

## 【原著・臨床】

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

坂 田 宏

旭川厚生病院小児科\*

(平成 15 年 6 月 12 日受付・平成 15 年 7 月 29 日受理)

2002 年 8 月から 2003 年 3 月までに旭川厚生病院小児科で診療した生後 1 か月から 14 歳までの呼吸器感染症患者 150 名の上咽頭から検出された *Haemophilus influenzae* について、ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM), amoxicillin/clavulanic acid (AMPC/CVA) に対する感受性について Etest を用いて測定した。 $\beta$ -lactamase negative ABPC susceptible (BLNAS) 株が 60 株 (40.0%),  $\beta$ -lactamase negative ABPC resistant (BLNAR) 株のうち、ABPC の MIC が  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  未満の菌が 48 株 (32.0%),  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上の菌が 36 株 (24.0%) であった。 $\beta$ -lactamase positive ABPC resistant 株が 5 株 (3.3%),  $\beta$ -lactamase positive AMPC/CVA resistant 株が 1 株 (0.7%) であった。MIC<sub>90</sub> は PIPC と CTRX は  $0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ , MEPM は  $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ , CTX は  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ , ABPC は  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  であった。BLNAS と BLNAR の MIC<sub>90</sub> を比較すると、ABPC は  $1.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  と  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ , PIPC は  $0.125 \mu\text{g}/\text{mL}$  と  $0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ , CTX は  $1.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  と  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ , CTRX は  $0.125 \mu\text{g}/\text{mL}$  と  $0.38 \mu\text{g}/\text{mL}$ , MEPM は  $0.19 \mu\text{g}/\text{mL}$  と  $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  で、いずれも BLNAR の方が高かった。

**Key words:** *Haemophilus influenzae*, susceptibility,  $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant, respiratory tract infection, child

*Haemophilus influenzae* は *Streptococcus pneumoniae* と並んで小児の髄膜炎、肺炎、中耳炎の主要な原因菌である。従来、*H. influenzae* には  $\beta$ -lactamase を産生することによって ampicillin (ABPC) を不活化させることによって耐性を獲得した株が存在していたが、近年  $\beta$ -lactamase を産生せずに、penicillin-binding-protein (PBP) に変異をきたして ABPC に耐性を獲得した、BLNAR ( $\beta$ -lactamase negative ABPC resistant) 株が増加している<sup>1,2)</sup>。BLNAR は ABPC だけではなく、多くの抗菌薬に対して感受性が低下していることから、臨床的に大きな問題ともなっている。最近分離される *H. influenzae* に、より有効性の高い抗菌薬を選択するために、小児の細菌性呼吸器感染症の治療によく使用される注射用抗菌薬について *H. influenzae* の薬剤感受性を比較検討したので報告する。

## I. 対象と方法

2002 年 8 月から 2003 年 3 月までに旭川厚生病院小児科で診療した生後 1 か月から 14 歳までの呼吸器感染症患者 150 名の上咽頭から検出された *H. influenzae* について、静注用の抗菌薬である ABPC, piperacillin (PIPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM) に対する感受性を Etest を用いて測定した。また、静注用抗菌薬ではないが amoxicillin/clavulanic acid (AMPC/CVA) も測定し、BLPACR

( $\beta$ -lactamase positive AMPC/CVA resistant) 株を検討した。呼吸器感染症患者の内訳は入院が 101 名、外来が 49 名であった。

Etest の方法は分離された菌をコロニーからかきとり、滅菌生理食塩水で攪拌し、McFarland No. 0.5 に調整した。この菌液を滅菌綿棒で、ミューラーヒントンチョコレート寒天培地に均一に塗抹した。Etest ストリップ (AB BIODISK, スウェーデン) を平板上においた。35℃にて 18 時間培養を行い、阻止円の目盛りから MIC を求めた。 $\beta$ -lactamase 産生能は nitrocefin を基質とした chromogenic disc method (セフィナーゼ, Bekton Dickinson Microbiology Systems) を用いて測定した。

$\beta$ -lactamase 陰性の株で、ABPC の MIC が  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上を BLNAR 株、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  未満を軽度 BLNAR 株、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  未満を BLNAS ( $\beta$ -lactamase negative ABPC susceptible) 株、 $\beta$ -lactamase 陽性で AMPC/CVA の MIC が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  未満の株を BLPAR ( $\beta$ -lactamase positive ABPC resistant),  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上の株を BLPACR とした。

