

## 【原著・基礎】

### 化膿性髄膜炎例から分離された *Streptococcus pneumoniae* の疫学解析

—1993 年から 2002 年の分離株について—

千葉菜穂子<sup>1)</sup>・長谷川恵子<sup>1)</sup>・小林 玲子<sup>2)</sup>・鈴木 悦子<sup>2)</sup>・岩田 敏<sup>3)</sup>・砂川 慶介<sup>4)</sup>  
生方 公子<sup>5)</sup>・「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス研究班」

<sup>1)</sup>北里大学大学院感染制御科学府感染制御科学専攻\*

<sup>2)</sup>明治製菓株式会社薬品総合研究所

<sup>3)</sup>国立病院東京医療センター

<sup>4)</sup>北里大学医学部感染症学講座

<sup>5)</sup>北里大学北里生命研究所感染情報学研究室

(平成 15 年 8 月 20 日受付・平成 15 年 9 月 5 日受理)

1993 年から 2002 年の 10 年間に化膿性髄膜炎例から分離された肺炎球菌 286 株と、髄液の PCR を直接実施し起炎菌が肺炎球菌であると診断された 18 例の合計 304 例を解析対象とした。その内訳は小児が 199 例、成人が 105 例であった。分離株に対する注射用抗菌薬の感受性、ペニシリン結合蛋白 (PBPs) の遺伝子変異の有無、および莢膜血清型について検討した。PCR によって解析された *pbp 1a*, *pbp 2x*, および *pbp 2b* 遺伝子の変異と、基準薬の penicillin G に対する MIC<sub>90</sub> との関係から、被験菌は、(i) 3 遺伝子に変異をもたない PSSP (23.1%, MIC<sub>90</sub>: 0.031 μg/mL), (ii) *pbp 2x* 単独変異 (19.9%, 0.063 μg/mL), (iii) *pbp 2b* 単独変異 (0.7%, 0.125 μg/mL), (iv) *pbp 2x+2b* 変異 (5.9%, 0.25 μg/mL), (v) *pbp 1a+2x* 変異 (10.5%, 0.25 μg/mL), (vi) 3 遺伝子に変異を認める株の PRSP (39.9%, 2 μg/mL) に識別された。(ii)~(v) の株は PISP とした。全国サーベイランス研究とそれ以前に分離された菌株とを比較すると、過去 3 年間の分離株では PRSP, *pbp 1a+2x*, および *pbp 2x* 変異株の割合が有意に高くなっていた。PRSP による発症率は、成人 (27.1%) に比べ、小児 (45.3%) において高かった。PRSP に対する抗菌力は panipenem の MIC<sub>90</sub> が 0.125 μg/mL ともっとも優れ、次いで biapenem (0.25 μg/mL), meropenem と vancomycin (0.5 μg/mL), cefotaxime (1 μg/mL), ceftriaxone (2 μg/mL), ampicillin (4 μg/mL), cefotiam (8 μg/mL) の順であった。小児由来の肺炎球菌における血清型は、6 B (25.4%), 19 F (19.0%), 23 F (13.8%), 6 A (10.1%), および 14 型 (7.9%) の順に多く、成人では 23 F (16.5%), 22 (12.4%), 3 (11.3%), 6 B (10.3%), 19 F (9.3%) および 10 と 14 型 (6.2%) が多かった。両者間の血清型には明らかな違いが認められた ( $\chi^2=56.9656$ ,  $p=0.0000$  (\*\*))。PRSP は小児由来株に多く認められる血清型に多かった。過去 3 年間の小児起炎菌に対する 7 価と 11 価の肺炎球菌 conjugate vaccine のカバー率は、それぞれ 76.7% と 81.7% であった。しかし、成人由来株に対するカバー率は、43.8% と 56.3% と低かった。上述した肺炎球菌による髄膜炎例の成績は、vaccine の導入と全国規模の正確なサーベイランスの必要性を強く示している。

**Key words:** 肺炎球菌, 化膿性髄膜炎, 薬剤感受性, 血清型, サーベイランス

肺炎球菌は、髄膜炎、敗血症、肺炎などといった重症感染症を惹起する菌として広く知られ、抗菌薬が進歩した今日においても高い罹患率と死亡率をもたらす、なかでも耐性肺炎球菌による重症感染症は世界的に重要な問題となっている<sup>1)</sup>。

化膿性髄膜炎の起炎菌としての肺炎球菌における薬剤感受性、莢膜血清型、その発症率、ならびに死亡率についてのサーベイランスは、多くの国々においては全国規模での継続的な調査が行われてきている<sup>2~18)</sup>。しかし、本邦においては、細菌性髄膜炎のサーベイランスは国立感染症研究所・感染情

