

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 (2011年～2012年)

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

舟津桃李・水永真吾・福田淑子・野村伸彦
富山化学工業株式会社総合研究所

橋渡彦典
高山赤十字病院検査部

満山順一
富山化学工業株式会社臨床開発室

波多野正和
中濃厚生病院微生物検査室

山岡一清
岐阜医療科学大学衛生技術学科

松原茂規
松原耳鼻いんこう科医院

浅野裕子
大垣市民病院医療技術部

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

太田浩敏
岐阜大学医学部附属病院検査部

末松寛之・澤村治樹・松川洋子
愛知医科大学病院感染制御部

柴田尚宏
東濃厚生病院感染症科

山岸由佳・三鴨廣繁
愛知医科大学病院感染症科

(2015年6月30日受付)

2011年10月～2012年4月の期間に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*) 270株の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 *mefA* 及び *ermB* の有無, 血清型及び各種抗菌薬に対する感受性について検討し, 過去のサーベイランス結果と比較した。

臨床分離された *S. pneumoniae* 270株のうち, PBP 遺伝子に変異を有しない genotype penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (gPSSP) は15株 (5.6%), *pbp1a*, *pbp2b*, *pbp2x* の3つの遺伝子のうち, 1箇所または2箇所に変異を有する genotype penicillin-

intermediate *S. pneumoniae* (gPISP) は162株 (60.0%)、3箇所全てに変異を有する genotype penicillin-resistant *S. pneumoniae* (gPRSP) は93株 (34.4%) であった。また、マクロライド耐性遺伝子を保有しない株は16株 (5.9%)、*mefA*のみを保有する株は75株 (27.8%)、*ermB*のみを保有する株は153株 (56.7%)、両方を保有する株は26株 (9.6%) であった。2008～2009年及び2010～2011年の結果と比較すると、gPRSPは経年的に減少傾向を示し、マクロライド高度耐性株である *ermB* 保有株は増加傾向を示した。

小児由来株における血清型の分離頻度は、3型 (14.4%) が最も高く、次いで15型及び19F型 (9.3%) であった。肺炎球菌7価コンジュゲートワクチン (PCV7) 及び肺炎球菌13価コンジュゲートワクチン (PCV13) の血清型のカバー率はそれぞれ22.9%及び49.2%であった。また、小児由来のgPRSPにおけるPCV7及びPCV13のカバー率はそれぞれ47.7% (21株/44株) 及び72.7% (32株/44株) であった。

各種抗菌薬のMIC₉₀は、imipenem, panipenem, garenoxacin; 0.125 µg/mL, meropenem, doripenem; 0.25 µg/mL, cefditoren, moxifloxacin, tosufloxacin; 0.5 µg/mL, amoxicillin, clavulanic acid/amoxicillin, ceftoram, cefcapene, ceftriaxone; 1 µg/mL, benzylpenicillin, ampicillin, sulbactam/ampicillin, piperacillin, tazobactam/piperacillin, levofloxacin; 2 µg/mL, cefdinir, flomoxef, pazufloxacin; 4 µg/mL, minocycline; 16 µg/mL, clarithromycin, azithromycin; >64 µg/mL であり、いずれの薬剤も2010～2011年の結果と同程度であった。

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、β-ラクタム系薬及びマクロライド系薬等への多剤耐性化¹⁾、更に近年ではキノロン耐性株も臨床分離されており^{2,3)}、医療現場において問題となっている。また、本邦において、生後2か月以上10歳未満の小児を対象とした肺炎球菌7価コンジュゲートワクチン (PCV7) が2010年2月より接種可能となり、その広範な普及に伴い臨床分離される血清型が変動し、薬剤感受性に影響を与えることが懸念される。

これまで東海アンチバイオグラム研究会では、岐阜及び愛知県の1999年⁴⁾、2004年⁵⁾、2008～2009年⁶⁾、2010～2011年⁷⁾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、2011年～2012年に岐阜及び愛知県内で分離された *S. pneumoniae* につ

いて薬剤感受性、耐性遺伝子及び血清型を調査し、2008～2009年分離株及び2010～2011年分離株の調査結果との比較により経年的な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

2011年10月～2012年4月の期間に、岐阜大学医学部附属病院、東海中央病院、中濃厚生病院、岐阜県立多治見病院、東濃厚生病院、大垣市民病院、高山赤十字病院、愛知医科大学病院並びに松原耳鼻いんこう科医院から分離された *S. pneumoniae* 270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 agar (Becton, Dickinson and Company) 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。なお、これらの試験菌株については日本臨床微生物学会「疫学研究に関する倫理指針」⁸⁾を遵守し、連結不可能匿名化された情報のみを用いた。

2. 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、polymerase chain reaction (PCR) 法にて行った。PBP 遺伝子変異については、生方らの基準⁹⁾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 genotype penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (gPSSP), 1箇所または2箇所変異を有する株を genotype penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (gPISP), 3つ全てに変異を有する株を genotype penicillin-resistant *S. pneumoniae* (gPRSP) とした。

3. 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。血清型が6型, 7型, 9型, 18型, 19型及び23型のサブタイプは PNEUMOCOCCAL ANTISERA (Statens Serum Institut) を用いた莢膜膨化試験を実施し決定した。

4. 薬剤感受性測定

最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 法¹⁰⁾に従い、オーダーメイドのドライプレート「栄研」(栄研化学) を用いた微量液体希釈法で測定した。測定薬剤は、benzylpenicillin (PCG), ampicillin (ABPC), sulbactam/ampicillin (1:2; SBT/ABPC), amoxicillin

(AMPC), clavulanic acid/ amoxicillin (1:14; CVA/AMPC), piperacillin (PIPC), tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), ceftoram (CFPM), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), cefdinir (CFDN), ceftriaxone (CTR), flomoxef (FMOX), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), doripenem (DRPM), panipenem (PAPM) garenoxacin (GRNX), tosufloxacin (TFLX), pazufloxacin (PZFX), levofloxacin (LVFX), moxifloxacin (MFLX), clarithromycin (CAM), azithromycin (AZM) 及びminocycline (MINO) の計25薬剤を使用した。なお、SBT/ABPC及びCVA/AMPCはそれぞれABPC及びAMPC換算として、TAZ/PIPCはTAZ 4 μ g/mL存在下でPIPC換算として測定した。