## II. 成績

患者の年齢分布は 1 歳未満が 23 名、1 歳が 50 名、2 歳が 26 名、3 歳が 16 名、4 歳が 15 名、5 歳以上が 20 名と、1 歳がもっとも多かった。Fig. 1 に ABPC に対

\*北海道旭川市 1 条通 24 丁目

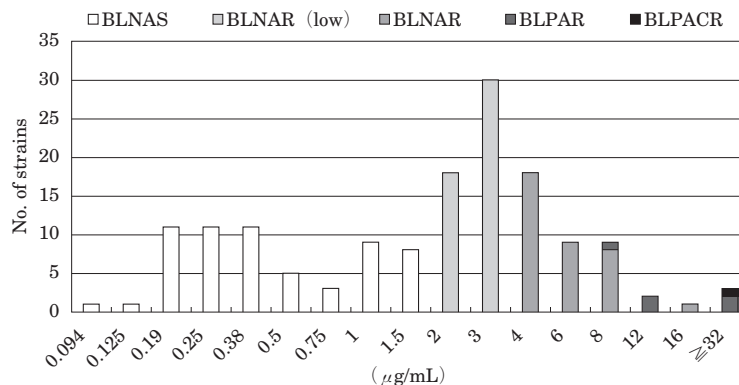


Fig. 1. Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to ampicillin.

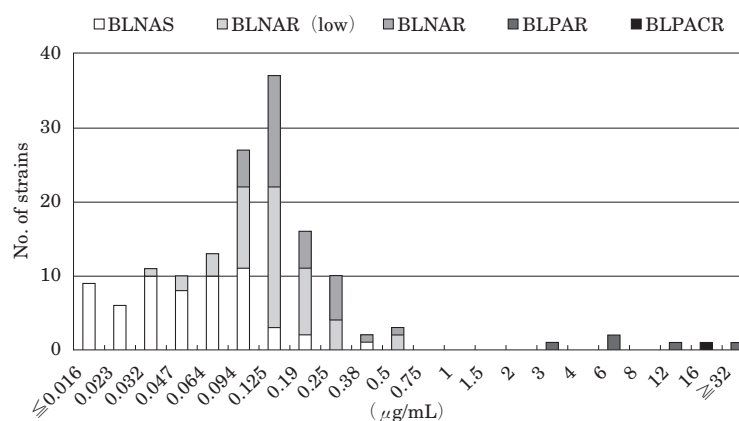


Fig. 2. Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to piperacillin.

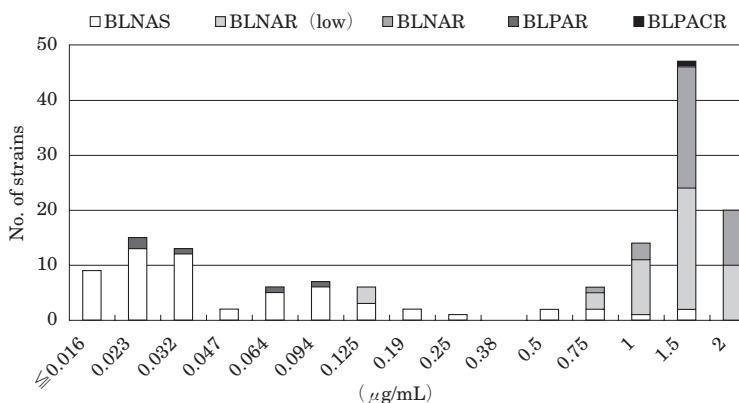
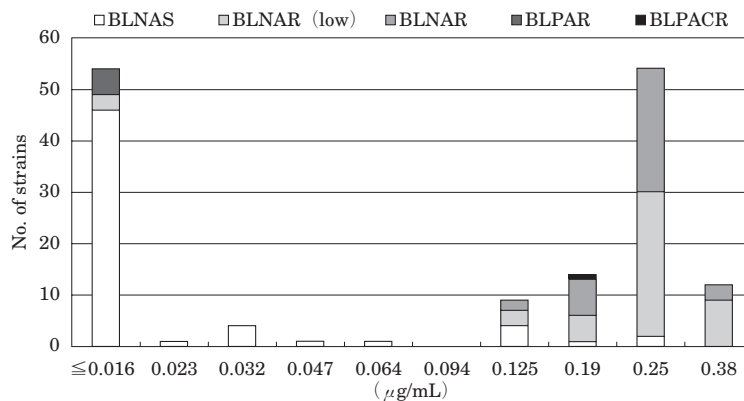
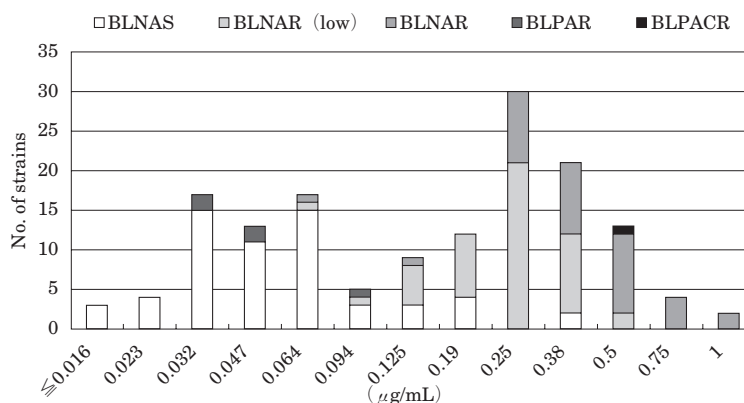


