

【原著・基礎】

肺炎球菌に対する各種抗菌薬の抗菌力

杉田香代子・上遠野保裕・内田 博・小林 芳夫

慶應義塾大学病院中央臨床検査部*

(平成 14 年 11 月 13 日受付・平成 14 年 12 月 20 日受理)

当院検査部に提出された各種臨床材料より分離された肺炎球菌のうち、ディスク法にてオキサシリンの阻止円が ≤ 19 mmを示した 38 株と ≥ 20 mmを示した 3 株、合計 41 株について、ペニシリン耐性にかかわる *pbp 1a*, *pbp 2x*, *pbp 2b* 遺伝子の変異検出とともに、Etest により penicillin (PCG), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), cefditoren (CDTR), cefdinir (CFDN), ciprofloxacin (CPDX), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), levofloxacin (LVFX), sparfloxacin (SPFX), linezolid (LZD) の MIC を測定した。PBP 遺伝子の変異は、*pbp 1a+2x+2b* 変異が 21 株 (51.2%), *pbp 1a+2x* 変異が 3 株 (7.3%), *pbp 1a* 単独変異株が 1 株 (2.4%), *pbp 2x* 単独変異株が 13 株 (31.7%) であった。また、変異を認めない株が 3 株 (7.3%) であった。PCG の MIC 分布は 0.032~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、PRSP 9 株 (22.0%), PISP 20 株 (48.8%), PSSP 12 株 (29.3%) であった。各薬剤の MIC 分布は CTX 0.032~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CTRX 0.016~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CDTR 0.032~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPDX 0.032~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CFDN 0.125~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, IPM 0.008~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MEPM 0.008~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPFX 0.25~16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, SPFX 0.125~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LVFX 0.5~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, OFLX 1~ ≥ 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LZD 0.5~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

Key words: 肺炎球菌, E test, cefditoren, meropenem

肺炎球菌は肺炎、髄膜炎、中耳炎などの起因菌として重要であるが、近年、ペニシリン低感受性 (PISP) あるいは耐性 (PRSP) の肺炎球菌の分離頻度が高くなってきていることが指摘されている^{1,2)}。肺炎球菌のペニシリン耐性は、作用点であるペニシリン結合蛋白 (PBPs) に対する薬剤の親和性の低下によるもので、肺炎球菌に認められている 6 種類の PBPs のうち、PBP 1A, PBP 2X, PBP 2B をコードする遺伝子の変異している³⁾。今回、これらの遺伝子の変異を検出するとともに、本菌に対する各種薬剤の MIC を測定したのでその結果を報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

当院検査部に提出された各種臨床材料 (喀痰、咽頭粘液、鼻腔、鼻汁、耳漏、眼脂、血液) より分離された肺炎球菌のうち、ディスク法にてオキサシリンの阻止円が ≤ 19 mmを示した 38 株と ≥ 20 mmを示した 3 株、合計 41 株を使用した。患者の年齢は 0~90 歳であった。

2. 使用薬剤

ディスク法は BD 社のセンシ・ディスクオキサシリンを使用した。MIC はアスカ純薬の E test 「アスカ」 penicillin (PCG), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), cefditoren (CDTR), cefpodoxime (CPDX), cefdinir (CFDN), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX),

ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), linezolid (LZD) を使用した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

MIC の測定は Etest technical guide⁴⁾, NCCLS M 100-S 10⁵⁾にしたがった。すなわち、5% 羊血液加 Mueller Hinton 寒天培地 (BBL) に McFarland 0.5 に調整した菌液を塗布し、5% CO₂ 培養した後 MIC を測定した。

4. 遺伝子変異の検出

遺伝子変異の検出は、湧永製薬のペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) 遺伝子検出試薬⁶⁾を用いた。

II. 結果

PBP 遺伝子の変異は、*pbp 1a+2x+2b* 変異が 21 株 (51.2%), *pbp 1a+2x* 変異が 3 株 (7.3%), *pbp 2b* 単独変異株が 1 株 (2.4%), *pbp 2x* 単独変異株が 13 株 (31.7%) であった。また、変異を認めない株が 3 株 (7.3%) であった。