報センターの定点疫学調査の対象としてその発症動向が集計されているが、起炎菌の性状については検討されていない。その理由は、わが国においては 1990 年代の初期まで、10 万人あたりの肺炎球菌による化膿性髄膜炎発症率と死亡率が欧米に比べてきわめて低かったため、統計上の対象になり得なかったためと考えられる。

一方、本邦における penicillin G 耐性肺炎球菌 (PRSP) の出現は 1985 年前後からと推定され<sup>19)</sup>、まず、小児の急性中耳炎 (AOM) や呼吸器感染症からの分離株において急速に

\* 東京都港区白金 5-9-1

増加してきたが、それと併行して PRSP による化膿性髄膜炎例が報告されはじめている<sup>20)</sup>。しかし、髄膜炎症例から分離される起炎菌に対する全国規模でのサーベイランスは実施されておらず、欧米の疫学と比較できる情報が存在しないことに気づいた。

そのような理由から、われわれは全国の細菌検査室関係者に参加を呼びかけ、2000 年に「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス研究班」を組織した。この研究班の目的は、本邦における化膿性髄膜炎由来の肺炎球菌やインフルエンザ菌などの分離菌に対する細菌学的な疫学解析である。それと併行して、さきに報告した肺炎球菌に対する PCR<sup>21)</sup>によって、その耐性遺伝子を迅速に解析し、薬剤感受性を遺伝子変異との相関から統計学的に算出し、推定 MIC 値として遺伝子変異の成績とともに参考データとして検査室へ返却することも試みた。

この論文においては、1993 年からわれわれにその精査が依頼された菌株も含め、過去 10 年間に小児ならびに成人の化膿性髄膜炎例から分離された肺炎球菌について、注射用  $\beta$ -ラクタム系薬感受性、PBP 遺伝子解析、および、莢膜血清型別について検討した成績を報告する。

## I. 材料と方法

### 1. 収集菌株

1993 年から 2002 年 12 月までの 10 年間にわれわれの施設 (1993 年～1998 年 3 月; 帝京大学医学部臨床病理, 1998 年 4 月～2002 年 3 月; (財)微生物化学研究所, 2002 年 4 月～2002 年 12 月; 北里大学北里生命科学研究科, 感染情報学研究室) に送られてきた化膿性髄膜炎由来の肺炎球菌は 286 株であり、その他に 18 例分のリコールが解析された。なお、これらの菌株のなかには、われわれによって 2000 年に組織された「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス研究班 (参加施設: 275 施設, 班長: 砂川慶介, 事務局: 生方公子)」よりも以前に集められた 106 株も含めた。各施設から、当方で指定したバイオハザード基準に準ずる輸送方法で送られてきた菌株は、到着と同時に PCR による菌種の同定と、耐性遺伝子の検索が行われ、それにもとづいた抗菌薬感受性の推定 MIC 値と血清型の成績が、Fax あるいは E-mail によって参考データとして各検査室に返却された。なお、症例の個人情報については、年齢、性別、氏名 (イニシャル) のみの報告を受けた。PCR が終了した菌株は、単離操作を実施した後、あらためて薬剤感受性の測定を実施するまでの間、10% スキムミルク培地に濃厚に接種して  $-80^{\circ}\text{C}$  に保存した。

### 2. PCR による遺伝子検索

被験菌の PCR による菌種の同定と耐性遺伝子の検索は、すでに報告した方法に準じて実施した<sup>21-23)</sup>。リコールについては、10,000 rpm, 10 分の遠心操作を行った後、沈渣部分の 5  $\mu\text{L}$  を 30  $\mu\text{L}$  の Lysis 液に加え、PCR を実施した。

なお、遺伝子解析にもとづく PCR の結果から、この論文における PSSP, PISP, および PRSP の区別は、次のような菌株と規定した。すなわち、(i) *pbp 1a*, *pbp 2x*, *pbp 2b* のいずれにも耐性に影響を与える変異をもたない株は PSSP, (ii) *pbp 2x* のみに変異を有する株は PISP, (iii) *pbp 2b* のみに変異を有する株は PISP, (iv) *pbp 2x* と *pbp 2b* に変異を有する株は PISP, (v) *pbp 1a* と *pbp 2x* に変異を有する株は PISP, (vi) *pbp 1a* と *pbp 2x* と *pbp 2b* に変異を有する株は PRSP である。

### 3. 血清型別

被験菌の血清型別は、型別用抗血清 (Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark) を用いて莢膜膨化試験によって判定した。

### 4. 薬剤感受性

各種注射用抗菌薬に対する感受性は寒天平板希釈法によって測定した<sup>23)</sup>。被験薬剤は penicillin G (PCG), ampicillin (ABPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), cefotiam (CTM), panipenem (PAPM), meropenem (MEPM), biapenem (BIPM), vancomycin (VCM) の 9 薬剤とした。それぞれの薬剤は当該企業から分与を受け、力価の明らかなものを使用した。測定時、標準株として ATCC 49619 株を用いた。

