

〈原 著〉

中部地方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 (2015年～2016年)中部アンチバイオグラム研究会
富士フィルム富山化学株式会社門田卓美・野村伸彦・満山順一
富士フィルム富山化学株式会社板谷和也
富士フィルム株式会社太田浩敏
岐阜大学医学部附属病院検査部波多野正和
岐阜県厚生農業協同組合連合会
中濃厚生病院検査科八島繁子
岐阜県立多治見病院臨床検査科森田恵理
岐阜赤十字病院検査部坂本純子
富山大学附属病院検査・輸血細胞治療部山本善裕
富山大学附属病院感染症科飛田征男
福井大学医学部附属病院検査部岩崎博道
福井大学医学部附属病院感染制御部大野智子
愛知医科大学病院感染制御部山岸由佳・三嶋廣繁
愛知医科大学病院感染症科

(2019年3月18日受付)

2015年4月から2016年3月の期間に中部地方の医療施設で分離された肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 138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, 莢膜血清型分布及び各種抗菌薬に対する感受性について調査し, 過去のサーベイランス結果と比較検討した。

臨床分離された *S. pneumoniae* 138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 (10.9%), *pbp1a*, *pbp2b*,

*pbp2x*の3種類の遺伝子のうち、1又は2つの遺伝子に変異を有する genotype penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (gPISP) は82株 (59.4%)、3つの遺伝子全てに変異を有する genotype penicillin-resistant *S. pneumoniae* (gPRSP) は41株 (29.7%) であった。また、*mefA* 及び *ermB* のいずれも保有しない株の分離頻度は2.9% (4/138株) であり、経年的な低下傾向が認められた。

小児 (15歳以下) 由来の61株において、13価肺炎球菌結合型ワクチン (13-valent pneumococcal conjugate vaccine, PCV13) に含まれる血清型のうち、3型 (14/61株, 23.0%) 及び19A型 (4/61株, 6.6%) 以外の血清型は分離されなかった。成人 (16~64歳) 及び高齢者 (65歳以上) 由来株においてもPCV13に含まれる血清型の分離頻度は低く、小児と同様の血清型分布を示し、小児のPCV13接種の普及による成人及び高齢者への間接効果が示唆された。PCV13及び23価多糖体ワクチンのいずれにも含まれない非ワクチン血清型では、35B型 (13/138株, 9.4%) が最も多く分離され、次いで15A型 (10/138株, 7.2%) が分離された。

Benzylpenicillinの90%最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC₉₀) は2µg/mLであり、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の基準による感性率は96.4%と高い値を維持していた。ペニシリン系、セフェム系、マクロライド系及びキノロン系薬のMIC₉₀は、前回調査した2011~2012年の結果と比較して明らかな変化は認められなかった。一方、カルバペネム系薬では2倍又は4倍の上昇が認められた。特に、gPRSPに対するmeropenemのMIC₉₀は0.5µg/mLであり、感性率は26.8%と、2011~2012年の結果と比較して感性率の低下が認められた。

今回の検討では、小児の肺炎球菌ワクチン接種の普及が要因と考えられる血清型分布の変動や薬剤感受性の変化が認められた。今後も、薬剤耐性化の動向を把握するために、継続的なサーベイランスが重要であると考えられた。

序文

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) は呼吸器及び耳鼻咽喉科領域感染症の主要原因菌であり、敗血症や髄膜炎などの侵襲性肺炎球菌感染症 (invasive pneumococcal disease: IPD) を引き起こす^{1,2)}。IPDの予防のため、米国では、2000年から小児に対する7価肺炎球菌結合型ワクチン (7-valent pneumococcal conjugate vaccine, PCV7) の接種が開始された。2010年には13価のPCV13に切り替わり、IPDを劇的に減少させたことが報告されている^{3,4)}。その一方で、PCV13に含まれない莢膜

血清型、いわゆる非ワクチン血清型の分離頻度が上昇し、それらの血清型ではペニシリン系薬を含めた各種抗菌薬に対する感受性の低下が認められている⁵⁾。

日本においても、2010年に小児に対するPCV7が導入された。2011年に開始された公費助成、2013年に開始されたPCV13の定期接種により、小児におけるワクチン接種率が上昇するとともに、IPDが減少したことが報告されている⁶⁾。また、65歳以上の成人 (高齢者) に対する23価多糖体ワクチン (23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine, PPSV23) の定期接種が2014年に開始され、PCV13の適応も高齢者に拡大されるなど、近年、

日本における肺炎球菌感染症予防のためのワクチン接種に関する医療制度も大きく変化している。

一方、 β -ラクタム系薬及びマクロライド系薬などの各種抗菌薬に対する *S. pneumoniae* の耐性化が臨床的な問題となっており⁷⁻⁹⁾、近年ではキノロン耐性株も臨床分離され^{10,11)}、*S. pneumoniae* の多剤耐性化が懸念されることから、薬剤感受性の動向に注視する必要がある。

中部アンチバイオグラム研究会では、1999年以降、*S. pneumoniae* の各種抗菌薬に対する薬剤感受性、ペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding protein, PBP) をコードする *pbp* 遺伝子変異、マクロライド耐性遺伝子の有無、血清型を継続的に調査してきた¹²⁻¹⁷⁾。2011~2012年の調査では、小児においてPCV7に含まれる血清型が減少し、benzylpenicillin (PCG) に対する感受性が上昇したが、キノロン耐性株の増加傾向が認められた¹⁷⁾。この調査から3年が経過し、その間に小児のPCV13定期接種及び高齢者のPPSV23定期接種が開始されていることから、各種抗菌薬に対する感受性や血清型分布が変化していることが予想される。そこで今回、2015~2016年に中部地方で分離された *S. pneumoniae* について薬剤感受性、*pbp* 遺伝子変異型、マクロライド耐性遺伝子の有無及び血清型分布を調査し、既報の調査結果との比較により経年的な変化を検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

2015年4月から2016年3月の期間に岐阜県立多治見病院、愛知医科大学病院、岐阜県厚生農業協同組合連合会中濃厚生病院、富山大学附属病院、岐阜大学医学部附属病院、岐阜赤十字病院、福井大学医学部附属病院で分離された *S. pneumoniae* 138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 (日本バイオ

テスト研究所) 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使用した。これらの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”¹⁸⁾ を遵守し、連結不可能匿名化された情報のみを用いた。

2. *pbp* 遺伝子及びマクロライド耐性遺伝子の検討

pbp 遺伝子及びマクロライド耐性遺伝子 (*mefA* 及び *ermB*) の検出は、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法で行った。*pbp* 遺伝子変異については、生方らの基準¹⁹⁾ に従い、*pbp1a*、*pbp2b* 及び *pbp2x* の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又は2つに変異を有する株を genotype penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (gPISP)、全てに変異を有する株を genotype penicillin-resistant *S. pneumoniae* (gPRSP) とした。

3. 莢膜血清型別試験

莢膜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、亜型は抗莢膜血清 (PNEUMOCOCCAL ANTISERA, Statens Serum Institut) を用いた莢膜膨化試験で決定した。

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) 法に従い^{20,21)}、フローズプレート‘栄研’ (栄研化学) を用いた微量液体希釈法で測定した。感受性測定には、ペニシリン系薬として amoxicillin (AMPC)、clavulanic acid/amoxicillin (CVA/AMPC)、PCG、ampicillin (ABPC)、sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC)、

piperacillin (PIPC) 及び tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), セフェム系薬として cefdinir (CFDN), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), cefteteram (CFTM) 及び ceftriaxone (CTRX), カルバペネム系薬として tebipenem (TBPM), imipenem (IPM) 及び meropenem (MEPM), キノロン系薬として levofloxacin (LVFX), tosufloxacin (TFLX), moxifloxacin (MFLX), garenoxacin (GRNX) 及び pazufloxacin (PZFX), マクロライド系薬として clarithromycin (CAM) 及び azithromycin (AZM) の計 22 薬剤を用いた。なお, CVA/AMPC, SBT/ABPC 及び TAZ/PIPC は, それぞれ AMPC, ABPC 及び PIPC 換算として測定した。CVA/AMPC は 1:2 又は 1:14 の濃度比, SBT/ABPC は 1:2 の濃度比, TAZ/PIPC は TAZ 濃度を $4 \mu\text{g/mL}$ に固定して感受性を測定した。