PCG, CTX, CTRX, CDTR, CPDX, CFDN, IPM, MEPM の MIC 分布を Fig. 1 に示した。PCG の MIC は 0.032~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に分布し、NCCLS M 7-A 5 にもとづいて判別すると PRSP 9 株 (22.0%), PISP 20 株 (48.8%), PSSP 12 株 (29.3%) であった。感性と判定される 0.064 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 10 株のうち 9 株は、*pbp 2x* 単独変異株であった。遺伝子の変異にもとづいて PCG の MIC をみると、3 つの遺伝子がともに変異した株 (*pbp 1a+*

*東京都新宿区信濃町 35

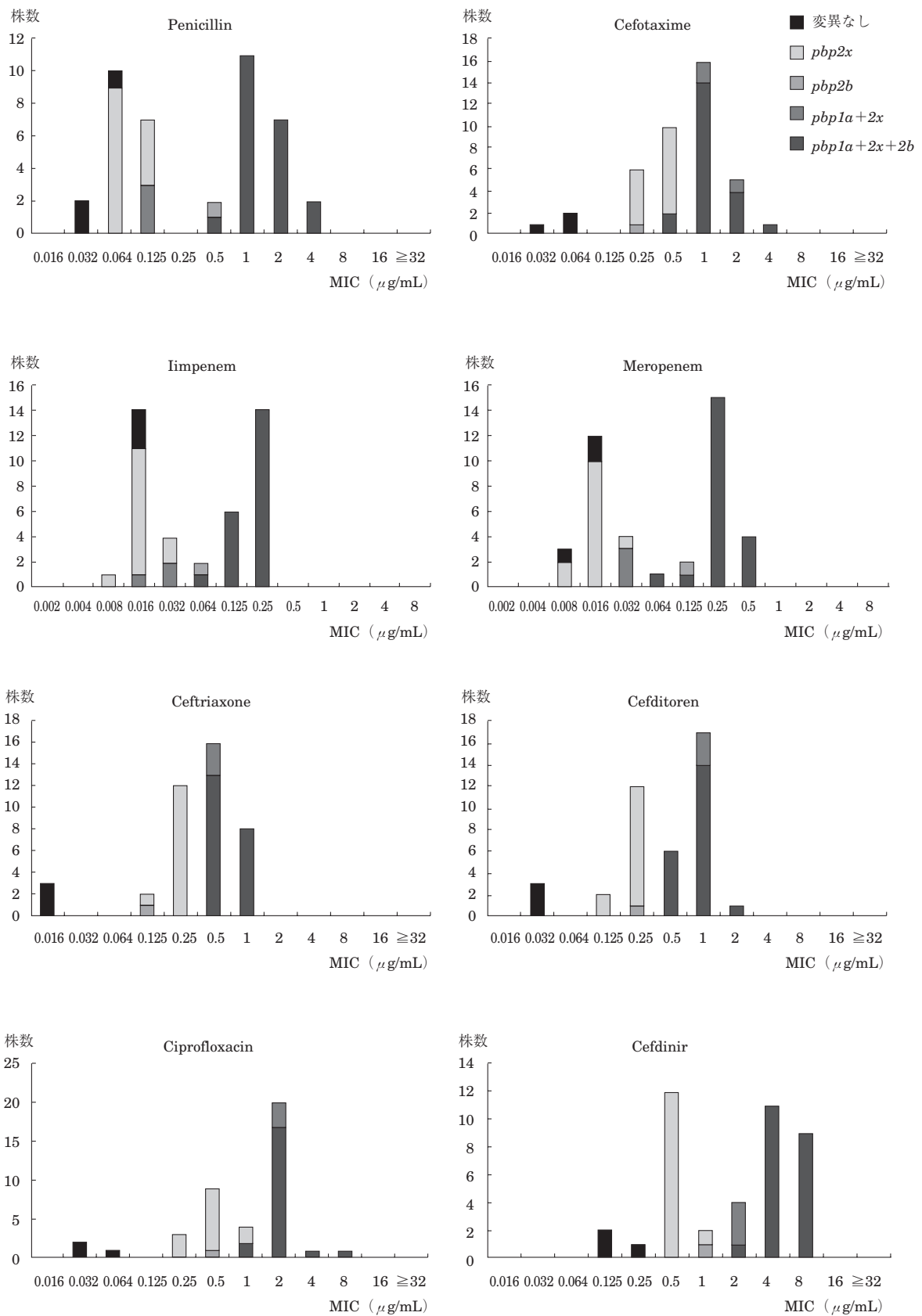


Fig. 1. Antibacterial activities of β -lactams against *Streptococcus pneumoniae*.