## II. 結果

### 1. 菌株の送付を受けた施設の内訳

実際に菌株の送付を受けた医療施設は 10 年間で総計 163 施設 (参加施設中 59.3%) であった。病院の内訳でもっとも多かったのは市立・市民病院クラスで 86 症例 (28.3%), 次いでその他 (厚生連系, 社会保険系, 日本赤十字系, 財団系の病院) とした中規模クラスの病院が 63 症例 (20.7%), 私立大学附属病院が 48 症例 (15.8%), 県・都立病院と国立大学附属病院がそれぞれ 40 症例 (13.2%) であった。その他に、検査センターと国立病院がそれぞれ 14 症例 (4.6%), 13 症例 (4.3%) 認められた。

なお、過去 3 年間のみに限ると、私立・国立大学附属病院よりも、各地域において救急患者を受け入れている市立・市民病院クラス、あるいはその他とした中規模クラスの病院、県・都立病院からの菌株送付が多くなっていた。

### 2. 収集菌株の年次推移と耐性との関係

Fig. 1 には、分離菌株数と PBP 遺伝子解析の年次推移の成績を示す。全国的なサーベイランスが開始された 2000 年から 2002 年末 (period B) までの 3 年間における患者数の増加は著しかった。それ以前の 1993 年から 1999 年 (period A) にかけての症例は、当研究室に菌株の精査を依頼された症例であるため例数にばらつきがあり、発症例が増加傾向にあったか否かは定かにはできなかった。

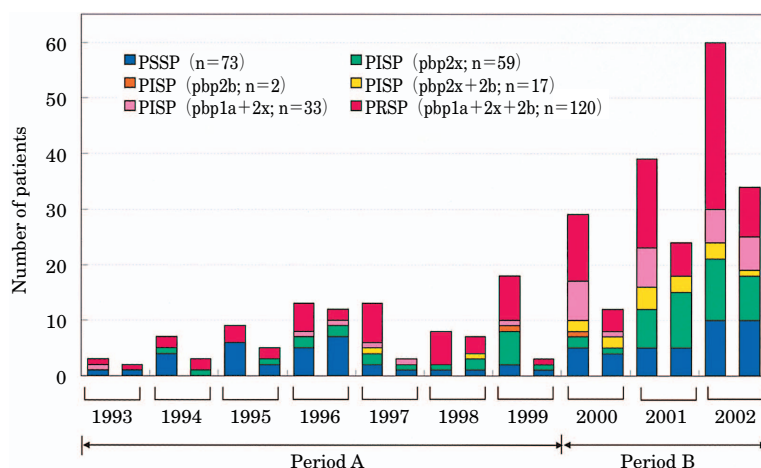


Fig. 1. Yearly changes in resistant strains identified by PCR in *Streptococcus pneumoniae* isolated from meningitis patients (n=304).

一方、PRSPの動向をみると、菌株解析を開始した1993年にも認められ、1999年にはすでに42.9%にまで増加し、その後現在に至るまで高い割合が持続していた。また、*pbp2x* 単独変異株や、*pbp1a+2x* 遺伝子変異のPISPは1999年以前にはごくわずかであったが、最近3年間の成績を集計すると、その割合は明らかに増加傾向にあると思われた。

### 3. 発症年齢と耐性型との関係

Fig. 2には発症年齢と遺伝子変異からみた起炎菌の耐性型との関係を示す。総計304例のうち、17歳以下の小児が199例、18歳以上の成人が105例であった。小児における発症年齢のピークは1歳以下にあり、それらは小児全体の60.8%を占めていた。その後、年齢の上昇とともに暫時減少していた。一方、成人例での好発年齢は50～60代にみられたが、30～40代の症例も多いことが注目された。

PRSPは小児において45.2%分離され、次いで*pbp2x* 変異株が16.1%、*pbp1a+2x* 変異株が12.1%、PSSPは20.6%にすぎなかった。それに対し、成人例ではPRSPの割合が28.6%とやや低く、*pbp2x* 単独変異株とPSSPはそれぞれ25.7%、30.5%と小児に比して高率に分離されていた。過去3年間に限って集計すると、PRSPの割合は小児で45.3%、成人では27.1%であった。

### 4. 血清型

Fig. 3には、分離された菌株の莢膜血清型の成績を小児と成人とに分けて示す。また、耐性遺伝子と血清型との関係はFig. 4に示す。なお、この図に示した株数は286株でリコールそのものを解析した18例は含まれていない。小児においてもっとも多かった血清型は6B(25.4%)、次いで19F(19.0%)、23F(13.8%)、6A(10.1%)、14型(7.9%)の順であった。その他に3と4型