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* 138 株の分離施設別内訳は, 岐阜県立多治見病院 39 株, 愛知医科大学病院 33 株, 中濃厚生病院 26 株, 富山大学附属病院 19 株, 岐阜大学医学部附属病院 11 株, 岐阜赤十字病院 6 株, 福井大学医学部附属病院 4 株であった。被験菌株の内訳を Table 1 に示す。

患者年齢区分別の内訳は, 15 歳以下の小児由来株 61 株 (44.2%), 16~64 歳の成人由来株 18 株 (13.0%), 高齢者 (65 歳以上) 由来株 59 株 (42.8%) であった。分離材料別では, 喀痰 71 株 (51.4%), 鼻腔 32 株 (23.2%), 咽頭 25 株 (18.1%), 血液 4 株 (2.9%) であり, その他の材料から 6 株分離された。

2. *pbp* 遺伝子変異株の分離頻度

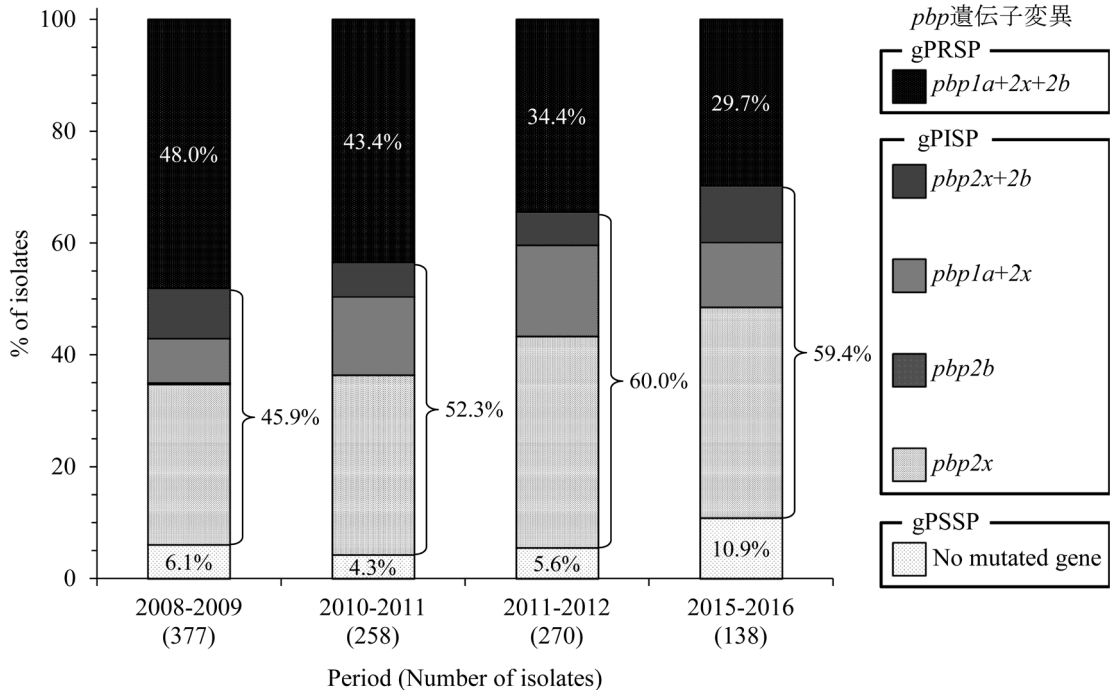
pbp 遺伝子変異株の分離頻度の経年変化を Fig. 1 に示す。なお, 2008~2009 年¹⁵⁾, 2010~2011 年¹⁶⁾

Table 1. *Streptococcus pneumoniae* 138 株の由来

Characteristic	Number of isolates (rate, %)
Sex	
Male	81 (58.7)
Female	57 (41.3)
Age	
Child (≤ 15)	61 (44.2)
Adult (16 - 64)	18 (13.0)
Elderly (≥ 65)	59 (42.8)
Outpatient/inpatient	
Outpatient	87 (63.0)
Inpatient	51 (37.0)
Clinical specimen	
Sputum	71 (51.4)
Nasal cavity	32 (23.2)
Pharynges	25 (18.1)
Blood	4 (2.9)
Otorrhea	2 (1.4)
Optical sample	2 (1.4)
Others	2 (1.4)

及び 2011~2012 年¹⁷⁾ については, 本研究会で調査した結果を表示した。今回調査した 2015~2016 年分離株 138 株のうち, gPSSP, gPISP 及び gPRSP はそれぞれ 15 株 (10.9%), 82 株 (59.4%) 及び 41 株 (29.7%) であった。なお, *pbp1a*, *pbp2b* 及び *pbp2x* に変異を有する株の分離頻度はそれぞれ 41.3%, 39.9% 及び 89.1% であった。

患者年齢区分別では, gPSSP の分離頻度は小児, 成人及び高齢者由来株でそれぞれ 9.8% (6/61 株), 22.2% (4/18 株) 及び 8.5% (5/59 株) と, 成人由来株で高い傾向を示した。gPRSP の分離頻度は小児, 成人及び高齢者由来株でそれぞれ 26.2% (16/61 株), 27.8% (5/18 株) 及び 33.9% (20/59 株) であった。小児, 成人及び高齢者由来株の *pbp1a* に変異を有する株の分離頻度はそれぞれ 45.9% (28/61 株), 33.3% (6/18 株) 及び 39.0% (23/59 株), *pbp2b* に変異を有する株ではそれぞれ 36.1% (22/61 株), 38.9% (7/18 株) 及び 44.1% (26/59 株), *pbp2x* に

Fig. 1. *pbp* 遺伝子変異株の分離頻度の経年変化

変異を有する株ではそれぞれ90.2% (55/61株), 77.8% (14/18株) 及び91.5% (54/59株)であった。

分離年別では, gPRSPの分離頻度は2008~2009年, 2010~2011年, 2011~2012年及び2015~2016年でそれぞれ48.0%, 43.4%, 34.4%及び29.7%と, 経年的な低下傾向が認められた。一方, gPSSPの分離頻度は, 2011~2012年の5.6%から2015~2016年の10.9%に上昇した。

3. マクロライド耐性遺伝子保有株の分離頻度

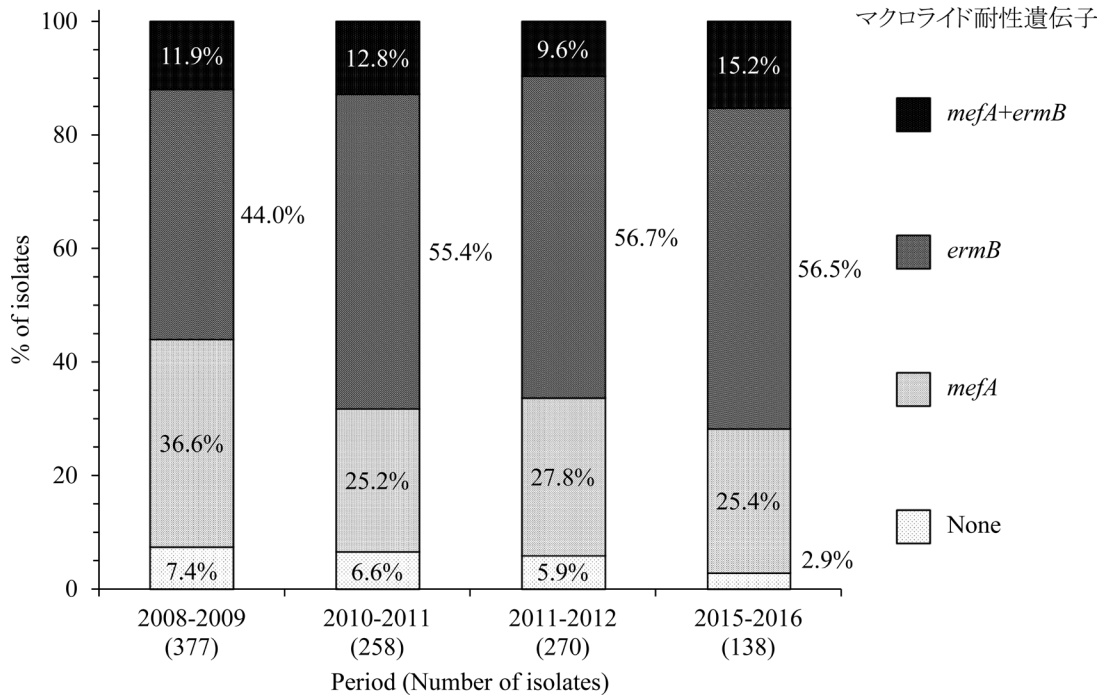
マクロライド耐性遺伝子保有株の分離頻度の経年変化をFig. 2に示す。なお, 2008~2009年¹⁵⁾, 2010~2011年¹⁶⁾ 及び2011~2012年¹⁷⁾ については, 本研究会で調査した結果を表示した。今回調査した2015~2016年分離株138株のうち, *mefA* 及び*ermB*のいずれも保有しない株は4株 (2.9%), *mefA*のみ保有する株は35株 (25.4%), *ermB*のみ