5. キノロン耐性決定領域 (QRDR) のアミノ酸変異部位の特定

LVFX耐性株の *gyrA*, *gyrB*, *parC* 及び *parE* のQRDRを含む遺伝子断片を以下に示すプライマー^{11,12)}を用いてPCRによって得た後、direct sequence法¹³⁾により遺伝子配列を決定し、GyrA, GyrB, ParC及びParEのアミノ酸変異部位を特定した。プライマーは、*gyrA*に対してVGA3 (5'-CCGTCGCATTCTTTACG-3'), VGA4 (5'-AGTTGCTCCATTAACCA-3'), *gyrB*に対してH4025 (5'-TTCTCCGATTTCTCATG-3'), H4026 (5'-AGAAGGGTACGAATGTGG-3'), *parC*に対してM0363 (5'-TGGGTTGAAGCCGGTTCA-3'), M4271 (5'-TGCTGGCAAGACCGTTGG-3'), *parC2F* (5'-CTGGAGGACATCATGGGAGA-3'), *parC1R* (5'-GGAGGAATGTCTGTGGCATA), *parE*に対してS6398 (5'-AAGGCGCGTGATGAGAGC-3'), S6399 (5'-TCTGCTCCAACACCCGCA-3')を用いた。

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* 270 株の分離施設別の内訳は、岐阜大学医学部附属病院27株、東海中央病院17株、中濃厚生病院39株、岐阜県立多治見病院38株、東濃厚生病院14株、大垣市民病院52株、高山赤十字病院40株、愛知医科大学病院13株並びに松原耳鼻いんこう科医院30株であった。

年齢別の内訳は、15歳以下の小児が118株(43.7%)、16～64歳の成人が47株(17.4%)、65歳以上の高齢者が88株(32.6%)、不明株が17株(6.3%)であった。

材料別の内訳は、喀痰119株(44.1%)、鼻腔87株(32.2%)、咽頭33株(12.2%)、耳漏12株(4.4%)、血液8株(3.0%)、その他(眼、膿、尿、腫瘍内容物、扁桃、皮膚及び腔)11株(4.1%)であった。

2. PBP 遺伝子変異株の分離頻度

PBP 遺伝子変異状況を Fig. 1 に示す。2011～2012年に分離された全270株のうち、gPSSPは15株(5.6%)、gPISP及びgPRSPがそれぞれ162株(60.0%)、93株(34.4%)であった。患者年代別のgPRSPの割合は、小児由来株で37.3%(44株/118株)、成人由来株で29.8%(14株/47株)、高齢者由来株で36.4%(32株/88株)であった。

2008～2009年⁶⁾及び2010～2011年⁷⁾の結果と比較すると、gPRSPの分離頻度はそれぞれ48.0%(181株/377株)、43.4%(112株/258株)であり、経年的に減少傾向にあった。一方、gPSSPの分離頻度は2008～2009年が6.1%(23株/377株)⁶⁾、2010～2011年が4.3%(11株/258株)⁷⁾であり、経年的な変化は認められなかった。また、gPISPは2008～2009年が45.9%(173株/377株)⁶⁾、2010～2011年が52.3%(135株/258株)⁷⁾であり、増加傾向であった。

Fig. 1. 各分離年代別のPBP 遺伝子変異株の分離頻度

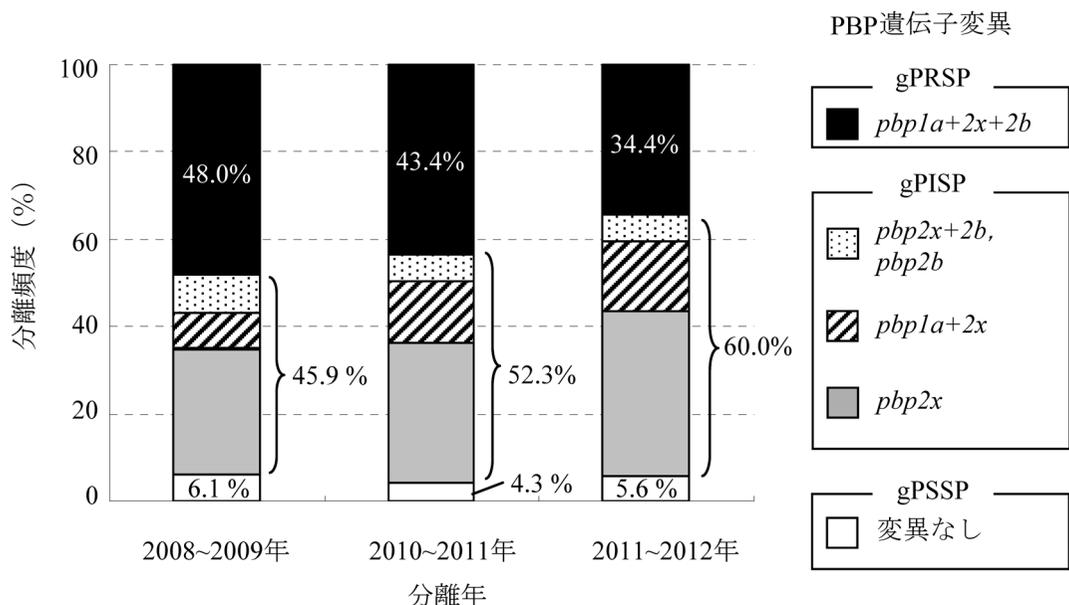
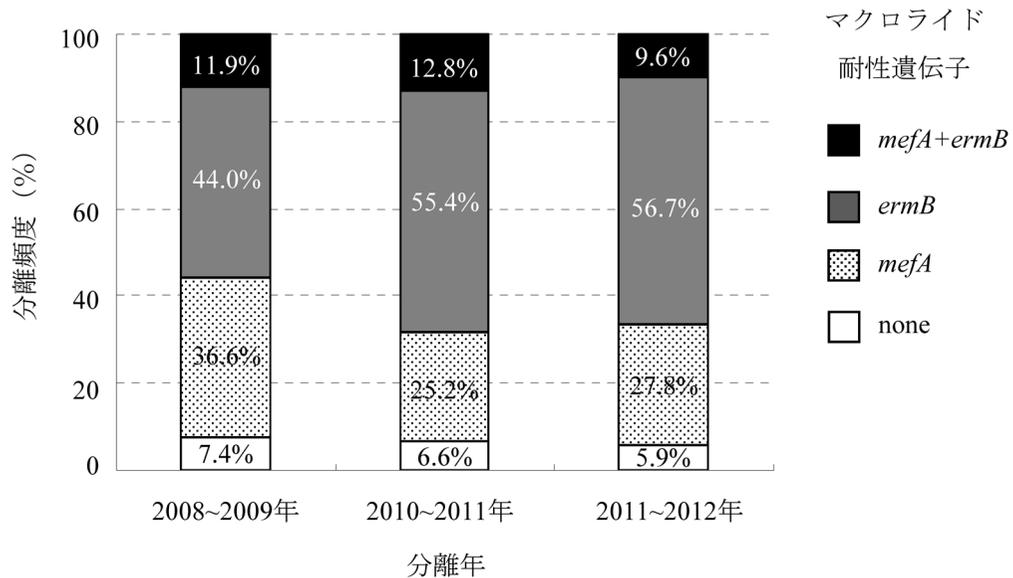