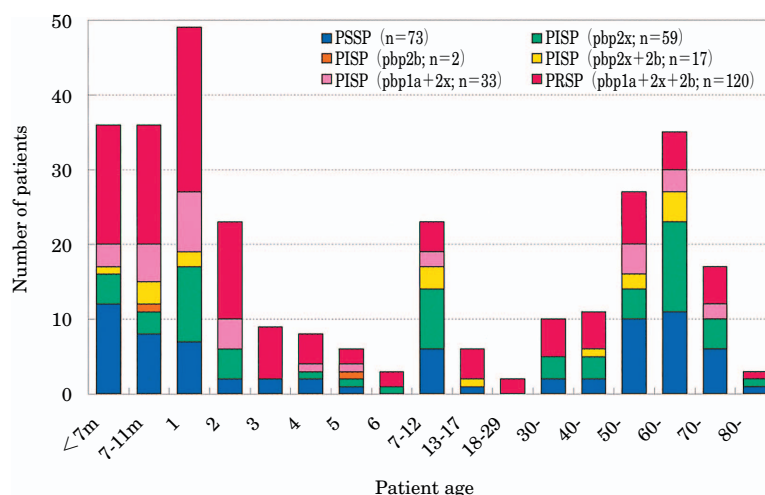


Fig. 2. Patients with meningitis distributed by age and presence of abnormal PBP genes in causative *Streptococcus pneumoniae* (n=304).

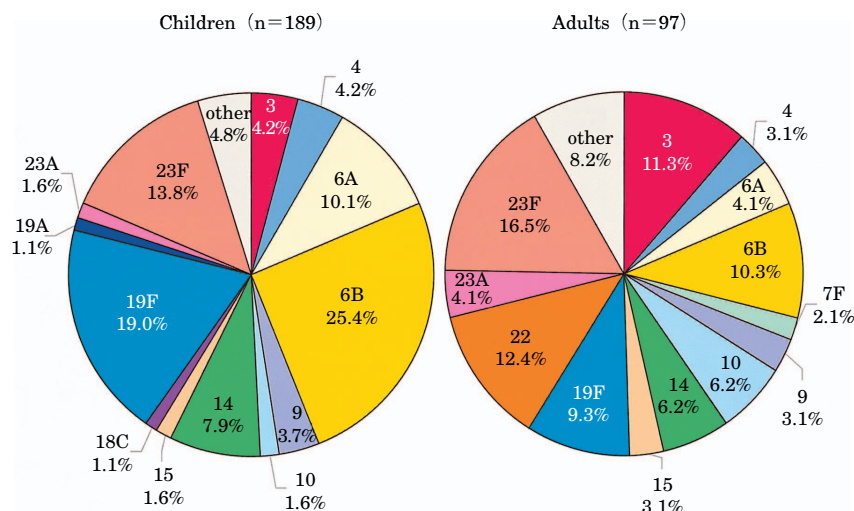


Fig. 3. Serotype of causative *Streptococcus pneumoniae* strains classified by patient age (n=286).

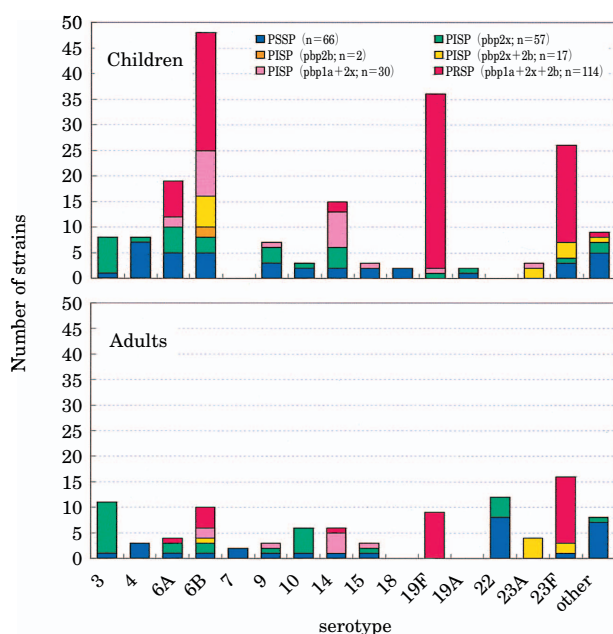


Fig. 4. Serotype distributions and resistance genes identified by PCR in *Streptococcus pneumoniae* isolates (n=286).