保有する株は78株 (56.5%), *mefA* 及び*ermB*の両方を保有する株は21株 (15.2%)であった。

患者年齢区分別では, 高度耐性に寄与する*ermB*を保有する株の分離頻度は小児, 成人及び高齢者由来株でそれぞれ75.4% (46/61株), 83.3% (15/18株) 及び64.4% (38/59株)と, 高齢者で低い傾向を示した。一方, *mefA* 及び*ermB*のいずれも保有しない株は高齢者由来株でのみ分離 (4/59株, 6.8%)された。*mefA* 及び*ermB*の両方を保有する株の分離頻度は, 小児, 成人及び高齢者由来株でそれぞれ8.2% (5/61株), 11.1% (2/18株) 及び23.7% (14/59株)と, 年齢上昇に伴う上昇傾向を示した。

分離年別では, *ermB*を保有する株の分離頻度は, 2008~2009年, 2010~2011年, 2011~2012年及び2015~2016年でそれぞれ56.0%, 68.2%, 66.3%及び71.7%であった。*mefA* 及び*ermB*のいずれも保有しない株の分離頻度はそれぞれ7.4%, 6.6%, 5.9%及び2.9%と, 経年的な低下傾向が認

Fig. 2. マクロライド耐性遺伝子保有株の分離頻度の経年変化



められた。

4. 肺炎球菌の莢膜血清型分布

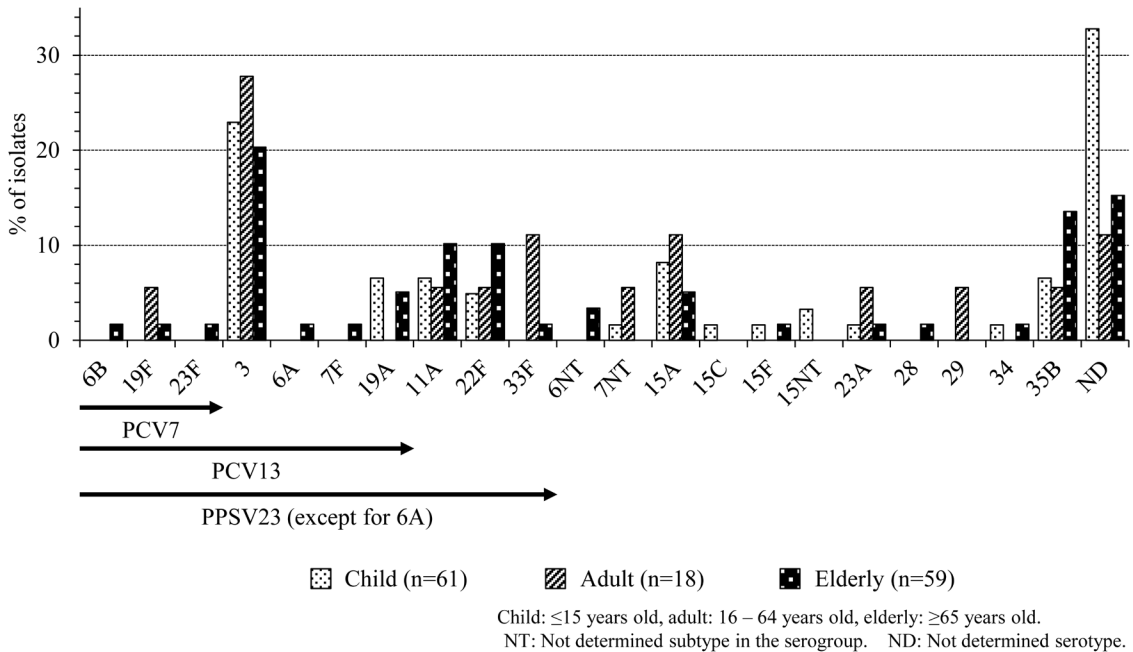
患者年齢区別の莢膜血清型分布を Fig. 3 に示す。小児由来株においてはPCV7に含まれる血清型は分離されなかった。また、PCV13に含まれる血清型では3型 (14/61株, 23.0%) と19A型 (4/61株, 6.6%) が分離され、PCV13のカバー率は29.5%であった。成人及び高齢者由来株においても、小児由来株と同様の血清型分布を示し、PCV13のカバー率はそれぞれ33.3%及び33.9%であった。高齢者由来株においてPPSV23にのみ含まれる血清型のうち、11A型 (6/59株, 10.2%), 22F型 (6/59株, 10.2%) 及び33F型 (1/59株, 1.7%) が分離され、PPSV23のカバー率は54.2%であった。非ワクチン血清型では、15A型、23A型及び35B型がいずれの患者年齢区分においても分離され、特に15A型及び35B型の分離頻度が高い傾向を示

した。15A型及び35B型の分離頻度は、小児由来株でそれぞれ8.2% (5/61株) 及び6.6% (4/61株)、成人由来株でそれぞれ11.1% (2/18株) 及び5.6% (1/18株)、高齢者由来株でそれぞれ5.1% (3/59株) 及び13.6% (8/59株) であった。血清型が判定できなかった株は、小児、成人及び高齢者由来株でそれぞれ20/61株 (32.8%), 2/18株 (11.1%) 及び9/59株 (15.3%) と、小児由来株で分離頻度が高かった。

5. 各種抗菌薬に対する感受性

調査した *S. pneumoniae* 138株及び *pbp* 遺伝子変異型別の各種抗菌薬に対する感受性分布、MIC₅₀ 及びMIC₉₀を Table 2~4に示す。なお、感性率はCLSIの基準²¹⁾により評価した。

ペニシリン系薬では、経口薬のMIC₉₀はAMPC, CVA/AMPC (1:2) 及びCVA/AMPC (1:14) でいずれも2µg/mL, AMPC及びCVA/AMPC (1:2) に

Fig. 3. 患者年齢区分別の *Streptococcus pneumoniae* 138株の血清型分布

に対する感性率はいずれも 98.6%であった。注射薬では、PCGの MIC_{90} は $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 、CLSIの髄膜炎以外の感染症に対する基準²¹⁾による感性率は96.4%であり、中等度耐性株が4株(2.9%)、耐性株が1株(0.7%)分離された。また、ABPC、SBT/ABPC、PIPC及びTAZ/PIPCの MIC_{90} はいずれも $4\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。gPSSP、gPISP及びgPRSPに対するPCGの MIC_{90} はそれぞれ $\leq 0.0625\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 0.5 及び $4\mu\text{g}/\text{mL}$ と、*pbp*遺伝子変異に伴う抗菌活性の低下が認められ、gPRSPに対する MIC_{90} はgPSSPの64倍以上であった。他のペニシリン系薬も同様にgPRSPに対する MIC_{90} はgPSSPの32倍又は64倍以上であった (Table 2)。

セフェム系薬では、経口薬のCDTR、CFPN、CFTM及びCFDNの MIC_{90} はそれぞれ、 0.5 、 1 、 1 及び $4\mu\text{g}/\text{mL}$ 、注射薬のCTRXで $1\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。CFDNに対する感性率は56.5%、CLSIの髄膜炎以外の感染症に対する基準²¹⁾によるCTRXに対する感性率は96.4%であった。gPRSPに対する