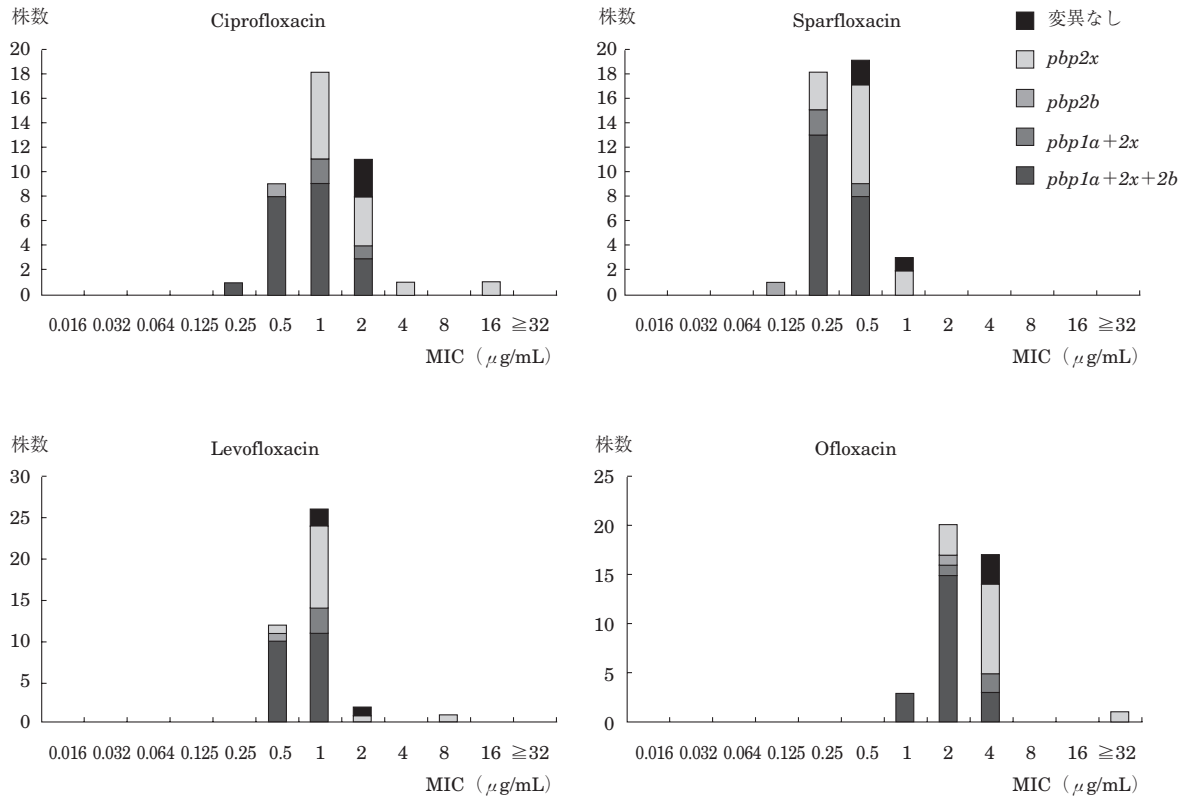


Fig. 2. Antibacterial activities of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae*.