がそれぞれ 4.2%, 9 型が 3.7% 認められた。

一方、成人においてもっとも多かった血清型は 23 F (16.5%), 次いで 22 (12.4%), 3 (11.3%), 6 B (10.3%), 19 F (9.3%) および 10 と 14 型 (6.2%) の順であった。小児と成人から分離された肺炎球菌の血清型は明らかに異なっていた ( $\chi^2=56.9656$ ,  $p=0.0000$  (\*\*))。

Fig. 4 に示すように、PRSP の大多数は 19 F, 6 B, 23 F, 6 A, 14 に型別され、その他に 35 型が 1 株認められた。ムコイド型のコロニーを示す 3 型は 2 株のみが PSSP, 残りは *pbp 2x* 単独変異の PISP であった。なお、成人で多かった 22, 10, および 4 型は PSSP あるいは *pbp 2x* 変異株であった。

##### 5. 薬剤感受性と遺伝子変異との関係

Fig. 5 には、各 *pbp* 遺伝子変異と基準薬の PCG, および注射用抗菌薬 7 薬剤, すなわち ABPC, CTX, CTRX, CTM, PAPM, MEPM, BIPM の MIC 分布を示す。また、Table 1 には VCM を加えた各薬剤の MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, MIC range を示す。薬剤感受性は 286 株について測定された。PCR による遺伝子解析の結果からは、(i) *pbp* 遺伝子変異を有しない PSSP が 66 株 (23.1%), (ii) *pbp 2x* 単独変異の PISP が 57 株 (19.9%), (iii) *pbp 2b* 単独変異の PISP が 2 株 (0.7%), (iv) *pbp 2x* と 2b 変異の PISP が 17 株 (5.9%), (v) *pbp 1a* と 2x 変異の PISP が 30 株 (10.5%), (vi) *pbp 1a*, 2x および 2b 変異の PRSP が 114 株 (39.9%) であった。

PCG を除き、VCM を含む薬剤の PRSP に対する MIC<sub>90</sub> は、PAPM (0.125  $\mu\text{g/mL}$ ) > BIPM (0.25  $\mu\text{g/mL}$ ) > MEPM = VCM (0.5  $\mu\text{g/mL}$ ) > CTX (1.0  $\mu\text{g/mL}$ ) > PCG = CTRX (2.0  $\mu\text{g/mL}$ ) > ABPC (4.0  $\mu\text{g/mL}$ ) > CTM (8.0  $\mu\text{g/mL}$ ) の順であった。特にカルバペネム系の 3 薬剤は *pbp 2x* 変異の影響を受けず、*pbp 2x* 単独変異あるいは *pbp 1a* + 2x, *pbp 2x* + 2b 変異株に対しても優れた感受性を示していた。ただし、MEPM の PRSP に対するピークは 0.5  $\mu\text{g/mL}$  にあり、PAPM のそれに比べるとその抗菌力には約 8 倍の開きが認められた。一方、セフェム系薬については、CTX, CTRX, CTM についてのみ感受性を測定したが、前 2 薬剤はほぼ同じ挙動を示しており、特に *pbp 2x* 変異の影響を強く受けていた。すなわち、*pbp 2x* 変異単独株の MIC は、0.125~0.25  $\mu\text{g/mL}$  に分布していた。同様に *pbp 1a* + 2x 変異株も *pbp 2x* 変異の影響を強く受け、PRSP の MIC とほぼ同じレベルまで MIC が低下していた。CTM は *pbp 2x* 変異の影響をほとんど受けていなかったが、抗菌力そのものが劣っており、*pbp 1a* + 2x 変異株あるいは PRSP は、そのほとんどの株が 1  $\mu\text{g/mL}$  以上の MIC を示した。