Fig. 2. 各分離年代別のマクロライド耐性遺伝子保有株の分離頻度



3. マクロライド耐性遺伝子保有株の分離頻度

マクロライド耐性遺伝子保有株の分離頻度を Fig. 2 に示す。2011~2012年に分離された全270株のうち、*mefA*及び*ermB*のいずれも有さない株は16株(5.9%)、*mefA*のみを有する株は75株(27.8%)、*ermB*のみを有する株は153株(56.7%)、*mefA*及び*ermB*両方を有する株は26株(9.6%)であった。高度耐性株である*ermB*保有株の分離頻度は、2008~2009年が56.0% (211株/377株)⁶⁾、2010~2011年が68.2% (176株/258株)⁷⁾、2011~2012年が66.3% (179株/270株)であり、経年的に増加傾向を示した。いずれかのマクロライド耐性遺伝子の保有率は2008~2009年が92.6% (349株/377株)⁶⁾、2010~2011年が93.4% (241株/258株)⁷⁾、2011~2012年が94.1% (254株/270株)であり、経年的な変化は認められなかった。

全270株のうち、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243株(90.0%)であり、その中でもgPRSPで*mefA*及び*ermB*の両方を有する株は20株(7.4%)であった。

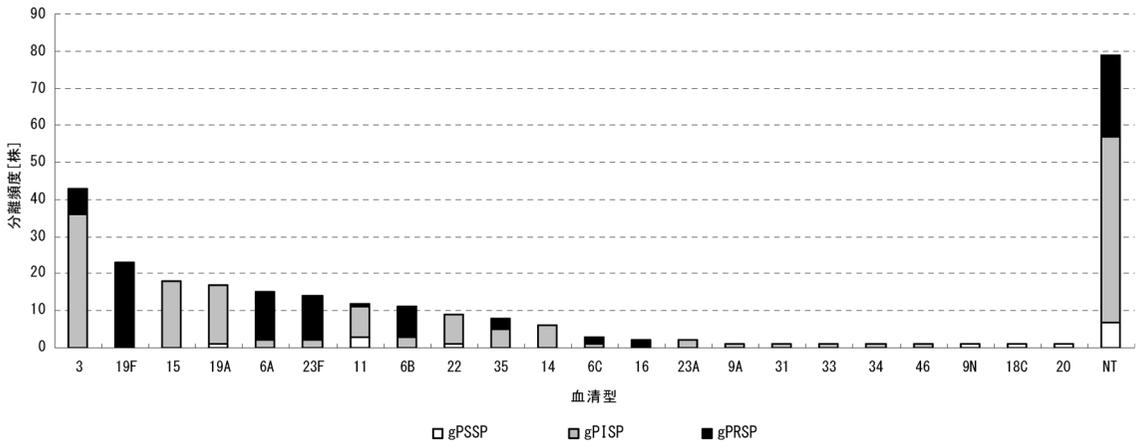
4. 血清型

各血清型別の分離分布及び各血清型におけるgPSSP, gPISP, gPRSPの内訳を Fig. 3 に示す。全270株の血清型別の分離頻度は、3型(43株; 15.9%)が最も高く、以下分離頻度が高い順に19F型(23株; 8.5%)、15型(18株; 6.7%)、19A型(17株; 6.3%)、6A型(15株; 5.6%)、23F型(14株; 5.2%)、11型(12株; 4.4%)、6B型(11株; 4.1%)、22型(9株; 3.3%)、35型(8株; 3.0%)、14型(6株; 2.2%)、6C型(3株; 1.1%)、16型、23A型(2株; 0.7%)、9A型、9N型、18C型、20型、31型、33型、34型、46型(1株; 0.4%)であった。また、いずれにも分類されなかった株(型別不能; NT)は79株(29.3%)であった。

10株以上分離された血清型において、19F型、6A型、23F型及び6B型でgPRSPの割合が高く、それぞれ100% (23株/23株)、86.7% (13株/15株)、85.7% (12株/14株)、72.7% (8株/11株)であった。

患者年代別の血清型の分離頻度を Table 1 に示す。小児由来株においては、3型(14.4%)が最も高く、次いで15型及び19F型(9.3%)であった。

Fig. 3. 各血清型別のgPSSP, gPISP, gPRSPの分離分布



PCV7及びPCV13のカバー率はそれぞれ22.9%及び49.2%であった。また、小児由来株のgPRSPにおけるPCV7及びPCV13のカバー率はそれぞれ47.7% (21株/44株), 72.7% (32株/44株)であった。成人由来株においては3型 (12.8%) が最も高く、次いで11型 (8.5%) であり、高齢者由来株においては3型 (18.2%) が最も高く、次いで19A型 (10.2%) であった。

5. 薬剤感受性

S. pneumoniae 270株並びにgPSSP, gPISP, gPRSPに対する各薬剤の感受性分布, MIC₅₀及びMIC₉₀の結果をTable 2~5に示す。

CLSIが定める髄膜炎以外の感染症に対する注射用PCGの感受性基準²¹⁾を参考にとすると, PCGに対して耐性を示す株は検出されず, 中等度耐性が4株 (1.5%) 分離され, 感性率は98.5%であった。