セフェム系薬の MIC_{90} はgPSSPの8倍~32倍以上であった (Table 3)。

カルバペネム系薬では、経口薬のTBPMの MIC_{90} は $0.125\mu\text{g}/\text{mL}$ 、注射薬のIPM及びMEPMでいずれも $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、IPM及びMEPMに対する感性率はそれぞれ76.1%及び78.3%であった。gPRSPに対するカルバペネム系薬の MIC_{90} はgPSSPの8倍以上又は32倍以上であった (Table 3)。

キノロン系薬では、GRNXの MIC_{90} は $\leq 0.0625\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、TFLX及びMFLXで $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ 、LVFXで $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 、PZFXで $4\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。LVFX及びMFLXに対する感性率はいずれも100%であり、今回調査した株ではキノロン耐性株は分離されなかった。キノロン系薬の MIC_{90} に*pbp*遺伝子変異型による差は認められなかった (Table 4)。

マクロライド系薬では、CAM及びAZMの MIC_{90} はそれぞれ >64 及び $>16\mu\text{g}/\text{mL}$ 、感性率はいずれも2.9%であった。マクロライド系薬の MIC_{90} に*pbp*遺伝子変異型による差は認められなかった

Table 2. *php* 遺伝子変異別の各種抗菌薬に対する *Streptococcus pneumoniae* 138株の感受性分布及び MIC₅₀, MIC₉₀ (ペニシリン系薬)

Antimicrobial agents	Number of isolates	MIC (μg/mL)												MIC ₅₀	MIC ₉₀				
		≤0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625#	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8			16	32	64	128*
AMPC	138	1	9	41	29	2	14	8	5	27	1	1						0.0625	2
	gPSSP	15	6	6	1	1												0.0313	0.0625
	gPISP	82	3	33	26	1	13	5	1									0.0625	0.25
	gPRSP	41	2	2	2	1	3	4	27	1	1							2	2
CVA/AMPC (1:2)	138	1	10	55	12	4	15	6	11	22	2							0.0625	2
	gPSSP	15	7	7														0.0156	0.0313
	gPISP	82	3	45	12	3	13	5	1									0.0313	0.25
	gPRSP	41	3	3	1	2	1	10	22	2								2	2
CVA/AMPC (1:14)	138	1	11	46	22	1	16	7	7	24	2	1						0.0625	2
	gPSSP	15	9	4	1													0.0156	0.0313
	gPISP	82	2	39	20	1	14	5	1									0.0313	0.25
	gPRSP	41	3	3	1	2	2	6	24	2	1							2	2
PCG	138				74	9	7	13	7	23	4	1						≤0.0625	2
	gPSSP	15			15													≤0.0625	≤0.0625
	gPISP	82			56	8	6	11	1									≤0.0625	0.5
	gPRSP	41			3	1	1	2	6	23	4	1						2	4
ABPC	138				65	17	1	14	6	11	21	3						0.125	4
	gPSSP	15			15													≤0.0625	≤0.0625
	gPISP	82			47	16	1	12	5	1								≤0.0625	0.5
	gPRSP	41			3	1	1	2	1	10	21	3						4	4
SBT/ABPC	138				67	14	1	15	7	11	21	2						0.125	4
	gPSSP	15			15													≤0.0625	≤0.0625
	gPISP	82			49	13	1	14	4	1								≤0.0625	0.5
	gPRSP	41			3	1	1	3	10	21	2							4	4
PIPC	138				69	8	2	2	20	9	27	1						≤0.0625	4
	gPSSP	15			15													≤0.0625	≤0.0625
	gPISP	82			52	7	2	1	17	3								≤0.0625	1
	gPRSP	41			2	1	1	3	6	27	1							4	4
TAZ/PIPC	138				79	1	1	11	10	9	26	1						≤0.0625	4
	gPSSP	15			15													≤0.0625	≤0.0625
	gPISP	82			61	1	1	10	8	2								≤0.0625	1
	gPRSP	41			3	3	1	1	2	7	26	1						4	4

*: As for AMPC, CVA/AMPC (1:2), and CVA/AMPC (1:14), this column means "≥64 μg/mL".

#: As for PCG, ABPC, SBT/ABPC, PIPC, and TAZ/PIPC, this column means "≤0.0625 μg/mL".

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

Table 3. *pbp* 遺伝子変異別の各種抗菌薬に対する *Streptococcus pneumoniae* 138 株の感受性分布及び MIC₅₀, MIC₉₀ (セフェム系及びカルバペネム系薬)

Antimicrobial agents	Number of isolates	MIC (µg/mL)																MIC ₅₀	MIC ₉₀
		≤0.0039	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625#	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16*	32	64	128*		
CFDN	138	1				10	7	27	33	15	15	25	1	2	1	1		0.5	4
	15				8	5	2											0.0625	0.25
	82	1			1	2	23	32	15	8								0.5	1
	41				1	2	1	2	1	7	25	1	2	1	1			4	8
CDTR	138		11	3	4	17	67	26	6	1	1	1	1				0.25	0.5	
	15		10	2	2	1											0.0156	0.0625	
	82		1	1	2	15	54	7	3								0.25	0.5	
	41		1	1	1	13	19	3	1	1	1	1					0.5	1	
CFPN	138	1	10	4	9	20	58	32	2	1	1	1					0.5	1	
	15	1	9	3	2												0.0156	0.125	
	82		1	1	7	17	43	14									0.5	1	
	41		1	1	3	15	18	2	1	1	1						1	1	
CFTM	138				17	9	24	55	26	3	1	1	1	1			0.5	1	
	15				14	1											≤0.0625	≤0.0625	
	82				2	8	20	40	10	2							0.5	1	
	41				1	4	15	16	1	1	1	1	1	1			1	2	
CTRX	138				16	6	25	65	21	2	1	1	1				0.5	1	
	15				14	1											≤0.0625	≤0.0625	
	82				1	5	24	46	5	1							0.5	0.5	
	41				1	1	19	16	1	1	1	1	1				0.5	1	
TBPM	138	79	14	6	6	19	13	1									≤0.0039	0.125	
	15	15															≤0.0039	≤0.0039	
	82	61	12	4	3	2											≤0.0039	0.0156	
	41	3	2	2	3	17	13	1									≤0.0625	0.125	
IPM	138				101	4	17	14	2								≤0.0625	0.5	
	15				15												≤0.0625	≤0.0625	
	82				81	1											≤0.0625	≤0.0625	
	41				5	3	17	14	2								0.25	0.5	
MEPM	138				94	5	9	29	1								≤0.0625	0.5	
	15				15												≤0.0625	≤0.0625	
	82				74	4	4										≤0.0625	≤0.0625	
	41				5	1	5	29	1								0.5	0.5	

*: As for CDTR, this column means ">64 µg/mL". #: As for CFTM, CTRX, IPM, and MEPM, this column means "≤0.0625 µg/mL". †: As for TBPM, this column means ">8 µg/mL".
 CFDN: cefdinir, CDTR: ceditoren, CFPN: cefcapene, CFTM: cefteram, CTRX: ceftriaxone, TBPM: tebipenem, IPM: imipenem, MEPM: meropenem.