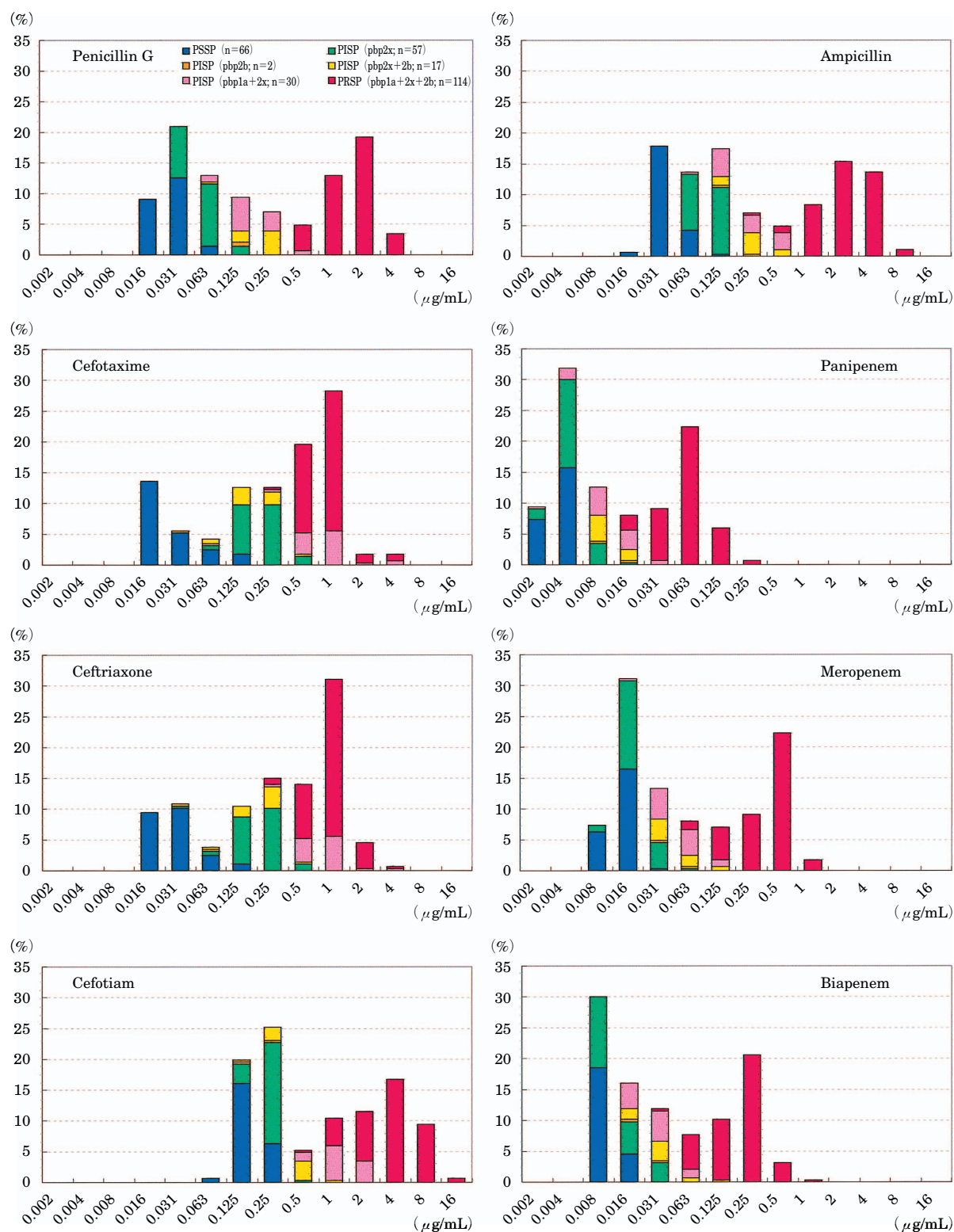


Fig. 5. Correlation between susceptibility to 8  $\beta$ -lactam antibiotics and 3 abnormal PBP genes against *Streptococcus pneumoniae* in 286 isolates from meningitis patients.

### III. 考 察

明らかな PRSP による肺炎、髄膜炎の発症例が 1977 年に報告されて以来<sup>24)</sup>、耐性肺炎球菌は世界各国に広がり、重症感染症における起炎菌として次第に大きな問題となった<sup>1)</sup>。このため、肺炎球菌感染症の発症について

患者背景、起炎菌の病原性、薬剤感受性の動向、あるいは分離菌株の耐性メカニズムについて今日までに多くの研究がなされ、その成績が報告されている<sup>25)</sup>。

しかし、PCG に感受性を有していない株は、本邦においては 1980 年代前半までほとんど確認されておらず、

Table 1. Correlation between susceptibility to 8  $\beta$ -lactam antibiotics and vancomycin and 3 abnormal PBP genes against *Streptococcus pneumoniae* in 286 isolates from meningitis patients