ペニシリン系抗菌薬のMIC₉₀は, AMPC及びCVA/AMPCで1μg/mL, PCG, ABPC, SBT/ABPC, PIPC及びTAZ/PIPCで2μg/mLであった。gPSSP, gPISP, gPRSPに対するPCGのMIC₉₀はそれぞれ0.0313, 0.25, 2μg/mLであり, 遺伝子変異に伴う抗菌活性の低下が認められた。他のペニシリン系抗

菌薬のgPRSPに対するMIC₉₀もPCGと同様の傾向であり, gPSSPの32~128倍であった (Table 2)。

セフェム系抗菌薬のMIC₉₀は, CDTRで0.5μg/mL, CFTM, CFPN及びCTRXで1μg/mL, CFDN及びFMOXで4μg/mLであり, CDTRが強い抗菌活性を示した。gPRSPに対するセフェム系抗菌薬のMIC₉₀は, gPSSPの16~64倍であった (Table 3)。

カルバペネム系抗菌薬のMIC₉₀は, IPM及びPAPMで0.125μg/mL, MEPM及びDRPMで0.25μg/mLであり, 強い抗菌活性を示した。gPRSPに対するカルバペネム系抗菌薬のMIC₉₀は, gPSSPの16~64倍であった (Table 4)。

キノロン系抗菌薬のMIC₉₀は, GRNXで0.125μg/mLと最も低く, 次いでTFLX及びMFLXで0.5μg/mL, LVFXで2μg/mL, PZFXで4μg/mLであった。CLSIが定める基準²¹⁾を参考にとすると, LVFX耐性株の検出率は1.9% (5株/270株)であった (Table 5)。この検出率を2008~2009年⁶⁾及び2010~2011年⁷⁾の結果と比較すると, それぞれ0.3% (1株/377株), 1.6% (4株/258株)であり, 微増傾向であった。これらLVFX耐性株は高齢者より3株, 小児及び成人よりそれぞれ1株ずつ分離された。gPRSPに対するキノロン系抗菌薬のMIC₉₀は, gPSSPと比較して差は見られなかった。

Table 1. 各患者年代における血清型の分離頻度

	血清型																			計					
	19F ^{a)}	23F ^{a)}	6B ^{a)}	14 ^{b)}	18C ^{b)}	3 ^{b)}	19A ^{b)}	6A ^{b)}	15	11	22	35	6C	23A	16	33	34	46	31		9A	9N	20	NT ^{c)}	
小児	11 (9.3)	8 (6.8)	3 (2.5)	5 (4.2)	17 (14.4)	8 (6.8)	6 (5.1)	11 (9.3)	2 (1.7)	2 (1.7)	3 (2.5)	2 (1.7)	2 (1.7)	1 (0.8)	1 (0.8)	1 (0.8)	1 (0.8)	1 (0.8)	1 (0.8)	1 (1.1)	1 (1.1)	1 (1.1)	1 (1.1)	37 (31.4)	118 (100)
成人	3 (6.4)	1 (2.1)	1 (2.1)	1 (2.1)	6 (12.8)	2 (4.3)	2 (4.3)	2 (4.3)	4 (8.5)	4 (6.4)	3 (6.4)	3 (6.4)	1 (2.1)	1 (1.1)	1 (1.1)	1 (1.1)	19 (40.4)	47 (100)							
高齢者	8 (9.1)	6 (6.8)	7 (8.0)	1 (1.1)	16 (18.2)	1 (1.1)	6 (6.8)	4 (4.5)	4 (4.5)	4 (4.5)	2 (2.3)	3 (3.4)	1 (1.1)	2 (2.3)	1 (1.1)	2 (2.3)	1 (1.1)	16 (18.2)	88 (100)						
不明	1 (5.9)				4 (23.5)	1 (5.9)	1 (5.9)	1 (5.9)	2 (11.8)	2 (11.8)	1 (5.9)	7 (41.2)	17 (100)												

a) PCV7 及び PCV13 含有血清型, b) PCV13 含有血清型, c) 型別不能株
小児: 15 歳未満, 成人: 15 歳~64 歳, 高齢者: 65 歳以上, 不明: 年齢不明

マクロライド系抗菌薬である CAM 及び AZM の MIC₉₀ は >64 µg/mL であった。テトラサイクリン系抗菌薬である MINO の MIC₉₀ は 16 µg/mL であった。gPRSP に対するマクロライド系及びテトラサイクリン系抗菌薬の MIC₉₀ は, gPSSP と比較して差が認められなかった (Table 5)。

本成績と 2010~2011 年⁷⁾ の各薬剤の MIC₅₀ 及び MIC₉₀ を比較すると, CVA/AMPC, TAZ/PIPC 及び IPM の MIC₅₀ が 1/4 に減少したが, 他に変動は認められなかった。

患者年代別における各種抗菌薬の MIC range, MIC₅₀ 及び MIC₉₀ を Table 6 に示す。CVA/AMPC, TAZ/PIPC 及び CFDN の MIC₅₀ 以外に患者年代別で 4 倍以上の差は認められなかった。これらの成績を 2010 年~2011 年分離株⁷⁾ と比較したところ, 小児由来株に対しては PCG の MIC₅₀ が 1/4 に減少した他に明確な変動はなかった。

6. キノロン耐性決定領域 (QRDR) のアミノ酸変異部位の特定

今回分離された LVFX 耐性株 5 株に対して, QRDR のアミノ酸配列を解析した結果, 5 株全て ParC 及び GyrA に変異を有していた。また, 3 株が ParE に, 1 株が GyrB に変異を有していた。

III. 考 察

我々はこれまでに岐阜及び愛知県内で分離された各種病原細菌についてサーベイランスを実施しており^{4~7,14~20)}, *S. pneumoniae* に関しては 1999 年から継続的に行ってきた。今回, 我々は 2011~2012 年に同地域で分離された *S. pneumoniae* 270 株の PBP 遺伝子変異, マクロライド耐性遺伝子の有無, 血清型及び各種抗菌薬に対する感受性を検討し, 過去の成績と比較した。