Table 4. *pbp* 遺伝子変異別の各種抗菌薬に対する *Streptococcus pneumoniae* 138 株の感受性分布及び MIC₅₀, MIC₉₀ (キノロン系及びマクロライド系薬)

Antimicrobial agents	Number of isolates	MIC (µg/mL)										MIC ₅₀	MIC ₉₀											
		≤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				
LVFX	138							17	111	10										1	1			
gPSSP	15									15											1	1		
gPISP	82							13	63	6											1	1		
gPRSP	41							4	33	4											1	1		
TFLX	138					7	96	30	5												0.125	0.25		
gPSSP	15						11	4													0.125	0.25		
gPISP	82					5	54	19	4												0.125	0.25		
gPRSP	41					2	31	7	1												0.125	0.25		
MFLX	138					5	51	80	1	1											0.25	0.25		
gPSSP	15						6	9													0.25	0.25		
gPISP	82					4	29	49													0.25	0.25		
gPRSP	41					1	16	22	1	1											0.25	0.25		
GRNX	138					134	3	1													≤0.0625	≤0.0625		
gPSSP	15					15															≤0.0625	≤0.0625		
gPISP	82					80	2														≤0.0625	≤0.0625		
gPRSP	41					39	1	1													≤0.0625	≤0.0625		
PZFX	138									6	85	46	1								2	4		
gPSSP	15									12	3										2	4		
gPISP	82									4	47	30	1								2	4		
gPRSP	41									2	26	13									2	4		
CAM	138					3	1			12	21	2	3	1							1	94		
gPSSP	15					1				1	1											12		
gPISP	82					2				6	12	1	1	1								59		
gPRSP	41					1				5	8	1	2	1							1	23		
AZM	138					4				12	19	3	3	97							>16	>16		
gPSSP	15					1				1	2			12							>16	>16		
gPISP	82					2				5	12	1	62								>16	>16		
gPRSP	41					1				7	5	2	3	23							>16	>16		

*: As for LVFX, TFLX, MFLX, GRNX, and PZFX, this column means "≤0.0625 µg/mL". #: As for TFLX and AZM, this column means "≤16 µg/mL". †: As for GRNX and CAM, this column means ">64 µg/mL".

LVFX: levofloxacin, TFLX: tosufloxacin, MFLX: moxifloxacin, GRNX: garenoxacin, PZFX: pazufloxacin, CAM: clarithromycin, AZM: azithromycin.

Table 5. 患者年齢区分別の各種抗菌薬に対する *Streptococcus pneumoniae* 138株の感受性分布及びMIC₅₀, MIC₉₀

Antimicrobial agents	Age	Number of isolates	MIC (µg/mL)		Antimicrobial agents	Age	Number of isolates	MIC (µg/mL)	
			Range	MIC ₉₀				Range	MIC ₉₀
AMPC	Child	61	0.0156 - 4	0.0625	CTRX	Child	61	<0.0625 - 16	0.5
	Adult	18	0.0156 - 2	0.0625		Adult	18	<0.0625 - 1	0.5
	Elderly	59	0.0078 - 8	0.0625		Elderly	59	<0.0625 - 8	0.5
CVA/AMPC (1:2)	Child	61	0.0156 - 4	0.0625	TBPM	Child	61	<0.0039 - 0.125	<0.0039
	Adult	18	0.0156 - 2	0.0313		Adult	18	<0.0039 - 0.125	<0.0039
	Elderly	59	0.0078 - 4	0.0625		Elderly	59	<0.0039 - 0.25	<0.0039
CVA/AMPC (1:14)	Child	61	0.0156 - 4	0.0625	IPM	Child	61	<0.0625 - 1	<0.0625
	Adult	18	0.0156 - 2	0.0625		Adult	18	<0.0625 - 0.5	<0.0625
	Elderly	59	0.0078 - 8	0.0625		Elderly	59	<0.0625 - 1	<0.0625
PCG	Child	61	<0.0625 - 8	0.125	MEPM	Child	61	<0.0625 - 1	<0.0625
	Adult	18	<0.0625 - 4	<0.0625		Adult	18	<0.0625 - 0.5	<0.0625
	Elderly	59	<0.0625 - 4	<0.0625		Elderly	59	<0.0625 - 0.5	<0.0625
ABPC	Child	61	<0.0625 - 8	0.125	LVFX	Child	61	0.5 - 2	1
	Adult	18	<0.0625 - 4	0.125		Adult	18	0.5 - 2	1
	Elderly	59	<0.0625 - 8	0.125		Elderly	59	0.5 - 2	1
SBT/ABPC (1:2)	Child	61	<0.0625 - 8	0.125	TFLX	Child	61	<0.0625 - 0.5	0.125
	Adult	18	<0.0625 - 4	<0.0625		Adult	18	0.125 - 0.25	0.125
	Elderly	59	<0.0625 - 8	0.125		Elderly	59	<0.0625 - 0.5	0.125
PIP	Child	61	<0.0625 - 8	0.125	MFLX	Child	61	<0.0625 - 0.25	0.25
	Adult	18	<0.0625 - 4	0.125		Adult	18	0.125 - 1	0.25
	Elderly	59	<0.0625 - 4	<0.0625		Elderly	59	<0.0625 - 0.5	0.25
TAZ/PIPC (TAZ 4 µg/mL)	Child	61	<0.0625 - 8	<0.0625	GRNX	Child	61	<0.0625	<0.0625
	Adult	18	<0.0625 - 4	<0.0625		Adult	18	<0.0625 - 0.25	<0.0625
	Elderly	59	<0.0625 - 4	<0.0625		Elderly	59	<0.0625 - 0.125	<0.0625
CFDN	Child	61	0.0625 - 64	0.5	PZFX	Child	61	1 - 4	2
	Adult	18	0.0625 - 8	0.5		Adult	18	2 - 4	2
	Elderly	59	<0.0039 - 32	0.5		Elderly	59	1 - 8	2
CDTR	Child	61	0.0156 - 16	0.25	CAM	Child	61	1 - >64	>64
	Adult	18	0.0156 - 1	0.25		Adult	18	1 - >64	>64
	Elderly	59	0.0156 - 8	0.25		Elderly	59	0.0625 - >64	>64
CFPN	Child	61	0.0156 - 64	0.5	AZM	Child	61	2 - >16	>16
	Adult	18	0.0078 - 1	0.5		Adult	18	2 - >16	>16
	Elderly	59	0.0156 - 16	0.5		Elderly	59	0.125 - >16	>16
CFTM	Child	61	<0.0625 - 32	0.5	CVA/AMPC	Child	61	<0.0625	<0.0625
	Adult	18	<0.0625 - 2	0.25		Adult	18	<0.0625	<0.0625
	Elderly	59	<0.0625 - 16	0.5		Elderly	59	<0.0625	<0.0625

Child: ≤15 years old, adult: 16 - 64 years old, elderly: ≥65 years old. AMPC: amoxicillin, CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, PCG: benzylpenicillin, ABPC: ampicillin, SBT/ABPC: sulbactam/ampicillin, PIP: piperacillin, TAZ/PIPC: tazobactam/piperacillin, CFDN: ceftidione, CDTR: ceftiofen, CFPN: ceftazepime, CFTM: ceftoran, CTRX: ceftriaxone, TBPM: tebipenem, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, LVFX: levofloxacin, TFLX: tosufloxacin, MFLX: moxifloxacin, GRNX: garenoxacin, PZFX: pazufloxacin, CAM: clarithromycin, AZM: azithromycin.

(Table 4)。

本成績を2011～2012年分離株の各薬剤のMIC₉₀と比較すると¹⁷⁾、ペニシリン系、セフェム系、マクロライド系及びキノロン系薬では明らかな変化は認められなかったが、カルバペネム系薬では2倍又は4倍の上昇が認められた。

患者年齢区分別の各種抗菌薬のMIC range, MIC₅₀及びMIC₉₀をTable 5に示す。いずれの抗菌薬においてもMIC₅₀及びMIC₉₀の患者年齢区分による差は2倍以内であったが、小児及び高齢者由来株におけるセフェム系薬のMIC範囲の最大値が成人由来株よりも高い傾向を示し、4倍から64倍の差が認められた。また、小児及び成人由来株におけるマクロライド系薬のMIC範囲の最小値はいずれもCLSIの基準²¹⁾で耐性に分類される値であり、高齢者由来株と比較して16倍の差が認められた (Table 5)。

6. β-ラクタム系薬に対する感受性の経年変化

pbp 遺伝子変異型別の注射用β-ラクタム系薬に対する感受性の経年変化をFig. 4に示す。なお、2008～2009年 (Period 1)¹⁵⁾、2010～2011年 (Period 2)¹⁶⁾ 及び2011～2012年 (Period 3)¹⁷⁾ については、本研究会で調査した結果を表示した。なお、薬剤感受性はCLSIが定める髄膜炎以外の感染症に対する基準²¹⁾により評価した。