| Antimicrobial agent and resistance class |                                         | MIC <sub>50</sub><br>( $\mu$ g/mL) | MIC <sub>90</sub><br>( $\mu$ g/mL) | MIC range<br>( $\mu$ g/mL) |
|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Penicillin G                             | PSSP (n=66)                             | 0.031                              | 0.031                              | 0.016 – 0.063              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> ) (n=57)          | 0.063                              | 0.063                              | 0.031 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> ) (n=2)           | 0.125                              | 0.125                              | 0.125                      |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> ) (n=17)      | 0.25                               | 0.25                               | 0.063 – 0.25               |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> ) (n=30)      | 0.125                              | 0.25                               | 0.063 – 0.5                |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> ) (n=114) | 2                                  | 2                                  | 0.5 – 4                    |
| Ampicillin                               | PSSP                                    | 0.031                              | 0.063                              | 0.016 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.125                              | 0.125                              | 0.063 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.125                              | 0.25                               | 0.125 – 0.25               |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.25                               | 0.5                                | 0.063 – 0.5                |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 0.25                               | 0.5                                | 0.063 – 0.5                |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 2                                  | 4                                  | 0.25 – 8                   |
| Cefotaxime                               | PSSP                                    | 0.016                              | 0.063                              | 0.016 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.25                               | 0.25                               | 0.063 – 0.5                |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.031                              | 0.063                              | 0.031 – 0.063              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.125                              | 0.25                               | 0.063 – 0.5                |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 1                                  | 1                                  | 0.25 – 4                   |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 1                                  | 1                                  | 0.25 – 4                   |
| Ceftriaxone                              | PSSP                                    | 0.031                              | 0.063                              | 0.016 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.25                               | 0.25                               | 0.031 – 0.5                |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.031                              | 0.063                              | 0.031 – 0.063              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.25                               | 0.25                               | 0.063 – 0.5                |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 1                                  | 1                                  | 0.25 – 4                   |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 1                                  | 2                                  | 0.25 – 4                   |
| Cefotiam                                 | PSSP                                    | 0.125                              | 0.25                               | 0.063 – 0.25               |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.25                               | 0.25                               | 0.125 – 0.5                |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.125                              | 0.25                               | 0.125 – 0.25               |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.5                                | 0.5                                | 0.125 – 1                  |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 1                                  | 2                                  | 0.5 – 2                    |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 4                                  | 8                                  | 0.5 – 16                   |
| Panipenem                                | PSSP                                    | 0.004                              | 0.004                              | 0.002 – 0.004              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.004                              | 0.008                              | 0.002 – 0.016              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.008                              | 0.016                              | 0.008 – 0.016              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.008                              | 0.016                              | 0.008 – 0.016              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 0.008                              | 0.016                              | 0.002 – 0.031              |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 0.063                              | 0.125                              | 0.016 – 0.25               |
| Meropenem                                | PSSP                                    | 0.016                              | 0.016                              | 0.008 – 0.031              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.016                              | 0.031                              | 0.008 – 0.063              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.031                              | 0.063                              | 0.031 – 0.063              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.031                              | 0.125                              | 0.031 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 0.031                              | 0.063                              | 0.016 – 0.125              |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 0.5                                | 0.5                                | 0.063 – 1                  |
| Biapenem                                 | PSSP                                    | 0.008                              | 0.016                              | 0.008 – 0.016              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.008                              | 0.031                              | 0.008 – 0.031              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.016                              | 0.031                              | 0.016 – 0.031              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.031                              | 0.063                              | 0.016 – 0.125              |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 0.031                              | 0.063                              | 0.016 – 0.063              |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 0.25                               | 0.25                               | 0.031 – 1                  |
| Vancomycin                               | PSSP                                    | 0.5                                | 0.5                                | 0.25 – 0.5                 |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x</i> )                 | 0.5                                | 0.5                                | 0.25 – 0.5                 |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 b</i> )                 | 0.25                               | 0.25                               | 0.25                       |
|                                          | PISP ( <i>pbp 2 x+2 b</i> )             | 0.5                                | 0.5                                | 0.25 – 0.5                 |
|                                          | PISP ( <i>pbp 1 a+2 x</i> )             | 0.5                                | 0.5                                | 0.25 – 0.5                 |
|                                          | PRSP ( <i>pbp 1 a+2 x+2 b</i> )         | 0.5                                | 0.5                                | 0.25 – 0.5                 |

臨床上の問題にはならなかった<sup>26)</sup>。PISP が出現しはじめたのは 1985 年頃からで、次いで PRSP が認められはじめ、1990 年代になるとそれらは全国へ拡散し急速に増加した。2002 年における小児呼吸器感染症由来株における遺伝子学的に識別された PISP と PRSP の割合は、それぞれ 33.0% と 54.9% ときわめて高い割合になっている。この成績は、本邦においては PRSP の分離率が諸外国をすでに上回っていることを示している。

急速に耐性菌が増加してきた理由にはいくつかのことが考えられる。ひとつは、本邦においては、外来患者に血中濃度および組織移行性の低い経口セフェム系薬が多く処方されているということがあげられる。小児外来患者に対して血中移行の良好な amoxicillin などが初期治療薬として推奨されている欧米とは異なっている<sup>27~30)</sup>。このような違いがペニシリン系よりもセフェム系薬に感受性の低下した *pbp 2x* 変異株が 20% と高率に分離されていることに反映されていると思われる。その他には、相対的に人口密度が高いこと、社会環境の変化による免疫学的に未熟な乳幼児保育の増加による耐性菌の容易な拡散なども耐性菌の増加因子となっている。

一方、本邦においては PRSP によるはじめての髄膜炎例は 1988 年に報告されている<sup>20)</sup>が、世界的な趨勢とあわせて考えると、そのような重症例が耐性菌による呼吸器感染症の増加と併行して、次第に増加するであろうことが危惧された。わが国では、細菌性髄膜炎の発症動向調査は公的機関によって集計されているが、起炎菌の耐性動向や病原性にかかわる血清型を含む疫学調査は実施されていない。そのような現状から、起炎菌の精査を主目的として組織されたのが「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス研究班」である。