Fig. 3. Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to cefotaxime.

する感受性分布を示す。BLNASは60株(40.0%)、軽度BLNARは48株(32.0%)、BLNARは36株(24.0%)、BLPARは5株(3.3%)、BLPACRは1株(0.7%)であった。各群の平均年齢±標準偏差はBLNASが $1.8 \pm 1.8$ 歳、軽度BLNARが $2.2 \pm 2.3$ 歳、BLNARが $3.0 \pm 2.3$ 歳、BLPARが $2.4 \pm 2.8$ 歳、BLPACRは6歳の1名だけであり、分散分析で年齢構成に有意差を認めた( $p=0.04$ )。外来患者の平均年齢は $1.8 \pm 1.9$ 歳、入院患者が $2.5 \pm 2.3$ 歳で統計学的有意差は認めなかった( $p=0.07$ )。各群における外来患者の比率はBLNASが45.0%、軽度BLNARが29.2%、BLNARが22.2%、

BLPARが0%であった。BLNASにおいて外来患者が多い傾向であったが、有意差はなかった( $p=0.051$ )。

Figs. 2~5にPIPC, CTX, CTRX, MEPMの4薬に対する感受性分布を、Table 1にそれぞれのMIC<sub>90</sub>を示した。どの薬剤でもBLNASより軽度BLNAR, BLNARの方が高い値であった。MIC<sub>90</sub>で比較すると、4薬のなかではPIPCとCTRXのMIC<sub>90</sub>が $0.25 \mu\text{g/mL}$ で優れていた。しかし、PIPCは $\beta$ -lactamase positiveの菌が $3 \mu\text{g/mL}$ 以上であったのに対し、CTRXはすべての株が $0.38 \mu\text{g/mL}$ 以下であった。

Fig. 4. Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to ceftriaxone.Fig. 5. Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to meropenem.Table 1. MIC<sub>90</sub>s of *Haemophilus influenzae* to ampicillin, piperacillin, cefotaxime, ceftriaxone, and meropenem

	BLNAS	BLNAR (low)	BLNAR	Total
n	60	48	36	150
Ampicillin	1.5	3	8	8
Piperacillin	0.125	0.25	0.25	0.25
Cefotaxime	0.5	2	2	2
Ceftriaxone	0.125	0.38	0.38	0.25
Meropenem	0.125	0.38	0.75	0.5

### III. 考 案

BLNARは一濃度ディスク法で阻止円の径を測定することによる感受性試験で明らかに判別することは困難な耐性菌である。今回、著者が用いたEtestは細いストリップ状になった試験紙に抗菌薬が濃度勾配をもって含まれているので、阻止帯の目盛りを読むことでMICを測定できるようになった感受性試験方法である。長谷川らは<sup>3)</sup>*S. pneumoniae*と*H. influenzae*の感受性を寒天平板希釈法とEtestで測定し、両者の成績がほぼ一致したことを報告している。また、Jorgensenら<sup>4)</sup>も*H. influenzae* 50株について本法と寒天平板希釈法を比較し、92%が一致していたことから、本法の有用性を報告している。