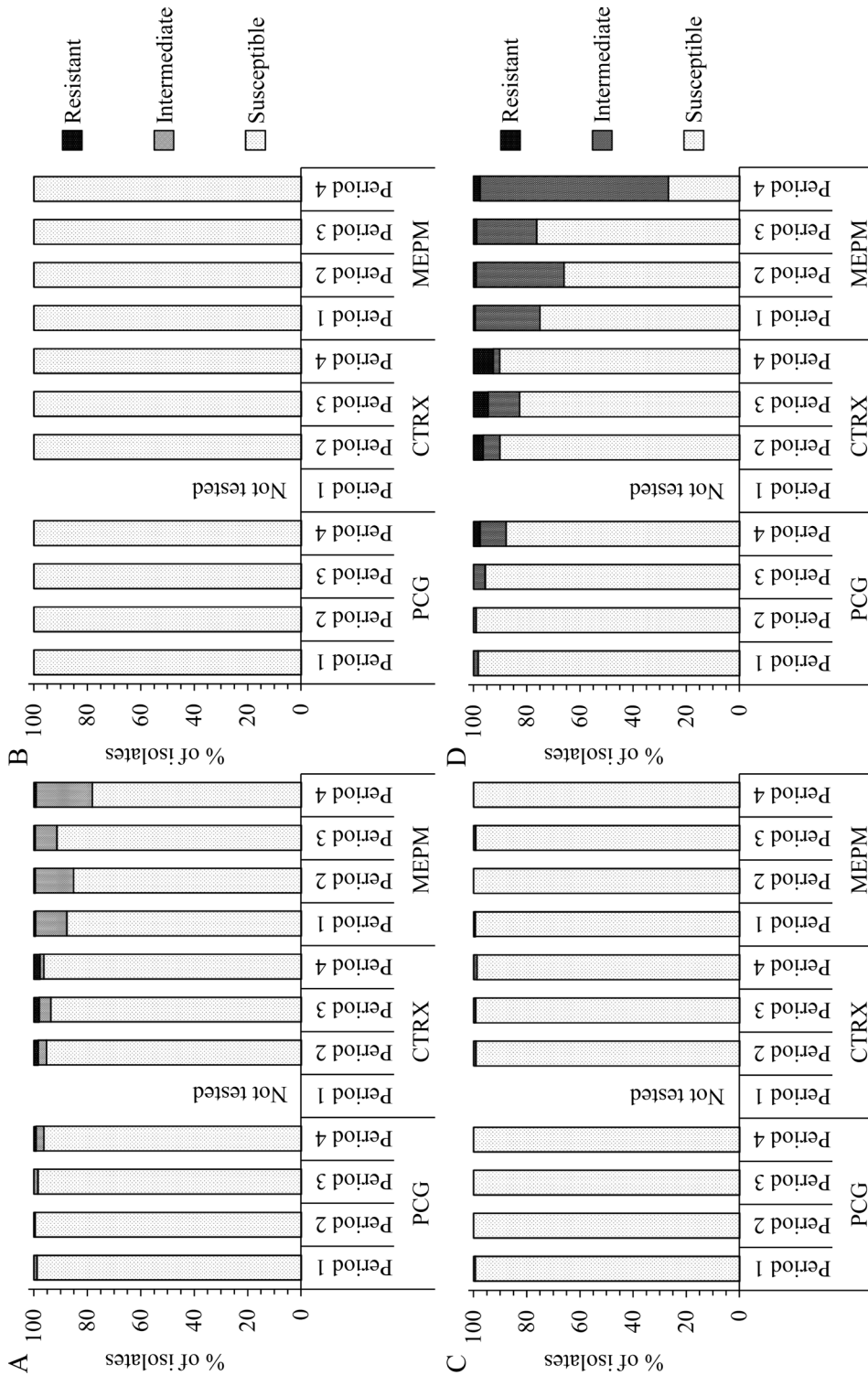
全株では、PCGに対する感性率は2008～2009年、2010～2011年、2011～2012年及び2015～2016年でそれぞれ98.9%、99.6%、98.5%及び96.4%であった。CTR_Xに対する感性率は2010～2011年、2011～2012年及び2015～2016年でそれぞれ95.3%、93.7%及び96.4%であった。MEPMに対する感性率は2008～2009年、2010～2011年、2011～2012年及び2015～2016年でそれぞれ87.8%、85.3%、91.5%及び78.3%であり、2015～2016年分離株で感性株の分離頻度が低下し、中等度耐性株の分離頻度が上昇した。

pbp 遺伝子変異型別では、gPSSP及びgPISPのPCG, CTR_X及びMEPMに対する各期間の感性率は2008～2009年、2010～2011年、2011～2012年及び2015～2016年でいずれも98.8%～100%と、経年的な変化は認められなかった。gPRSPでは、CTR_Xに対する感性率に明らかな経年的変化は認められなかった。一方、PCGに対する感性率は2008～2009年、2010～2011年、2011～2012年及び2015～2016年でそれぞれ98.3%、99.1%、95.7%及び87.8%と2011～2012年以降で経年的な低下傾向を示した。また、MEPMに対する感性率は2008～2009年、2010～2011年、2011～2012年及び2015～2016年でそれぞれ75.1%、66.1%、76.3%及び26.8%であり、2011～2012年から2015～2016年の間で感性株の分離頻度が低下し、中等度耐性株の分離頻度が約3倍に上昇した。

III. 考察

我々はこれまでに、岐阜県及び愛知県の医療機関で分離された*S. pneumoniae*に関するサーベイランスを1999年から継続的に実施している^{12～17)}。このような同一地域における継続的サーベイランスは、抗菌薬に対する感受性や耐性菌出現動向等の把握により、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期待される。今回、富山県及び福井県を加えた中部4県で2015年4月から2016年3月に分離された*S. pneumoniae* 138株の*pbp* 遺伝子変異、マクロライド耐性遺伝子の有無、莢膜血清型分布及び各種抗菌薬に対する感受性を検討した。日本では、2011年の小児におけるPCV接種の公費助成開始以降、肺炎球菌ワクチン接種が広く普及し、また2014年に高齢者に対するPPSV23の定期接種が開始された。前回本研究会で実施した2011～2012年の臨床分離株に関する調査以降、肺炎球菌ワクチン接種の普及に伴い、*S. pneumoniae*の抗菌薬に対する感受

Fig. 4. *pbp* 遺伝子変異別の各種抗菌薬に対する感受性の経年変化



(A) Antimicrobial susceptibility rate for the total population of *Streptococcus pneumoniae* isolates. (B) Antimicrobial susceptibility rate for the gPSP isolates.

(C) Antimicrobial susceptibility rate for the gPSP isolates. Period 1: 2008 – 2009 (total number of isolates 377, gPSSP 23, gPISP 173, gPRSP 181). Period 2: 2010 – 2011 (total number of isolates 258, gPSSP 11, gPISP 135, gPRSP 112), Period 3: 2011 – 2012 (total number of isolates 270, gPSSP 15, gPISP 162, gPRSP 93). Period 4: 2015 – 2016 (total number of isolates 138, gPSSP 15, gPISP 82, gPRSP 41). PCG: benzylpenicillin, CTRX: ceftriaxone, MEPM: meropenem.

性が変化していることが考えられる。そこで、小児に対するPCV7接種開始以前の2008～2009年、PCV7接種開始以降の2010～2011年及びPCV7接種の公費助成開始後の2011～2012年分離株の成績と、小児のPCV13及び高齢者のPPSV23の定期接種開始後にあたる2015～2016年分離株の薬剤感受性の成績を比較した。

CLSIの基準により評価したPCGに対する感性率は96.4%と、2011～2012年以前の分離株の感性率(98.5%～99.6%)^{15～17)}と比較して明らかな経年的変化はなく、高い感性率を維持していた。今回調査した2015～2016年分離株に対するPCGのMIC₅₀は $\leq 0.0625 \mu\text{g/mL}$ と、2010～2011年¹⁶⁾の1/4以下であり、2010～2011年以降でPCGに対する感受性の経年的な上昇傾向が認められた。PCGに対する感受性が増した要因の一つとして、小児用ワクチンPCV13の効果が考えられた。PCV13は2013年にPCV7から切り替わり、小児の定期接種が開始された。2011年の小児の肺炎球菌ワクチン接種率は50～60%とされるが²²⁾、2013年以降では対象となるほとんどの小児が接種していた²³⁾。小児由来株におけるPCV13のカバー率は2011～2012年分離株では49.2%であったが¹⁷⁾、2015～2016年分離株では29.5%に低下しており、ワクチン接種の普及により血清型の分離頻度が変動したと推測される。成人及び高齢者由来株におけるPCV13のカバー率も2011～2012年分離株の48.9%¹⁷⁾から、2015～2016年分離株の33.8%へと低下した。この要因として、既報^{24～27)}と同様に小児のワクチン接種の普及による集団免疫効果が考えられる。2011～2012年分離株では、PCV13に含まれる血清型である19F型、6A型、23F型及び6B型の分離頻度が高く(4.1～8.5%)、かつgPRSPの割合も72.7%～100%と高かった¹⁷⁾。しかし、2015～2016年分離株では、19F型の分離頻度は1.4%、6A型、23F型及び6B型はいずれも0.7%に低下していた。小児におけるPCV13接種の拡充に伴う集

