

【短 報】

小児臨床分離 *Haemophilus influenzae* の静注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 21 年 3 月 18 日受付・平成 21 年 8 月 11 日受理)

2007 年 9 月から 2008 年 3 月までに旭川厚生病院小児科で診療した生後 1 カ月から 15 歳までの患者 179 名の臨床材料から分離された *Haemophilus influenzae* について ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM) の感受性を E-test を用いて測定した。 β -lactamase negative ABPC susceptible 株は 55 株 (30.7%), β -lactamase negative ABPC intermediate resistant 株は 41 株 (22.9%), β -lactamase negative ABPC resistant 株は 73 株 (40.8%), β -lactamase positive ABPC resistant 株は 2 株 (1.1%), BLPACR 8 株 (4.5%) であった。5 年前に行った成績と比較すると、有意に BLNAR の頻度が増加していた ($p < 0.001$)。BLNAR のなかで最も多かった株は前회가 $8 \mu\text{g/mL}$, 今回が $16 \mu\text{g/mL}$ と高くなっていた。最も優れた感受性を示したのは CTRX で、 MIC_{90} が $0.38 \mu\text{g/mL}$ であった。次いで PIPC が $0.5 \mu\text{g/mL}$, MEPM が $1.5 \mu\text{g/mL}$, CTX が $2 \mu\text{g/mL}$ であった。

Key words: *Haemophilus influenzae*, drug susceptibility, β -lactamase negative ampicillin resistant, respiratory tract infection, child

Haemophilus influenzae は小児科では髄膜炎、肺炎、喉頭蓋炎、中耳炎などさまざまな疾患の原因として重要な菌の一つである。従来、本菌は β -lactamase を産生することによって ampicillin (ABPC) に耐性を示していたが、近年ペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding-protein, PBP) 遺伝子に変異を来して耐性化した β -lactamase negative ABPC resistant (BLNAR) 株が増加している^{1,2)}。本菌は ABPC に耐性を有するだけでなく cephem 系や carbapenem 系抗菌薬にも感受性が低下している。そのため、これまで推奨されていた抗菌薬では効果が認められない例が増加している。そこで、当院小児科を受診した呼吸器感染症患者の上咽頭スワブや喀痰から分離された *H. influenzae* について、ABPC を含めて主要な静注用抗菌薬に対する薬剤感受性を検討し、さらに以前に報告した 2002 年から 2003 年に検出された株での成績³⁾と比較した。

2007 年 9 月から 2008 年 3 月までに旭川厚生病院小児科で診療した生後 1 カ月から 15 歳までの患者 179 名の臨床材料から分離された *H. influenzae* について ABPC, piperacillin (PIPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM) の感受性を E-test を用いて測定した。患者の平均年齢は前회가 2.27 ± 2.19 歳, 今回が 2.30 ± 2.27 歳で両者に有意差は認めなかった。E-test の方法は分離された菌をコロニーからかきとり、滅菌生

理食塩水でかくはんし、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。E-test ストリップ (アスカ純薬) を平板上においた。35°C にて 18 時間培養を行い、阻止円の目盛りから MIC を求めた。 β -lactamase 産生能は nitrocefin を基質とした chromogenic disc method (セフィナーゼ, Becton Dickinson Microbiology Systems) を用いて測定した。 β -lactamase 陰性で、ABPC の MIC が $4 \mu\text{g/mL}$ 以上を BLNAR 株, $2 \mu\text{g/mL}$ 以上 $4 \mu\text{g/mL}$ 未満を β -lactamase negative ABPC intermediate resistant (BLNAI) 株, $2 \mu\text{g/mL}$ 未満を β -lactamase negative ABPC susceptible (BLNAS) 株, β -lactamase 陽性で amoxicillin (AMPC) / clavulanic acid (CVA) の MIC が $8 \mu\text{g/mL}$ 未満を β -lactamase positive ABPC resistant (BLPAR) 株, $8 \mu\text{g/mL}$ 以上を β -lactamase positive AMPC/CVA resistant (BLPACR) 株とした。

有意差の検定は StatMateIII for Macintosh (アトムス) により Student-t 検定, カイ二乗検定を行い, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

Fig. 1 に ABPC に対する感受性分布を示した。3 峰性を示し, $0.38 \mu\text{g/mL}$, $3 \mu\text{g/mL}$, $12 \mu\text{g/mL}$ にそれぞれの頂を認めた。耐性分類では BLNAS 55 株 (30.7%), BLNAI 41 株 (22.9%), BLNAR 73 株 (40.8%), BLPAR 2 株 (1.1%), BLPACR 8 株 (4.5%) であった。前回の