生方<sup>1)</sup>は1998年から2000年の3年間に全国187

施設から集積された*H. influenzae* 1,408株について遺伝子解析と主要な抗菌薬における感受性を検討した。その分類は、①いずれの耐性遺伝子をもたない、いわゆるBLNAS、②TEM-1型β-lactamase産生するBLPAR、③ftsI遺伝子にLys-526変異をもつβ-lactamase非産生のLow-BLNAR、④ftsI遺伝子にLys-526変異の他にもアミノ酸配列に変異があるBLNAR、⑤TEM-1とLow-BLNAR耐性遺伝子を保持するβ-lactamase産生でAMPC/CVA耐性のBLPACR-I、⑥TEM-1とBLNAR耐性遺伝子を有するβ-lactamase産生でAMPC/CVA耐性のBLPACR-IIの6つからなる。1,408株中BLNASが826株(58.7%)、BLPARが81株(5.8%)、Low-BLNARが352株(25.0%)、BLNARが109株(7.7%)、BLPACR-Iが36株(2.6%)、BLPACR-IIが4株(0.3%)であった。そして、BLNARの頻度が1998年3.2%、1999年6.6%、2000年13.5%と年々増加していることを報告した。今回の著者の成績ではBLNASは40%で、半分以上の菌が2µg/mL以上のBLNARであった。著者は以前に今回と同様にEtestで測定したABPC耐性*H. influenzae*について1999年7月から2001年6月までの当院の成績を報告<sup>2)</sup>したが、その時には*H. influenzae* 774株のうち、ABPCのMICが2µg/mL以上のBLNARは49株(6.3%)、BLPARは32株(4.1%)であった。したがって約1年半で、BLNARの頻度

は約9倍に増加したことになる。

前述の生方らの報告<sup>1)</sup>のなかで、2000年に分離された *H. influenzae* 438株において注射用抗菌薬の薬剤感受性を検討している。その成績における MIC<sub>90</sub> は CTX が 0.5 µg/mL, CTRX が 0.125 µg/mL, MEPM が 0.5 µg/mL, PIPC が 0.063 µg/mL と今回の成績と値は異なるが、PIPC と CTRX が MEPM と CTX より抗菌力が優れていた点では共通であった。著者<sup>5)</sup>は以前に1999年9月から2001年8月までの2年間に髄液・血液から分離された *H. influenzae* 13株の薬剤感受性を報告した。その成績では CTRX は未検査であったが CTX と MEPM の MIC<sub>90</sub> は 0.06 µg/mL と 0.125 µg/mL と低値であったが、PIPC は β-lactamase 産生菌が多かったため、>32 µg/dL であった。

吉田ら<sup>6)</sup>は2000年に全国16施設で分離された *H. influenzae* 100株の寒天平板希釈法で測定した各種抗菌薬の感受性試験の成績を報告している。この報告では ABPC に対する感受性を 1.56 µg/mL を境にして、それ以上を耐性と分類している。著者が検討した抗菌薬と同じ薬剤の100株での MIC<sub>90</sub> は ABPC 12.5 µg/mL, CTRX 0.20 µg/mL, MEPM 0.39 µg/mL であった。これを BLNAR 37株と BLNAS 56株に分けて、MIC<sub>90</sub> の値 BLNAS・BLNAR の順で表わすと ABPC が 0.78・12.5 µg/mL, CTRX が 0.013・0.20 µg/mL, MEPM が 0.20・1.56 µg/mL といずれも BLNAR が高い値であった。吉田らの報告<sup>6)</sup>に含まれる注射用の cephem 系抗菌薬9薬, carbapenem 系抗菌薬4薬, monobactam 系抗菌薬1薬のなかで CTRX はもっとも MIC<sub>90</sub> が低かった。ただし、小児では使用されることがない quinolone 系を含めると ciprofloxacin が 0.025 µg/mL でもっとも優れていた。松崎ら<sup>7)</sup>は1998年から1999年に呼吸器感染症患者から分離された ABPC に対する MIC が 2 µg/mL 以上の BLNAR 30株を用いて PIPC の抗菌力を検討している。ABPC の MIC<sub>90</sub> が 8 µg/mL に対し、著者の成績と同様に PIPC の MIC<sub>90</sub> は 0.25 µg/mL と低かった。