2012 年に発行された CLSI が定める髄膜炎以外の感染症に対する PCG の感受性基準²¹⁾ を参考に

Table 2. 各種抗菌薬に対する *Streptococcus pneumoniae* 270株の感受性分布及びMIC₅₀, MIC₉₀ (ペニシリン系抗菌薬)

Antimicrobial agents	MIC (μg/mL)																MIC ₅₀		MIC ₉₀			
	total	≤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		
PGG	270																					
	ePSSP	15				11	57	55	28	27	15	37	35	4							0.125	2
	ePTSP	162				11	2	1	27	17	7	1	1								0.0156	0.0313
ePRSP	93					55	54	27	10	8	36	34	4							0.0625	0.25	
ABPC	270																					
	ePSSP	15				1	9	88	37	23	34	14	45	17	1	1					0.125	2
	ePTSP	162				1	9	5	83	37	21	18	3								0.0313	0.0625
ePRSP	93					16	78	47	28	27	14	53	6	1						0.0625	0.5	
SBT/ABPC	270																					
	ePSSP	15				13	2	76	47	25	8	3									0.125	2
	ePTSP	162				3	76	47	25	8	3										0.0313	0.0625
ePRSP	93					16	78	47	28	27	14	53	6	1						0.125	2	
AMPC	270																					
	ePSSP	15				2	34	98	19	39	15	53	9	1							0.125	1
	ePTSP	162				2	13	98	18	22	3										0.0313	0.0313
ePRSP	93					21	98	1	17	15	50	9	1							0.0625	0.25	
CVA/AMPC	270																					
	ePSSP	15				1	39	93	13	42	19	51	9	1							0.0625	1
	ePTSP	162				1	13	93	13	26	3										0.0313	0.0313
ePRSP	93					1	26	93	16	19	48	9	1							0.0625	0.25	
PIPC	270																					
	ePSSP	15				3	34	53	32	24	37	27	53	4	2						0.25	2
	ePTSP	162				3	9	2	1												0.0313	0.0625
ePRSP	93					25	51	31	22	26	3	2	1							0.125	0.5	
TAZ/PIPC	270																					
	ePSSP	15				1	17	58	53	11	6	38	21	51	12	2					0.125	2
	ePTSP	162				1	8	5	1	5	23	5	3	1							0.0156	0.0313
ePRSP	93					9	53	52	11	1	15	16	48	11	2					0.0625	0.5	

PGG: benzylpenicillin, ABPC: ampicillin, SBT/ABPC: sulbactam/ ampicillin (1:2), AMPC: amoxicillin, CVA/AMPC: clavulanic acid/ amoxicillin (1:14), PIPC: piperacillin, TAZ/PIPC: tazobactam/ piperacillin (TAZ 4 μg/mL)

Table 6. 各患者年代における各種抗菌薬の *Streptococcus pneumoniae* 270 株に対する MIC range 及び MIC₅₀, MIC₉₀

薬剤	年代	MIC range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
PGG	小児	0.0156 - 4	0.125	2
	成人	0.0156 - 4	0.125	2
	高齢者	0.0156 - 4	0.125	2
ABPC	小児	0.0313 - 16	0.25	2
	成人	0.0156 - 4	0.125	4
	高齢者	0.0313 - 8	0.125	2
SBT/ABPC ^{a)}	小児	0.0313 - 16	0.25	2
	成人	0.0313 - 4	0.25	2
	高齢者	0.0313 - 4	0.125	2
AMPC	小児	0.0313 - 8	0.125	1
	成人	0.0313 - 2	0.125	1
	高齢者	0.0156 - 2	0.0625	1
CVA/AMPC ^{b)}	小児	0.0156 - 8	0.25	1
	成人	0.0313 - 2	0.125	1
	高齢者	0.0078 - 2	0.0625	1
PIPC	小児	0.0078 - 8	0.25	2
	成人	0.0313 - 4	0.25	2
	高齢者	0.0156 - 8	0.25	2
TAZ/PIPC ^{c)}	小児	0.0156 - 8	0.5	2
	成人	0.0156 - 4	0.0625	2
	高齢者	0.0078 - 8	0.0625	2
GDTR	小児	0.0039 - 16	0.25	0.5
	成人	0.0078 - 8	0.125	0.5
	高齢者	0.0078 - 4	0.25	0.5
CFDN	小児	0.0313 - 64	1	4
	成人	0.0625 - 16	0.25	4
	高齢者	0.0313 - 32	1	4
CFPN	小児	0.0039 - 32	0.5	1
	成人	0.0078 - 8	0.5	1
	高齢者	0.0078 - 8	0.5	1
CFTM	小児	0.0078 - 64	0.5	1
	成人	0.0078 - 16	0.25	1
	高齢者	0.0156 - 8	0.5	1
CTRX	小児	0.0156 - 32	0.5	1
	成人	0.0156 - 4	0.25	1
	高齢者	0.0313 - 4	0.5	1
FMOX	小児	0.0625 - 32	0.5	4
	成人	0.125 - 8	0.25	4
	高齢者	0.0625 - 8	0.25	4

薬剤	年代	MIC range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
IPM	小児	0.0039 - 1	0.0156	0.125
	成人	0.002 - 0.25	0.0156	0.125
	高齢者	0.002 - 0.5	0.0078	0.125
MEPM	小児	0.0078 - 2	0.0313	0.25
	成人	0.0078 - 0.5	0.0313	0.25
	高齢者	0.0078 - 0.5	0.0156	0.5
PAPM	小児	0.002 - 0.5	0.0156	0.125
	成人	0.002 - 0.25	0.0156	0.125
	高齢者	≤0.001 - 0.25	0.0156	0.125
DRPM	小児	0.0039 - 2	0.0313	0.25
	成人	0.0039 - 0.5	0.0156	0.25
	高齢者	0.0039 - 0.5	0.0156	0.25
GRNX	小児	0.0156 - 0.5	0.0625	0.0625
	成人	0.0313 - 1	0.0625	0.0625
	高齢者	0.0313 - 2	0.0625	0.125
TFLX	小児	0.0625 - 8	0.25	0.25
	成人	0.125 - 32	0.25	0.25
	高齢者	0.125 - 32	0.25	0.5
PZFX	小児	0.5 - 32	2	4
	成人	1 - 32	2	4
	高齢者	0.5 - 32	2	4
MFLX	小児	0.125 - 4	0.5	0.5
	成人	0.25 - 4	0.5	0.5
	高齢者	0.125 - 8	0.5	0.5
LVFX	小児	1 - 8	1	2
	成人	1 - 16	1	2
	高齢者	0.5 - 32	2	2
CAM	小児	0.125 - >64	>64	>64
	成人	0.125 - >64	>64	>64
	高齢者	0.0625 - >64	>64	>64
AZM	小児	0.25 - >64	>64	>64
	成人	0.25 - >64	>64	>64
	高齢者	0.25 - >64	>64	>64
MINO	小児	0.125 - 32	8	16
	成人	0.125 - 16	8	16
	高齢者	0.125 - 16	8	16