*北海道旭川市 1 条通 24 丁目

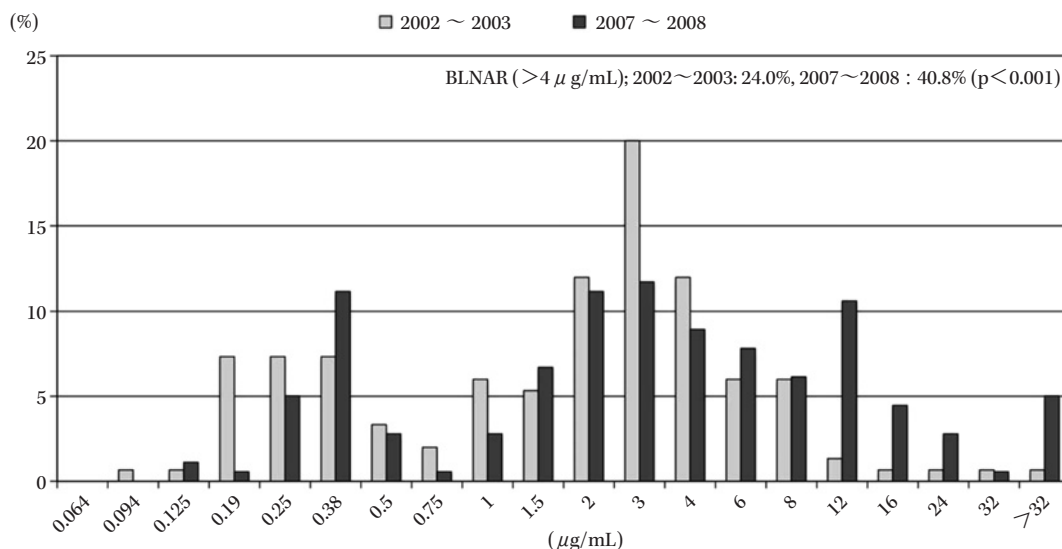


Fig. 1. Susceptibilities distribution of *Haemophilus influenzae* to ampicillin in 2002 to 2003 and 2007 to 2008. (BLNAR: β -lactamase negative ampicillin resistant strain)

BLNAS 株 60 株 (40.0%), BLNAI 48 株 (32.0%), BLNAR 36 株 (24.0%), BLPAR 5 株 (3.3%), BLPACR 1 株 (0.7%) と比較すると、有意に BLNAR の頻度が増加していた ($p < 0.001$)。BLNAR のなかで最も多かった株は前回は $8 \mu\text{g/mL}$ 、今回は $12 \mu\text{g/mL}$ と高くなっていった。耐性頻度と年齢の関係であるが、検出された患者の平均年齢は BLNAS が 2.42 ± 2.48 歳、BLNAI が 2.29 ± 2.39 歳、BLNAR が 2.21 ± 2.08 歳、BLPACR が 2.25 ± 2.43 歳と有意差は得られなかった。

Table 1 に耐性分類ごとの前回と今回の MIC を示した。最も優れた感受性を示したのは CTRX で、 MIC_{90} が $0.38 \mu\text{g/mL}$ であった。次いで PIPC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ 、MEPM が $1.5 \mu\text{g/mL}$ 、CTX が $2 \mu\text{g/mL}$ であった。前回の成績と比較すると、MEPM の MIC_{90} の上昇の幅が大きかった。CTX の MIC_{90} は変わらなかったが、CTRX と PIPC は 2 倍に上昇した。

本邦の成績として、Nariai⁵⁾ は小児から分離された *H. influenzae* を検討し 2002 年の BLNAR の頻度が 28.2% であったが、2005 年には 54.7% まで増加していたと報告している。中村ら⁵⁾ は 2000 年から 2006 年までに検出された *H. influenzae* の薬剤感受性をまとめ、2000 年には 70% 以上を占めていた BLNAS が 2006 年には 50% 以下に減少したと報告している。この成績は、小児に限らないすべての年齢層を含んでいるためか、耐性頻度が著者の成績より低い、耐性菌が増加している傾向は同様であった。そして、PIPC、CTRX、MEPM の MIC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ 未満で、BLNAR に優れた抗菌力を有していた。

Fluit ら⁶⁾ は欧州各国における呼吸器感染症の患者から分離された *H. influenzae* の耐性の頻度を 1997 年から 1998 年と 2002 年から 2003 年の 2 回調査して報告している。2002 年から 2003 年にかけて BLNAR の頻度が高