団免疫効果によってgPRSPの割合が高い血清型が減少し、本地域においてもPCG感受性が回復した可能性が考えられた。

一方、今回調査した2015～2016年分離株では2011～2012年以前では検出されなかったPCG耐性株^{15～17)}が1株(0.7%)分離された。 β -ラクタム系薬に対する*S. pneumoniae*の耐性化には、その標的であるPBPをコードする遺伝子の変異による薬剤との親和性の変化が関与し、ペニシリン系薬に対する感受性は*pbp2b*変異株で低下することが知られている²⁸⁾。また、ペニシリン系薬に高度耐性を示す株では*pbp2b*の複数の領域で遺伝子変異し、カルバペネム系薬に対する感受性も低下したことが報告されている^{28,29)}。本調査では詳細な*pbp2b*の遺伝子解析は実施していないが、今回分離されたPCG耐性株はMEPMに対して中等度耐性を示しており、*pbp2b*の複数の領域での変異がPCG及びMEPMに対する感受性低下の要因の一つとして考えられた。PCV13の定期接種が開始された2013年以降の日本国内のサーベイランスにおいて、MEPM非感性株の分離頻度の上昇が報告されている⁸⁾。今回調査した臨床分離株においても、MEPMに対する感性率の経年的な低下傾向が認められ、本地域においてもカルバペネム系薬に対する耐性株の増加が懸念されることから、耐性化動向を把握するためにも継続的なサーベイランスを実施することは重要であると考えられる。

CFDNに対する感性率は、2008～2009年で40.1%¹⁵⁾、2010～2011年で37.6%¹⁶⁾、2011～2012年で50.0%¹⁷⁾、2015～2016年で56.5%と2010～2011年以降で感性率の上昇傾向を示した。セフェム系薬に対する感受性は*pbp2x*に変異を有する株で低下することが知られている²⁸⁾。*pbp2x*に変異を有する株の分離頻度は、2008～2009年で93.6%¹⁵⁾、2010～2011年で95.7%¹⁶⁾、2011～2012年で94.4%¹⁷⁾、2015～2016年で89.1%と、2010～2011年以降で経年的に低下傾向を示し、*pbp2x*の変異に応じた

CFDNに対する感性率の経年変化が認められた。今回の調査では、経口セフェム系薬のMIC範囲の最大値は小児由来株で最も高く、次いで高齢者、成人の順であった。成人由来株において*pbp2x*に変異を有する分離頻度は77.8%と、高齢者及び小児(91.5%及び90.2%)よりも低く、PBPの遺伝子的な背景は経口セフェム系薬に対する感受性と一致していた。また、注射用セフェム系薬(CTRX)についても、MIC範囲の最大値は小児由来株で高く、次いで高齢者、成人の順であり、経口セフェム系薬と同様の傾向が認められた。

CAM及びAZMに対する感性率はいずれも2.9%であり、ほとんどの分離株はCAM及びAZM耐性であった。マクロライド耐性遺伝子を保有しない株の割合は2.9%であり、CAM及びAZMに対する感受性は遺伝子的な背景と一致していた。マクロライド耐性遺伝子を保有していない株は高齢者由来株でのみ分離されたが、その一方で*mefA*及び*ermB*両遺伝子を保有する株の分離頻度は小児及び成人由来株よりも高かった。また、高齢者由来株ではgPRSPの分離頻度が高い傾向を示したことから、多剤耐性株による感染症の可能性が高いと推定され、高齢者の肺炎球菌感染症治療における薬剤の選択には注意が必要であると考えられる。

これまでの本地域におけるサーベイランスではLVFX耐性株が分離され、その分離頻度は2008～2009年で1/377株(0.27%)¹⁵⁾、2010～2011年で4/258株(1.6%)¹⁶⁾、2011～2012年で5/270株(1.9%)¹⁷⁾であった。キノロン系薬の耐性機序はDNAジャイレース(*gyrA*及び*gyrB*)及びトポイソメラーゼIV(*parC*及び*parE*)のキノロン耐性決定領域(quinolone resistance-determining region, QRDR)における遺伝子変異であり、2箇所以上変異を有している株はキノロン系薬に対する耐性度が高いことが知られている³⁰⁾。本調査で検討した2015～2016年分離株ではLVFX耐性株は分離

されなかったが、LVFXのMICが2 μ g/mLを示した10株が分離された。今回、QRDRの遺伝子変異は検討しなかったが、これらの株ではQRDRの変異を有する可能性がある³⁰⁾。今回の調査期間である2015～2016年に日本国内で臨床分離された*S. pneumoniae*のキノロン系薬に対する感受性の報告は限られるが、北海道の1施設の検討においてもキノロン系薬の耐性株が分離されなかったことが報告されている²⁶⁾。しかし、キノロン耐性株の動向には引き続き注意が必要であり、全国的なサーベイランスが望まれる。

以上、今回のサーベイランスの結果を過去の成績と比較したところ、gPRSPの分離頻度の低下並びにPCG及びCFDNに対する感受性の回復傾向が認められた。一方、gPRSPのMEPMに対する感性率の低下が認められた。ほとんどの株がマクロライド耐性を示したが、LVFX耐性株は分離されなかった。高齢者に対する肺炎球菌ワクチン接種の浸透、抗菌薬適正使用の推進などにより、耐性化動向の変化が予想され、今後も継続的なサーベイランスが必要であると考えられた。

利益相反自己申告

著者 山本善裕は、塩野義製薬株式会社から奨学寄付金を受けている。著者 岩崎博道は、MSD株式会社、大正富山医薬品株式会社より講演料を、大正富山医薬品株式会社、日本ビーシー製造株式会社から奨学寄付金を受けている。著者 山岸由佳は、MSD株式会社、大日本住友製薬株式会社より講演料を受けている。著者 三嶋廣繁は、アステラス製薬株式会社、MSD株式会社、塩野義製薬株式会社、第一三共株式会社、富士フィルム富山化学株式会社(旧 富山化学工業株式会社)より講演料を受けている。著者 山岸由佳及び三嶋廣繁は、東ソー株式会社、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、富士フィルム富山化学株式会社(旧 富山化学工業株式会社)、ミヤリサン製薬

株式会社から研究費を、旭化成ファーマ株式会社、アステラス製薬株式会社、MSD株式会社、塩野義製薬株式会社、第一三共株式会社、大正富山医薬品株式会社、大日本住友製薬株式会社、ファイザー株式会社、富士フイルム富山化学株式会社（旧富山化学工業株式会社）、ミヤリサン製薬株式会社、Meiji Seika ファルマ株式会社より奨学寄付金を受けている。また、MSD株式会社、ファイザー株式会社、ミヤリサン製薬株式会社より研究生・研究員・大学院生を受け入れている。著者 板谷和也は富士フイルム株式会社の社員である。著者 門田卓美、野村伸彦、満山順一は富士フイルム富山化学株式会社の社員である。他の著者は申告すべき利益相反はない。