a) SBT/ABPC=1:2, b) CVA/AMPC=1:14, c) TAZ/PIPC: TAZ 4 μg/mL, 小児: 15歳未満 (118株), 成人: 15歳-64歳 (47株), 高齢者: 65歳以上 (88株)

すると、2011～2012年分離株において耐性株は検出されず、中等度耐性株は分離されたものの感
性率は98.5%と高い結果であった。PCGの感受性
基準は2008年に現在の基準に改定されており、
過去のサーベイランスの結果と比較するため、
2007年以前の感受性基準²²⁾を参考にして、今回
の感性率を算出した。その結果、1999年、2004
年、2008年～2009年、2010年～2011年及び
2011～2012年分離株の感性率はそれぞれ36.7%
(47株/128株)⁴⁾、30.0% (48株/160株)⁵⁾、37.9%
(143株/377株)⁶⁾、39.1% (101株/258株)⁷⁾、45.9%
(124株/270株)であり、1999年から2004年にか
けてはPCGの感性率が低下し耐性化傾向が認め
られたが、2004年以降は感性率に回復傾向が見ら
れた。東北地方で1998年～2007年に実施された
サーベイランスの成績²³⁾においても、PCGの中
等度耐性及び耐性を合わせた比率(耐性率)は
2003年が最も高く、その後は減少傾向を示してい
た。また、近年の全国サーベイランスの成績^{3,24,25)}
においても2004年以降は耐性率の増加傾向は認め
られていない。地域別若しくは全国のいずれに
おいてもPCGの耐性化は進行しておらず、今回
の我々のサーベイランスと同様の結果であった。

2010年～2011年分離株と比較して、2011年～
2012年分離株のPCGの感性率が上昇した要因の
一つとして、小児用ワクチンPCV7の効果が考え
られた。PCV7は2010年に接種可能となり、2011
年にはその接種率が50～60%であったと報告さ
れている²⁶⁾。岐阜及び愛知県下分離小児由来株に
おけるPCV7でカバーされる血清型の分離頻度
は、導入前の2008～2009年分離株が50.7% (72
株/142株)⁶⁾、導入直後の2010～2011年分離株が
43.8% (60株/137株)⁷⁾、今回の2011～2012年分
離株が22.9% (27株/118株)であり、PCV7の普及
により血清型の分離頻度が変動したと推測され
た。PCV7でカバーされる19F型、23F型及び6B
型は小児から高頻度に検出され、gPRSPの割合が

高いことが報告されている²⁷⁾。2010年～2011年
分離株⁷⁾と比較して、2011年～2012年分離株で
は小児におけるこれらの血清型の分離頻度は、
19F型が18.2%から9.3%、23F型が8.8%から6.8%、
6B型が10.2%から2.5%に減少した。また、患者
年代別の薬剤感受性成績を2010年～2011年⁷⁾の
結果と比較すると、小児由来株に対するPCGの
MIC₅₀が1/4に減少した。PCV7の使用に伴い、小
児由来株においてgPRSPの分離頻度が高い血清
型が減少し、PCGの感性率が上昇したと考えられ
た。成人及び高齢者由来株に対するPCGのMIC₅₀
及びMIC₉₀においてはそのような経年変化は認め
られなかったが、PCV7が先に導入されていたス
ペインにおいては、導入10年後に、接種対象では
ない成人由来株に対するPCGのMIC₅₀が集団免
疫の効果により1/8以下に減少したと報告されて
いる³⁰⁾。小児だけでなく、成人や高齢者におい
てもPCGの感性率の上昇が期待される。一方、今回
の成績において3型や19A型といったPCV7でカ
バーされない血清型の分離頻度の増加が認められ
た。2010年～2011年分離株⁷⁾と比較して、2011
年～2012年分離株では3型の分離頻度が5.8%か
ら14.4%に、19A型が5.8%から6.8%に上昇し
た。国外においても、PCV7導入後、小児の中耳
液から3型や19A型の分離頻度が増加したと報告
されている²⁸⁾。我々の結果における3型はいずれ
もgPISP若しくはgPRSP、19A型は、gPSSP若し
くはgPISPであった。国外のサーベイランスによ
ると、19A型については、ペニシリン低感受性株
が増加したと報告されている²⁹⁾。PCV7の普及に
よりPCG感性率が上昇したと推測されたが、カ
バーされない血清型の薬剤感受性の変動につい
ては今後も注意が必要であると考えられた。

患者年代別の血清型の分離頻度では、小児、成
人及び高齢者いずれの年代においても3型の分離
頻度が最も高かった。次に分離頻度が高い血清型
は、小児では19F型及び15型、成人では11型、高

高齢者では19A型であり、年代によって血清型別の分離頻度に違いが認められた。小児の急性中耳炎を対象とした米国及び国内のサーベイランスによると^{31,32)}、PCV7導入後の血清型の分離頻度は19F型が最も高く、次に3型であり、我々と同様の結果であった。また、高齢者の侵襲性肺炎球菌感染症を対象としたスペインのサーベイランスによると³³⁾、肺炎球菌23価ポリサッカライドワクチン (PPV23) を導入した際は血清型の分離頻度に大きな変化はなかったが、PCV7導入後は19A型が増加したと報告されている。我々の結果においても、2010年～2011年分離株⁷⁾と比較して、高齢者における19A型の分離頻度が2.4%から10.2%に増加しており、同様の傾向が認められた。