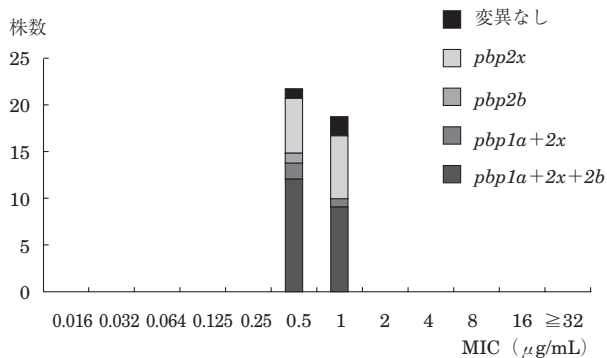


Fig. 3. Antibacterial activities of linezolid against *Streptococcus pneumoniae*.

2x+2b 変異) の MIC は 0.5~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 3つの遺伝子のうち1つもしくは2つが変異した株 (*pbp 1a+2x* 変異, *pbp 2b* 単独変異, *pbp 2x* 単独変異) の MIC は 0.064~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 遺伝子の変異を認めない株の MIC は 0.032~0.064 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

セフェム系薬では, CTX は 0.032~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CTRX は 0.016~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CDTR は 0.032~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPDX は 0.032~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CFDN は 0.125~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に分布した。PCG と異なり, *pbp 2x* 単独変異株は変異のない株よりも耐性側に MIC のピークを形成した。また, *pbp 1a+2x* 変異株は *pbp 1a+2x+2b* 変異株と同じ位置に分布した。*pbp 1a+2x+2b* 変異株における経口セフェム薬3剤の MIC は, CDTR 0.5~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPDX 1~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CFDN 2~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となり, 3剤のなかで

は CDTR が優れた抗菌力であった。

カルバペネム系薬では, IPM, MEPM がそれぞれ 0.008~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.008~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に分布した。*pbp 1a+2x+2b* 変異株に対しても $\leq 0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ と優れた抗菌力であった。

キノロン系薬の MIC 分布を Fig. 2 に示した。CPFX は 0.25~16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, SPFX 0.125~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LVFX 0.5~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, OFLX 1~ $\geq 32 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。41株のうち1株に対する MIC は, LVFX 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPFX 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, OFLX $\geq 32 \mu\text{g}/\text{mL}$ と高値であった。

LZD の MIC 分布を Fig. 3 に示した。LZD の MIC 分布は 0.5~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と優れていた。

III. 考 察

肺炎球菌は細菌性肺炎, 化膿性髄膜炎, 敗血症, 中耳炎などの起炎菌として知られているが, 特に小児の化膿性髄膜炎, 高齢者の呼吸器感染症では初期における適切な治療薬の選択が重要である。

肺炎球菌感染症の治療薬としてペニシリン系薬が第一選択薬として使われてきたが, 1967年にオーストラリアで PRSP の報告⁷⁾がされて以来, 世界各地で分離されるようになり治療に難渋する例も見られるようになった^{8,9)}。わが国における PRSP 感染症の報告は 1988年に有益らによって報告された化膿性髄膜炎例が最初である¹⁰⁾, 諸外国同様に PRSP の分離頻度は増加傾向にあり, 全国的な分離頻度は PISP も含めて 40% 前後に達している^{11~13)}。

PRSPの薬剤耐性機構は、PBP_sの構造の変化によりβ-ラクタム系薬の親和性が低下することによる³⁾。これは、PBP_sをコードしている遺伝子の変異しているため、口腔内のレンサ球菌の遺伝子との組換えによって生じたモザイク遺伝子であることが判明している¹⁴⁾。また、β-ラクタム系薬でもペニシリン系薬とセフェム系薬とでは耐性にかかわる遺伝子が異なるといわれている^{11,15)}。

今回の検討では、*pbp 2x* 単独変異株におけるPCGのMIC分布は0.064~0.125 μg/mLであったが、セフェム系注射薬のCTXでは0.025~0.5 μg/mLとPCGよりも高いMICを示した。同様に、*pbp 1a+2x* 変異株のPCGのMIC分布は0.125 μg/mLであったが、CTXでは1~2 μg/mLを示し、*pbp 1a+2x+2b* 変異株と同じ位置に分布していた。セフェム系薬の耐性には*pbp 1a*と*pbp 2x* 遺伝子が関係しているとされているが、*pbp 2b*あるいは*pbp 2x*の変異にさらに*pbp 1a* 遺伝子の変異が重なると耐性が上昇すると生方らは指摘しており¹¹⁾、われわれの結果も同様であった。

