドライン, 2009
- 18) CRAIG, W. A.: Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of β -lactams, glycopeptides, and linezolid. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 17: 479~501, 2003
- 19) CRAIG, W. A.: Does the dose matter? *Clin. Infect. Dis.* 33 (Suppl. 3): S233~237, 2001
- 20) 佐藤吉壮, 山藤 満, 岩田 敏, 他: PK/PD理論を用いた経口セフェム系薬 cefteram pivoxil の投与方法の検討。小児科臨床 59: 521~531, 2006
- 21) 豊永義清, 岩井直一, 本廣 孝, 他: 小児呼吸器感染症患者における cefcapene pivoxil 小児用細粒の遊離型薬剤濃度でのPK/PDブレイクポイントと臨床効果・細菌学的効果。Jpn. J. Antibiotics 61: 172~183, 2008
- 22) 本廣 孝, 半田祥一, 山田秀二, 他: 小児期における Cefdinir 5%細粒の基礎的・臨床的検討。Jpn. J. Antibiotics 43: 1813~1835, 1990
- 23) 杉田麟也, 岩田 敏, 馬場駿吉: 高用量アモキシシリン/クラブラン酸製剤の有用性—小児中耳炎を対象とした多施設共同臨床試験—。新薬と臨床 54: 1056~1072, 2005
- 24) 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
- 25) Centers for Disease Control and Prevention: Progress toward eliminating *Haemophilus influenzae* type b disease among infants and children—United States, 1987~1997. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 47: 993~998, 1998

Antibacterial susceptibility surveillance of
Haemophilus influenzae isolated from pediatric patients
in Gifu and Aichi prefectures (2009~2010)

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

MARIKO TAKAKURA, YOSHIKO FUKUDA,
NOBUHIKO NOMURA and JUNICHI MITSUYAMA
Research Laboratories,
Toyama Chemical Co., Ltd.

KAZUKIYO YAMAOKA
Gifu University of Medical Science

YUKO ASANO
Department of Clinical Laboratory Medicine,
Ogaki Municipal Hospital

HARUKI SAWAMURA
Department of Clinical Central Laboratory,
Aichi Medical University

KOUICHI KATSURAGAWA
Clinical Laboratories,
Chuno Kosei Hospital

HIKONORI HASHIDO
Takayama Red Cross Hospital

YOKO MATSUKAWA
Clinical Laboratories,
Gifu Prefectural Tajimi Hospital

SHIGENORI MATSUBARA
Matsubara Otorhinolaryngology Clinic

HIROTOSHI OOTA
Gifu University School of Medicine

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

YUKA YAMAGISHI
Department of Infection
Control and Prevention,
Aichi Medical University Hospital

HIROSHIGE MIKAMO
Department of Infection Control and
Prevention, Aichi Medical University
Graduate School of Medicine

We investigated the susceptibility to antibacterial agents of 197 strains of *Haemophilus influenzae* isolated from pediatric patients at medical facilities in Gifu and Aichi prefectures between 2009 and 2010. Those strains were also examined for the mutations of *ftsI* coding for penicillin-binding protein 3, presence of *bla* TEM-1, serotype and β -lactamase producing ability.

Among the 197 strains, the most prevalent serotype was non-typeable (89.8%), followed by serotype b (8.1%), e (1.5%) and f (0.5%).

Based on the susceptibility among the 197 strains to antibacterial agents, β -lactamase non-producing ampicillin-susceptible *H. influenzae* (BLNAS) accounted for 27.4%, β -lactamase non-producing ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) for 62.4%, β -lactamase producing ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLPAR) for 6.1% and β -lactamase producing amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae* (BLPACR) for 4.1%.

According to PCR-based genotyping, the strains were classified into 6 categories: gBLNAS,

gLow-BLNAR, gBLNAR, gBLPAR, gBLPACR-I and gBLPACR-II. The incidences of each resistant class were 17.3% for gBLNAS, 6.6% for gLow-BLNAR, 66.0% for gBLNAR, 5.6% for gBLPAR and 4.6% for gBLPACR-II. The combined incidence of gLow-BLNAR and gBLNAR was 72.6%, which was higher than that of BLNAR (62.4%).

The MIC_{90s} of antibacterial agents against the 197 strains were as follows; 0.0156 µg/mL for tosufloxacin and garenoxacin, 0.0313 µg/mL for levofloxacin and pazufloxacin, 0.0625 µg/mL for norfloxacin, 0.25 µg/mL for tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) and ceftriaxone, 0.5 µg/mL for TAZ/PIPC (1 : 8) and cefditoren, 1 µg/mL for piperacillin, ceftoram, cefotaxime, meropenem, tebipenem and minocycline, 2 µg/mL for doripenem, 4 µg/mL for cefcapene, imipenem and azithromycin, 8 µg/mL for sulbactam/ampicillin, clavulanic acid/amoxicillin (1 : 2, CVA/AMPC) and cefdinir, 16 µg/mL for CVA/AMPC (1 : 14), flomoxef and clarithromycin, 32 µg/mL for ampicillin.

Although there was no rapid increase in the antibacterial resistance, the prevalence of BLNAR was still over 50%. In order to ensure the appropriate chemotherapy, it is important to continue the surveillance of susceptibility among *H. influenzae*.