いのはポーランドで 20.0%、次いで英国 18.2%、アイルランド 15.2%、ポルトガル 11.8%、スペイン 11.1% となっている。 β -lactamase 産生菌ではポルトガル 38.2%、フランス 29.1%、英国 21.2%、スペイン 13.9% と頻度が高かった。Jansen ら⁷⁾ による 2004 年から 2005 年の各国の成績では、BLNAR の頻度はスペインが 33.9% と高く、次いでドイツ 11.8%、トルコ 11.0%、オーストリア 10.0% で、Fluit ら⁶⁾ の報告と異なった成績が得られた。

このように、BLNAR が増加している原因として、Hasegawa ら²⁾ は本邦において cephem 系抗菌薬の使用頻度が高いことに注目している。*H. influenzae* に対する cephem 系抗菌薬の抗菌力は PBP3 との親和性が関連している。血中濃度がさほど上昇しない経口 cephem 系抗菌薬が投与されることによって生じる選択圧がかかると、PBP3 との親和性が低下した遺伝子変異を有する株が選択されると推測している。

ABPC、PIPC、CTX、CTRX、MEPM はいずれも小児科領域では使用される機会が多い静注用抗菌薬である。 β -lactamase 産生菌では ABPC と PIPC は分解されるが、 β -lactamase 非産生菌であれば MIC は最高でも $24 \mu\text{g/mL}$ であり、MIC を上回る血中濃度で薬剤を投与することは可能であり、通常の感染症における有効性は期待できる。CTX、CTRX、MEPM も β -lactamase の存在にかかわらず、十分な臨床効果が期待される。問題は髄液への移行が良好な抗菌薬が必要な細菌性髄膜炎への有効性である。欧米では *H. influenzae* type b (Hib) ワクチンが普及していて、Hib による髄膜炎は激減しているが、2008 年によく市販された本邦では Hib は髄膜炎の原因菌では最も多い菌である。従来の髄膜炎の治療は、原因菌が不明な時には ABPC と CTX か CTRX の併用投与を行い、*H. influenzae* が原因菌と判明すると β -

Table 1. Susceptibilities of *Haemophilus influenzae* to intravenous antibiotics

antibiotics	classification	2002-2003				2007-2008			
		n	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	n	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
ampicillin	BLNAS	60	0.094-1.5	0.38	1.5	55	0.125-1.5	0.38	0.5
	BLNAI	48	2-3	3	3	41	2-3	3	3
	BLNAR	36	4-16	4	8	73	4-24	8	16
	BLPAR + BLPACR	6	8->32	12	>32	10	32->32	>32	>32
	total	150	0.094->32	2	6	179	0.125->32	3	16
piperacillin	BLNAS	60	0.001-0.38	0.047	0.094	55	0.001-1.5	0.047	0.38
	BLNAI	48	0.064-0.5	0.125	0.25	41	0.047-0.19	0.125	0.19
	BLNAR	36	0.032-0.5	0.125	0.25	73	0.064-1	0.19	0.38
	BLPAR + BLPACR	6	3->32	6	>32	10	8->32	16	>32
	total	150	0.001->32	0.094	0.25	179	0.001->32	0.125	0.5
cefotaxime	BLNAS	60	0.004-1.5	0.032	0.5	55	0.016-8	0.047	0.75
	BLNAI	48	0.125-2	1.5	2	41	0.125-2	1	1.5
	BLNAR	36	0.75-2	1.5	2	73	0.125-8	1.5	2
	BLPAR + BLPACR	6	0.023-1.5	0.032	1.5	10	0.094-2	1	2
	total	150	0.004-12	1	2	179	0.016-8	1	2
ceftriaxone	BLNAS	60	0.002-0.25	0.006	0.125	55	0.003-0.25	0.006	0.25
	BLNAI	48	0.016-0.38	0.25	0.38	41	0.016-0.38	0.25	0.38
	BLNAR	36	0.125-0.38	0.25	0.25	73	0.023-1	0.38	0.5
	BLPAR + BLPACR	6	0.002-0.19	0.004	0.19	10	0.016-0.5	0.25	0.38
	total	150	0.002-0.38	0.19	0.25	179	0.003-1	0.25	0.38
meropenem	BLNAS	60	0.016-0.38	0.047	0.125	55	0.023-1	0.094	0.38
	BLNAI	48	0.064-0.5	0.25	0.38	41	0.19-2	0.38	0.5
	BLNAR	36	0.064-1	0.38	0.75	73	0.125-3	0.5	2
	BLPAR + BLPACR	6	0.032-0.5	0.047	0.5	10	0.023-3	0.5	0.5
	total	150	0.016-1	0.19	0.5	179	0.023-3	0.38	1.5