セフェム系注射薬のCTXとCTR_Xとを比較すると、CTXでは53.7% (22株)が ≥ 1 μg/mLのMICを示したのに対し、CTR_Xでは19.5% (8株)であり耐性と判定された株も認められなかった。

経口セフェム系薬については、CPDX、CFDNにおいてそれぞれ53.7% (22株)、58.5% (24株)が ≥ 2 μg/mLのMIC分布を示し、8 μg/mLを示した株も認められた。これらの薬剤を投与した際の血中濃度を考えると、得られたMIC値は最高血中濃度を超えることになる¹²⁾。これに対し、CDTRで ≥ 2 μg/mLのMIC分布を示したのは1株 (2.4%)のみであり、今回検討した経口セフェム薬3剤のなかではCDTRの抗菌力が優れていた。

カルバペネム系薬に対する肺炎球菌の感受性分布はPCGと同じような2峰性で、*pbp 2x* 単独変異株は変異のない株と同じ位置に分布した。これは、*pbp 2x* よりも*pbp 1a*と*pbp 2b* 遺伝子がカルバペネム系薬の耐性に関係しているためである¹¹⁾。セフェム系薬において ≥ 2 μg/mLを示した株も ≤ 0.5 μg/mLのMIC分布であり、今回検討したβ-ラクタム系薬のなかで肺炎球菌に対する抗菌力は、カルバペネム系薬であるIPM、MEPMが優れていたといえる。

キノロン系薬耐性株の報告^{16~18)}は多くないが今回検討した41株のうち1株 (2.4%)はOFLX ≥ 32 μg/mL、CPFX 16 μg/mL、LVFX 8 μg/mL、SPFX 1.0 μg/mLのMICを示した。β-ラクタム系薬やマクロライド系薬に対する肺炎球菌の耐性化が進むにつれてそれに対するニューキノロン系薬の開発もなされてきており、今回検討した4薬剤のなかではSPFXが良好な抗菌力であったが、今後肺炎球菌に対する使用が増加すれば耐性菌の分離頻度は増加してくるものと思われる。

LZDはVCM耐性*Enterococcus faecium*による感染症用に開発された新規の抗菌薬であるが、わが国では本菌による症例報告は多くない^{19,20)}。そこでLZDの臨床的価値についてPRSPを含む肺炎球菌感染症に使用可能であるのかどうかという観点から検討したところ、MIC分布は0.5~1 μg/mLと低値であり、PRSPを含む肺炎球菌に対して優れた抗菌力を示し、臨床的な有用性が示唆された。

PRSPの増加のみならず、マクロライド系薬耐性肺炎球菌の増加^{11,12)}やニューキノロン系薬耐性の出現の報告がされており今後の肺炎球菌の耐性化の動向に注意するとともに、それらに対する対策が必要であると考えられた。