今回臨床分離された株において、マクロライド系抗菌薬に高度耐性を示す *ermB* 保有株は依然として50%を超えていた。CLSIの感受性基準²¹⁾を参考とした2004年、2008～2009年、2010～2011年及び2011～2012年のCAMの感性率はそれぞれ20.6% (33株/160株)⁵⁾、13.3% (50株/377株)⁶⁾、6.6% (17株/258株)⁷⁾、5.9% (16株/270株)であった。近年の全国サーベイランス^{3,24,25)}と同様に2004年以降にマクロライド系抗菌薬に対する耐性化の進行が顕著であった。

LVFX耐性株は5株 (1.9%) 分離され、その分離頻度は近年の全国的サーベイランスの成績 (0.9%)³⁾ よりやや高かった。過去の我々のサーベイランスの成績^{6,7)}と比較しても、微増傾向であった。QRDRに2箇所以上変異を有している株はキノロン系薬剤に対して耐性度が高いことが知られているが³⁴⁾、今回分離されたLVFX耐性株はいずれも5株全て2箇所以上の変異を有していた。LVFX耐性株は、過去の我々のサーベイランス^{6,7)}において高齢者から比較的高頻度に検出されていたが、今回、小児から1株検出された。この分離株に対するPCGのMICは1 μ g/mLであり、

2012年にCLSIが定めた感受性基準²¹⁾によると感性と判定された。また、血清型は6B型であり、PCV7でカバーされる血清型であった。一方、高齢者から分離された3株は、PCGのMICがいずれも2 μ g/mL若しくは4 μ g/mLであり感性から中等度耐性と判定され、マクロライド系薬剤であるCAMのMICも全て>64 μ g/mLと耐性であった。2010年に小児用キノロン系抗菌薬としてTFLX細粒が上市されて以降、我々は、特に小児由来肺炎球菌におけるキノロン耐性の動向を注視してきた。今回の調査においても、前回⁷⁾同様、明確な小児特有のキノロン耐性化は認められなかったが、小児でLVFX耐性株が1株分離されていることから、抗菌薬の安易な使用は避け、適正に使用することを心掛ける必要がある。TFLXや2009年に上市されたtebipenemのそれぞれの薬剤感受性は、上市以降で大きな変化は認められていないが^{6,7,35,36)}、今後の耐性化動向には注意を払う必要があると考えられた。

以上、今回のサーベイランス結果を過去の成績と比較したところ、PCV7導入により小児の血清型の分離頻度が著しく変動し、gPRSPの分離頻度の減少、PCGの感受性の上昇が認められた。いずれの年代の患者からもLVFX耐性株が検出され、特に高齢者由来のLVFX耐性株においては多剤耐性化の進行が懸念された。今後も継続的にサーベイランスを実施し、耐性化動向に注視していく必要があると考えられた。

利益相反自己申告：著者 舟津桃李、水永真吾、福田淑子、野村伸彦、満山順一は富山化学工業株式会社の社員であり、本研究は富山化学工業株式会社総合研究所で行われたものである。

参考文献

- 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) WATANABE, A.; K. YANAGIHARA, T. MATSUMOTO, *et al.*: Nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the Surveillance Committee of Japanese Society of Chemotherapy, Japanese Association for Infectious Diseases, and Japanese Society for Clinical Microbiology in 2009: general view of the pathogens' antibacterial susceptibility. *J. Infect. Chemother.* 18: 609~620, 2012
 - 3) 山口恵三, 大野 章, 石井良和, 他: 2010年に全国72施設の臨床材料から分離された12,866株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス。 *Jpn. J. Antibiotics* 65: 181~206, 2012
 - 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) 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
 - 6) 古家由理, 福田淑子, 野村伸彦, 他: 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 (2008~2009年)。 *Jpn. J. Antibiotics* 65: 1~14, 2012
 - 7) 江藤麻希, 水永真吾, 福田淑子, 他: 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 (2010~2011年)。 *Jpn. J. Antibiotics* 66: 265~282, 2013
 - 8) 日本臨床微生物学会: 「疫学研究に関する倫理指針」の施行等について。 *日本臨床微生物学会誌* 12: 141, 2002
 - 9) 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
 - 10) Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard-ninth edition. M07-A9, 2012
 - 11) 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
 - 12) MAEDA, Y.; M. MURAYAMA, C. E. GOLDSMITH, *et al.*: Molecular characterization and phylogenetic analysis of quinolone resistance-determining regions (QRDRs) of *gyrA*, *gyrB*, *parC* and *parE* gene loci in viridans group streptococci isolated from adult patients with cystic fibrosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 66: 476~486, 2011
 - 13) GERISCHER, U.: Direct sequencing of DNA produced in a polymerase chain reaction. *Methods Mol. Biol.* 167: 53~61, 2001
 - 14) 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
 - 15) 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
 - 16) 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
 - 17) 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
 - 18) 藤原将祐, 水永真吾, 野村伸彦, 他: 岐阜県及び愛知県下において分離された緑膿菌の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス (2008年)。 *Jpn. J. Antibiotics* 65: 15~26, 2012
 - 19) 高倉真理子, 福田淑子, 野村伸彦, 他: 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)。 *Jpn. J. Antibiotics* 65: 305~321, 2012
 - 20) 中川哲史, 久田晴美, 野村伸彦, 他: 岐阜県及び愛知県下において分離された基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生株に対する各種抗菌薬の抗菌活性サーベイランス。 *Jpn. J.*