今回の成績で、BLNAS を検出した児の平均年齢が 1.8 ± 1.8 歳、軽度 BLNAR では 2.2 ± 2.3 歳、BLNAR では 3.0 ± 2.3 歳と、耐性化が進むに伴って有意に年齢が高くなっていた。BLNAR が市中に広がる要因のひとつに保育施設での交差感染があげられている。今回の調査では患者の保育施設への通園の有無は検討していないが、通園している可能性が低い0歳児の占める割合が BLNAS

では 23.3%、軽度 BLNAR では 14.6%、BLNAR では 2.8% となっており、このことが耐性化が進むに伴って年齢が高くなっていた一因と考えられる。

抗菌薬を選択するには、pharmacokinetics および pharmacodynamics での検討や安全性の評価も必要なので、感受性試験の成績だけでいちがいに決定することは難しいが、今回の成績から *H. influenzae* による呼吸器感染症の治療には BLNAS はむしろ BLNAR, BLPAR にも優れた抗菌力が認められた CTRX が第一選択薬になりうる薬剤と考えられた。PIPC も優れた成績であったが、BLPAR には無効であることから、β-lactamase を産生しない菌には適していると考えられた。CTX は CTRX と同じ cephem 系ではあるが、CTRX より抗菌力は劣っていた。MEPM は MIC<sub>90</sub> が CTRX に劣るが、菌によっては CTRX より低い MIC を示す場合があり、CTRX が無効な時に選択すべき薬剤と考えられた。

稿を終えるにあたり、多大なご協力を賜りました当院臨床検査技術部門志賀 誠係長に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 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—. 日化療会誌 50: 794~804, 2002
- 2) 坂田 宏: 小児呼吸器感染症患者の上咽頭から分離された *Streptococcus pneumoniae* 及び *Haemophilus influenzae* の検討。小児感染免疫 14: 17~23, 2002
- 3) 長谷川美幸, 内野卯津樹, 村岡宏江, 他: 新しい抗菌薬感受性測定法: E Test の有用性について—第2報 栄養要求性の厳しい *Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* に対する検討—. 日化療会誌 43: 630~633, 1995
- 4) Jorgensen J H, Howell A W, Maher L A: Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using the E-Test. J Clin Microbiol 32: 430~432, 1994
- 5) 坂田 宏: 小児の血液・髄液から分離された *Haemophilus influenzae* の penicillin 結合蛋白遺伝子変異と薬剤感受性。感染症誌 76: 280~284, 2002
- 6) 吉田 勇, 杉森義一, 東山伊佐夫, 他: 各種抗菌薬に対する臨床分離株の感受性サーベイランス—2000年分離グラム陰性菌に対する抗菌力—. 日化療会誌 51: 209~232, 2003
- 7) 松崎 薫, 小山英明, 大美賀薫, 他: 呼吸器感染症由来の各種耐性菌に対する Piperacillin 抗菌活性 MRSA, PRSP, BLNAR, *P. aeruginosa* を中心に。Jap J Antibiotics 53: 566~572, 2000

## Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* isolated from children with respiratory tract infection

Hiroshi Sakata

Department of Pediatrics, Asahikawa Kosei Hospital, 1-24 Asahikawa, Hokkaido, Japan

We studied the minimum inhibitory concentrations (MICs) of ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM), and amoxicillin/clavulanic acid (AMPC/CVA) using Etest against 150 strains of *Haemophilus influenzae* isolated from upper nasopharyngeal swabs in children with respiratory tract infection between August 2002 and March 2003. Subjects ranged in age from 1 month to 14 years. Of 150 isolates,  $\beta$ -lactamase-negative ABPC-susceptible (BLNAS) strains account for 60 (40.0%),  $\beta$ -lactamase-negative ABPC-resistant (BLNAR) strains for 84 (56.0%),  $\beta$ -lactamase-positive ABPC-resistant (BLPAR) strains for 5 (3.3%), and  $\beta$ -lactamase-positive AMPC/CVA-resistant (BLPACR) strains for 1 (0.7%). Of 84 BLNAR, MICs to ABPC of 36 strains were more than 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and those of 48 were more than 2 and less than 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The  $\text{MIC}_{90}$  was 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in CTRX, 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in PIPC, 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in MEPM, 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in CTX and 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in ABPC.  $\text{MIC}_{90\text{s}}$  of BLNAS and BLNAR were 1.5 and 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in ABPC, 0.125 and 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in PIPC, 1.5 and 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in CTX, 0.125 and 0.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in CTRX, and 0.19 and 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in MEPM.