文 献

- 1) 生方公子, 杉浦 陸, 紺野昌俊, 他: 全国各地で分離された肺炎球菌の疫学的研究。感染症誌 68: 1338~1351, 1994
- 2) 中村 明: 小児科臨床より分離された*Streptococcus pneumoniae*のペニシリン耐性および多剤耐性化状況。感染症誌 71: 421~429, 1997
- 3) 田村 淳, 清水博之, 井上松久: 肺炎球菌の薬剤耐性機序。化学療法の領域 10: 625~631, 1994
- 4) AB Biodisk. Etest technical guide 8, AB biodisk, Solna
- 5) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Tenth informational supplement (aerobic dilution) M 100-S 11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001
- 6) 湧永製薬: ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) 遺伝子検出試薬。湧永製薬, 広島
- 7) Hansman D, Bullen M M: A resistant pneumococcus. Lancet 2: 264~265, 1967
- 8) 桑原正雄: 世界の耐性肺炎球菌感染症の現状。化学療法の領域 10: 683~691, 1994
- 9) Appelbaum P C: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. Clinical Infectious Diseases 15: 77~83, 1992
- 10) 有益 修, 目黒英典, 白石裕昭, 他: β-ラクタム剤が無効であった肺炎球菌髄膜炎の1例。感染症誌 62: 682~683, 1988
- 11) 紺野昌俊, 生方公子: 改訂 ペニシリン耐性肺炎球菌。協和企画通信, 東京, 1999
- 12) 市中感染症研究会: 再検討が迫られる市中感染症—PRSP, BLNARを中心に—。第2報 (代表世話人: 紺野昌俊), JJ Antibiotics 54: Suppl. B, 2001
- 13) 氷見京子, 宮本茂樹, 大嶋寛子, 他: ペニシリン耐性肺炎球菌髄膜炎の1例と小児より分離された肺炎球菌抗菌剤感受性の検討。感染症誌 64: 725~732, 1990
- 14) 生方公子, 杉浦 陸, 紺野昌俊, 他: ペニシリン耐性肺炎球菌の臨床分離株における薬剤耐性機構について—ペニシリン結合蛋白とPBP 2 B 遺伝子の解析—。Chemotherapy 42: 1225~1234, 1994
- 15) Grebe T R H: Penicillin-binding proteins 2 b and 2 x of *Streptococcus pneumoniae* are primary resistant determinants for different classes of β-Lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 40: 829

- ~834, 1996
- 16) Taba H, Kusano N: Sparfloxacin resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*: involvement of multiple mutations in *gyrA* and *parC* genes. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 2193~2196, 1998
- 17) Hoban D J, Bouchillon S K, Karlowsky J A, et al.: A comparative in vitro surveillance study of gemifloxacin activities against 2,632 recent *Streptococcus pneumoniae* isolates from across Europe, North America, and South America. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 3008~3011, 2000
- 18) Ho P L, Que T L, Tsang D N, et al.: Emergence of fluoroquinolone resistance among multiply resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* in Hong Kong. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 1310~1313, 1999
- 19) Fujita N, Yoshimura M, Komori T, et al.: First report of the isolation of high-level vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from a patient in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 2150, 1998
- 20) 今福祐司, 吉田 浩, 佐藤敏夫, 他: van B型 VREによる子宮頸癌術後骨盤内感染性嚢胞の1例。感染症誌 73: 473~476, 1999

Comparative antibacterial activities of several antimicrobial agents against 41 strains of *Streptococcus pneumoniae*

Kayoko Sugita, Yasuhiro Katouno, Hiroshi Uchida
and Yoshio Kobayashi

Department of Laboratory Medicine, Keio University Hospital, 35 Shinanomachi, Shinjuku, Tokyo, Japan

Comparative antibacterial activities of several antimicrobial agents against 41 strains of *Streptococcus pneumoniae* were studied. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of benzylpenicillin (PCG), cefotaxime (CTX), ceftriaxon (CTR), cefditoren (CDTR), cefpodoxime (CPDX), cefdinir, imipenem (IPM), meropenem (MEPM), ofloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin (SPFX), and linezolid were determined using the E-test and Mueller Hinton agar with 5% sheep blood. Variations in the genes for penicillin-binding protein were studied using polymerase chain reaction. The MIC of PCG ranged from 0.032 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Nine, twenty, and twelve strains were penicillin-resistant *S. pneumoniae*, penicillin-intermediate *S. pneumoniae* and penicillin-susceptible *S. pneumoniae*, respectively. The MIC of CTX ranged from 0.032 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The MIC of CTR ranged from 0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The MIC of CDTR ranged from 0.032 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The MIC of CPDX ranged from 0.032 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The MIC of IPM and MEPM ranged from 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and from 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. The MIC of SPFX ranged from 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Linezolid was the most active agent against these strains, with an MIC ranging from 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Twenty-one strains exhibited genetic variations at *pbp 1 a + 2 x + 2 b*. Three strains exhibited genetic variations at *pbp 1 a + 2 x*. One and 13 strains exhibited genetic variations at *pbp 1 a* and *pbp 2 x*, respectively. Three strains did not exhibit any genetic variations.