- Antibiotics 66: 251~264, 2013
- 21) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second Informational Supplement. M100-S22, 2012
 - 22) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth Informational Supplement. M100-S17, 2007
 - 23) SUZUKI, K.; K. NISHIMAKI, K. OKUYAMA, *et al.*: Trends in antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in the Tohoku district of Japan: a longitudinal analysis from 1998 to 2007. *Tohoku J. Exp. Med.* 220: 47~57, 2010
 - 24) 山口恵三, 大野 章, 石井良和, 他: 2004年に全国77施設から分離された臨床分離株18,639株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス。 *Jpn. J. Antibiotics* 59: 428~451, 2006
 - 25) 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
 - 26) CHIBA, N.; M. MOROZUMI, M. SHOUJI, *et al.*: Rapid decrease of 7-valent conjugate vaccine coverage for invasive pneumococcal diseases in pediatric patients in Japan. *Microb. Drug Resist.* 19: 308~315, 2013
 - 27) CHIBA, N.; M. MOROZUMI, K. SUNAOSHI, *et al.*: Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol. Infect.* 138: 61~68, 2010
 - 28) FENOLL, A.; L. AGUILAR, M. D. VICIOSO, *et al.*: Increase in serotype 19A prevalence and amoxicillin non-susceptibility among paediatric *Streptococcus pneumoniae* isolates from middle ear fluid in a passive laboratory-based surveillance in Spain, 1997–2009. *BMC Infect. Dis.* 11: 239, 2011
 - 29) LIÑARES, J.; C. ARDANUY, R. PALLARES, *et al.*: Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period. *Clin. Microbiol. Infect.* 16: 402~410, 2010
 - 30) FENOLL, A.; L. AGUILAR, M. J. GIMÉNEZ, *et al.*: Variations in serotypes and susceptibility of adult non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates between the periods before (May 2000–May 2001) and 10 years after (May 2010–May 2011) introduction of conjugate vaccines for child immunisation in Spain. *Int. J. Antimicrob. Agents* 40: 18~23, 2012
 - 31) McELLISTREM, M. C.; J. M. ADAMS, K. PATEL, *et al.*: Acute otitis media due to penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* before and after the introduction of the pneumococcal conjugate vaccine. *Clin. Infect. Dis.* 40: 1738~1744, 2005
 - 32) OTSUKA, T.; O. KITAMI, K. KONDO, *et al.*: Incidence survey of acute otitis media in children in Sado Island, Japan-Sado Otitis Media Study (SADOMS). *PLoS One* 8: e68711, 2013
 - 33) ARDANUY, C.; J. M. MARIMÓN, L. CALATAYUD, *et al.*: Epidemiology of invasive pneumococcal disease in older people in Spain (2007–2009) : implications for future vaccination strategies. *PLoS One* 7: e43619, 2012
 - 34) WEIGEL, L. M.; G. J. ANDERSON, R. R. FACKLAM, *et al.*: Genetic analyses of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 3517~3523, 2001
 - 35) 山田恵子, 菅野利恵, 馬場信吉, 他: Tebipenemの*in vitro*抗菌活性。 *日本化学療法学会雑誌* 57: 1~14, 2009
 - 36) TAJIMA, T.; Y. SATO, Y. TOYONAGA, *et al.*: Nationwide survey of the development of drug-resistant pathogens in the pediatric field in 2007 and 2010: drug sensitivity of *Streptococcus pneumoniae* in Japan (second report). *J. Infect. Chemother.* 19: 510~516, 2013

Sensitivity surveillance of *Streptococcus pneumoniae* isolates for several antibacterial agents in Gifu and Aichi prefectures (2011-2012)

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

TORI FUNATSU, SHINGO MIZUNAGA,
YOSHIKO FUKUDA and NOBUHIKO NOMURA
Research Laboratories,
Toyama Chemical Co., Ltd.

JUNICHI MITSUYAMA
Development Division,
Toyama Chemical Co., Ltd.

KAZUKIYO YAMAOKA
Gifu University of Medical Science

YUKO ASANO
Department of Clinical Laboratory Medicine,
Ogaki Municipal Hospital

HIROTOSHI OHTA
Clinical Laboratory of Internal Medicine,
Gifu University School of Medicine

NAOHIRO SHIBATA
Clinical Laboratories, Tohno Kosei Hospital

HIKONORI HASHIDO
Clinical Laboratories,
Takayama Red Cross Hospital

MASAKAZU HATANO
Clinical Laboratories, Chuno Kosei Hospital

SHIGENORI MATSUBARA
Matsubara Otorhinolaryngology Clinic

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

HIROYUKI SUEMATSU, HARUKI SAWAMURA
and YOKO MATSUKAWA
Department of Infection
Control and Prevention,
Aichi Medical University Hospital

YUKA YAMAGISHI and HIROSHIGE MIKAMO
Department of Clinical Infectious Diseases,
Aichi Medical University Hospital

We investigated the susceptibility to antibacterial agents, genotype of penicillin-binding protein (PBP) genes and macrolide resistant genes, and the serotypes against 270 strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated from medical facilities in Gifu and Aichi prefectures between October 2011 and April 2012. These results were compared with those against *S. pneumoniae* isolated in 2008-2009 and 2010-2011.

The number of gPSSP with 3 normal PBP genes, gPISP with 1 or 2 normal PBP genes and gPRSP with 3 abnormal genes isolated in 2011-2012 was 15 (5.6%), 162 (60.0%) and 93 (34.4%) strains, respectively. Compared with those isolated in 2008-2009 and 2010-2011, the numbers of gPRSP were decreasing. On the other hand, the isolates with no macrolide-resistant gene, only *mefA*, only *ermB*, and both *mefA* and *ermB* were 16 (5.9%), 75 (27.8%), 153 (56.7%) and 26 (9.6%). Compared with those isolated in 2008-2009 and 2010-2011, the numbers of isolates with *ermB*, which was usually associated with high-level resistance, were increasing.

The prevalent pneumococcal serotypes in children were type 3 (14.4%), following by type

15 and 19F (9.3%). The coverages of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) were calculated as 22.9% and 49.2%, respectively. The coverages of PCV7 and PCV13 in gPRSP isolated from children were 47.7% (21/44 strains) and 72.7% (32/44 strains).

The MIC₉₀ of each antibacterial agent was as follows; 0.125 µg/mL for imipenem, panipenem and garenoxacin, 0.25 µg/mL for meropenem and doripenem, 0.5 µg/mL for cefditoren, moxifloxacin and tosufloxacin, 1 µg/mL for amoxicillin, clavulanic acid/amoxicillin, cefteteram, cefcapene and ceftriaxone, 2 µg/mL for benzylpenicillin, ampicillin, sulbactam/ampicillin, piperacillin, tazobactam/piperacillin and levofloxacin, 4 µg/mL for cefdinir, flomoxef and pazufloxacin, 16 µg/mL for minocycline, >64 µg/mL for clarithromycin and azithromycin, and these MIC₉₀s were about the same as those in 2010-2011.