参考文献

- 1) Bogaert D, De Groot R, Hermans PW: *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(3): 144-54.
- 2) Lynch JP 3rd, Zhanell GG: *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology and risk factors, evolution of antimicrobial resistance, and impact of vaccines. *Curr Opin Pulm Med*. 2010; 16(3): 217-25.
- 3) Whitney CG, Farley MM, Hadler J, *et al.*: Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med*. 2003; 348(18): 1737-46.
- 4) Hsu HE, Shutt KA, Moore MR, *et al.*: Effect of pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis. *N Engl J Med*. 2009; 360(3): 244-56.
- 5) Richter SS, Diekema DJ, Heilmann KP, Dohrn CL, Riahi F, Doern GV: Changes in pneumococcal serotypes and antimicrobial resistance after introduction of the 13-valent conjugate vaccine in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(11): 6484-9.
- 6) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報 (IASR)。2014; 35(10): 229-30.
- 7) 佐藤吉壮, 豊永義清, 花木秀明, 砂川慶介: 小児科領域感染症における耐性菌に関する2012年度サーベイランス—*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*の薬剤感受性—。日本化学療法学会雑誌2014; 62(1): 118-28.
- 8) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, *et al.*: 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*. 2016; 34(1): 67-76.
- 9) Yanagihara K, Watanabe A, Aoki N, *et al.*: Nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the surveillance committee of Japanese Society of Chemotherapy, the Japanese Association for Infectious Diseases, and the Japanese Society for Clinical Microbiology in 2012: General view of the pathogens' antibacterial susceptibility. *J Infect Chemother*. 2017; 23(9): 587-97.
- 10) 山口恵三, 館田一博, 大野 章, 石井良和, 村上日奈子: 2013年に全国69施設の臨床材料から分離された11,762株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス。 *Jpn J Antibiotics*. 2016; 69(1): 1-25.
- 11) Takeuchi N, Ohkusu M, Hoshino T, *et al.*: Emergence of quinolone-resistant strains in *Streptococcus pneumoniae* isolated from paediatric patients since the approval of oral fluoroquinolones in Japan. *J Infect Chemother*. 2017; 23(4): 218-23.
- 12) 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*. 2000; 53(12): 652-9.
- 13) 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 Antibiot*. 2004; 57(2): 172-86.
- 14) 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 Antibiot*. 2006; 59(3): 137-51.

- 15) 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年~2009年)。Jpn J Antibiot. 2012; 65 (1): 1-14.
- 16) 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年~2011年)。Jpn J Antibiot. 2013; 66 (5): 265-82.
- 17) 舟津桃李, 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 (2011~2012年)。Jpn J Antibiot. 2015; 68 (4): 225-42.
- 18) 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 2002; 12: 141.
- 19) Ubukata K, Muraki T, Igarashi A, *et al.*: Identification of penicillin and other beta-lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae* by polymerase chain reaction. J Infect Chemother. 1997; 3 (4): 190-7.
- 20) Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard-ninth edition. M07-A10, 2015.
- 21) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. M100-S25, 2015.
- 22) Chiba N, Morozumi M, Shouji M, *et al.*: Rapid decrease of 7-valent conjugate vaccine coverage for invasive pneumococcal diseases in pediatric patients in Japan. Microb Drug Resist. 2013; 19 (4): 308-15.
- 23) 厚生労働省: 定期の予防接種実施者数 平成6年法律改正後 (実施率の推移)。https://www.mhlw.go.jp/topics/bcg/other/5.html
- 24) Ubukata K, Chiba N, Hanada S, *et al.*: Serotype changes and drug resistance in invasive pneumococcal diseases in adults after vaccinations in children, Japan, 2010-2013. Emerg Infect Dis. 2015; 21 (11): 1956-65.
- 25) Miyazaki H, Shibuya R, Midorikawa N, *et al.*: Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Japan after introduction of the routine immunization program. J Infect Chemother. 2017; 23 (4): 234-40.
- 26) Kawaguchiya M, Urushibara N, Aung MS, Shinagawa M, Takahashi S, Kobayashi N: Serotype distribution, antimicrobial resistance and prevalence of pilus islets in pneumococci following the use of conjugate vaccines. J Med Microbiol. 2017; 66 (5): 643-50.
- 27) Shoji H, Maeda M, Takuma T, Niki Y: Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated from adult respiratory tract infections in nationwide Japanese surveillances from 2006 to 2014. J Infect Chemother. 2017; 23 (8): 538-44.
- 28) 生方公子: 呼吸器感染症原因微生物の質的变化による薬剤耐性化。Jpn J Chemother. 2006; 54 (2): 69-94.
- 29) Chiba N, Kobayashi R, Hasegawa K, *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. 2005; 56 (4): 756-60.
- 30) Weigel LM, Anderson GJ, Facklam RR, Tenover FC: Genetic analyses of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45 (12): 3517-23.

Sensitivity surveillance of *Streptococcus pneumoniae* isolates for several antibacterial agents in the Chubu region of Japan (2015–2016)

Working Group of Chubu Anti-biogram Study Group
FUJIFILM Toyama Chemical Co., Ltd.

Takumi Kadota,
Nobuhiko Nomura and Junichi Mitsuyama
FUJIFILM Toyama Chemical Co., Ltd.

Hirotooshi Ohta
Clinical Laboratory of Internal Medicine,
Gifu University School of Medicine

Shigeko Yashima
Clinical Laboratories,
Gifu Prefectural Tajimi Hospital

Junko Sakamoto
Department of Clinical Laboratory and
Transfusion Medicine & Cell Therapy Center,
Toyama University Hospital

Yukio Hida
Department of Clinical Laboratories,
University of Fukui Hospital

Tomoko Oono
Division of Infection Control and Prevention,
Aichi Medical University Hospital

Kazuya Itadani
FUJIFILM Corporation

Masakazu Hatano
Clinical Laboratories, Chuno Kosei Hospital

Eri Morita
Clinical Laboratories,
Gifu Red Cross Hospital

Yoshihiro Yamamoto
Department of Clinical Infectious Diseases,
Toyama University Hospital

Hikomichi Iwasaki
Division of Infection Control and Prevention,
University of Fukui Hospital

Yuka Yamagishi and Hiroshige Mikamo
Department of Infection,
Aichi Medical University

We examined the genotype of penicillin-binding protein (*pbp*) genes and macrolide-resistant genes (*mefA* and *ermB*), the capsular serotypes, and susceptibility to antibacterial agents of 138 strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated at medical facilities in the Chubu region of Japan between April, 2015 and March, 2016. The results of this study were compared with previous surveillance results (2008 to 2009, 2010 to 2011, and 2011 to 2012).

Based on the genotype of *pbp* genes among the 138 strains of clinically isolated *S. pneumoniae*, the genotypic penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (gPSSP) having the wildtype *pbp1a*, *pbp2b*, and *pbp2x*, genotypic penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (gPISP) having 1 or 2 mutant genes, and the genotypic penicillin-resistant *S. pneumoniae* (gPRSP) having 3 mutant genes accounted for 10.9%, 59.4%, and 29.7%, respectively. The isolation frequency of strains not possessing the macrolide-resistant genes such as *mefA* and *ermB* was 2.9%, and it seemed to be decreasing over the years.

Among the 61 strains from children (≤ 15 years old), only the capsular serotypes of 3 and

19A contained in the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) were isolated, accounting for 23.0% and 6.6%, respectively. Among the strains from adults (16 to 64 years old) and elderly (≥ 65 years old), the isolation frequency of serotype strains covered by PCV13 was as low as that in children, demonstrating the indirect effects of PCV13 childhood vaccination. Among the non-vaccine serotypes not included in PCV13 or in the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine, the serotype of 35B was isolated most frequently at an isolation frequency of 9.4%, followed by the serotype 15A (7.2%).

The MIC₉₀ value of benzylpenicillin was 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the susceptibility rate which was calculated based on the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) interpretive criteria (M100-S25) was 96.4%. The MIC₉₀ values of penicillins, cephalosporins, macrolides, and fluoroquinolones did not remarkably change compared with those for the 2011 to 2012 isolates investigated last time. However, the MIC₉₀ values of carbapenems were 2- or 4- times higher than those for the 2011 to 2012 isolates. Of note, the susceptibility rate of gPRSP to meropenem was 26.8%, and which was markedly lower than that of the 2011 to 2012 isolates.

In conclusion, changes were observed in the capsular serotype distribution and antimicrobial susceptibility, which may have been caused by the prevalence of pneumococcal vaccination to children in Japan. This suggests the importance of continuous surveillance for *S. pneumoniae* in order to assess the progression of antimicrobial resistance.