BLNAS: β -lactamase negative ampicillin susceptible strain, BLNAI: β -lactamase negative ampicillin intermediate resistant strain, BLNAR: β -lactamase negative ampicillin resistant strain, BLPAR: β -lactamase positive ampicillin resistant strain, BLPACR: β -lactamase positive amoxicillin/clavulanic acid resistant strain

lactamase 陽性であれば CTX か CTRX, β -lactamase 陰性であれば ABPC の単剤治療が推奨されていた。しかし、今回の成績で示されたように ABPC に対する感受性が低下した株がほぼ 3 分の 2 に達している状況では ABPC は第 1 選択剤としては適さない。PIPC は β -lactamase 産生菌が否定できない限り使用はできない。MIC が 1 μ g/mL をこえる株も少なくない CTX も感受性が不明な段階では推奨できない。今回の感受性成績からみると髄膜炎の第 1 選択剤は CTRX が妥当と考えられる。しかし、菌株によっては MEPM のほうが CTRX より抗菌力が優れている菌株も存在することから、*H. influenzae* 髄膜炎の初期治療には CTRX と MEPM の併用を行い、原因菌の感受性が判明した段階で、CTRX, MEPM, PIPC のいずれかによる単剤治療に変更していくことが望ましいと考えられる。日本神経治療学会、日本神経学会、日本神経感染症学会の合同監修による細菌性髄膜炎の診療ガイドライン⁸⁾でも耐性の *H. influenzae* に対しては CTX か CTRX と MEPM を選択することを推奨している。ただ、薬剤感受性が判明すれば CTX か CTRX のどちらか単剤、MEPM 単剤、あるいは両薬剤の継続のどれが望ましいかは記載されていない。

文 献

- 1) Hasegawa K, Chiba N, Kobayashi R, Murayama S Y, Iwata S, Sunakawa K, et al: Rapidly increasing prevalence of beta-lactamase-nonproducing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b in patients with meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1509-14
- 2) Hasegawa K, Kobayashi R, Takada E, Ono A, Chiba N, Morozumi M, et al: High prevalence of type b β -lactamase-non-producing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* in meningitis: the situation in Japan where Hib vaccine has not been introduced. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 1077-82
- 3) 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。日治療会誌 2003; 51: 569-73
- 4) Nariai A: Prevalence of beta-lactamase-nonproducing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus influenzae* type b strains obtained from children with lower respiratory tract infections. *J Infect Chemother* 2007; 13: 396-9
- 5) 中村茂樹, 柳原克紀, 森永芳智, 木谷貴嘉, 松田淳一, 泉川公一, 他: 下気道由来検体から分離された β -lactamase non-producing ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) の分離頻度と薬剤感受性。

- 日化療会誌 2009; 57: 32-6
- 6) Fluit A C, Florijin A, Verhoef J: Susceptibility of European β -lactamase-positive and -negative *Haemophilus influenzae* isolates from the periods 1997/1998 and 2002/2003. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 133-8
- 7) Jansen W T, Verel A, Beitsma M, Verhoef J, Milatovic D: Longitudinal European surveillance study of antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae*. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 873-7
- 8) 細菌性髄膜炎の診療ガイドライン作成委員会: 細菌性髄膜炎の診療ガイドライン, 医学書院, 東京, 2007

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 concentration (MIC) of ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM), and amoxicillin/clavulanic acid (AMPC/CVA) using the E-test against 179 strains of *Haemophilus influenzae* isolated between September 2007 and March 2008 from upper nasopharyngeal swabs in children age from 1 month to 15 years old with respiratory tract infection. Of 179 isolates, β -lactamase-negative ABPC-susceptible (BLNAS) strains accounted for 55 (30.7%), β -lactamase-negative ABPC-intermediate-resistant (BLNAI) strains for 41 (22.9%), β -lactamase-negative ABPC-resistant (BLNAR) strains for 73 (40.8%), β -lactamase-positive ABPC-resistant (BLPAR) strains for 2 (1.1%), and β -lactamase-positive AMPC/CVA-resistant (BLPACR) strains for 8 (4.5%). BLNAR incidence was significantly greater than that 5 years earlier ($p < 0.001$). The most frequent MIC in BLNAR increased from 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$. MIC₉₀ was 0.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in CTRX, 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in PIPC, 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in MEPM, and 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in CTX.