結果の項に記したように、3 年間にわたって収集された髄膜炎由来株の解析は、わが国における肺炎球菌性髄膜炎の起炎菌の実態をある程度、把握できたものと考えている。特に急速な臨床経過を示す重症感染症の多くが受診している市民病院、県立病院、財団系の中規模クラスの病院が本研究班に多数参加し、菌株の送付を受けた意義は大きいと考える。このことによって、肺炎球菌性髄膜炎は小児においては 1 歳以下の発症例が圧倒的に多いこと、また、壮年期の成人例における発症例も予想以上に多いことが明らかにされた。しかも、PRSP あるいは PISP による発症例がきわめて高率となっている実態も浮き彫りにできたと考える。

このような起炎菌に対し、本邦においてはカルバペネム系薬の PAPM が優れた抗菌活性を保持し、他のカルバペネム系薬もある程度の抗菌力を有することが明らかにされたが、化膿性髄膜炎に対する適用を一部の薬剤は取得していないことなどの問題もみられる。VCM も同様である。

一方、注射用セフェム系薬の抗菌力はカルバペネム系

薬に比べてはるかに劣り、初期治療薬としては適当ではないことが後遺症などの関連において示唆されているが、それらについては別の論文として発表したいと考えている。

肺炎球菌による重症感染症は抗菌薬のみでは防ぐことができないという視点から、欧米においては早い時期から 23 価 polysaccharide vaccine にはじまり、現在 7 価、9 価、11 価の conjugate vaccine へと開発が進み、大規模なフィールドワークが行われている<sup>2,31~35)</sup>。病原性を有する肺炎球菌の血清型は 90 種類に区別されているが、vaccine に含まれるのはその一部である。したがって、それらの vaccine が各国レベルでみた起炎菌をどれだけカバーできるかが導入の重要なキープポイントとなる。起炎菌の血清型は、発展途上国と先進国<sup>36)</sup>、あるいは症例の年齢層や感染症の種類<sup>6)</sup>によっても異なることも知られている。

本研究で明らかになった小児由来の菌株の血清型は 7 価あるいは 11 価に含まれるものが多いため、過去 3 年間の菌株に限ると、それぞれの vaccine は 76.7% と 81.7% の割合でカバーできることが示された。また、vaccine 中の 6B が 6A に対しても cross-protection を有していれば、さらにそのカバー率が 9.1% 高まり、それぞれ 85.8%, 90.8% となる。しかしながら、cross-protection は完全には立証されていない<sup>37)</sup>。一方、成人由来株に対する過去 3 年間のカバー率は 7 価 vaccine が 43.8%, 11 価 vaccine が 56.3% と低かった。特に、本邦に多い 3 型が vaccine に加えられていない 7 価 vaccine のカバー率の低いことが問題である。成人に対する vaccine には少なくとも 10 型と 22 型も加えられることが望まれる。

耐性菌による重症感染症の増加を防ぐためには、治療薬としての優れた抗菌薬の開発と同時に、肺炎球菌、および本邦でまだ導入されていない Hib vaccine などの早急な導入も必要である。

#### 謝 辞

本研究を遂行するにあたって組織された「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス研究班」に参加いただき、菌株の分与をいただきました細菌検査室の関係各位、ならびに担当医の先生方に心より御礼申し上げます。

また、本研究の一部は厚生労働省科学研究の「新興・再興感染症研究事業、研究課題名: 水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎などの今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究」の補助金によって行われた。

#### 文 献

- 1) Klugman K P: Pneumococcal Resistance to Antibiotics. Clin Microbiol Rev 3: 171~196, 1990
- 2) Advisory Committee on Immunization Practices: Preventing Pneumococcal Disease Among Infants and Young Children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Morb Mortal Wkly Rep 49: 1~35, 2000

- 3) Brandileone M C, De Andrade A L, Di Fabio J L, et al.: Appropriateness of a pneumococcal conjugate vaccine in Brazil: potential impact of age and clinical diagnosis, with emphasis on meningitis. *J Infect Dis* 187: 1206~1212, 2003
- 4) Camou T, Palacio R, Di Fabio J L, et al.: Invasive pneumococcal diseases in Uruguayan children: comparison between serotype distribution and conjugate vaccine formulations. *Vaccine* 21: 2102~2105, 2003
- 5) Diez-Domingo J, Pereiro I, Morant A, et al.: Epidemiology of invasive *streptococcus pneumoniae* infections in children in Spain, 1996~1998. *J Infect* 45: 139~143, 2002
- 6) Doit C, Loukil C, Geslin P, et al.: Phenotypic and genetic diversity of invasive pneumococcal isolates recovered from French children. *J Clin Microbiol* 40: 2994~2998, 2002
- 7) Eriksson M, Henriques B, Ekdahl K: Epidemiology of pneumococcal infections in Swedish children. *Acta Paediatr Suppl* 89: 35~39, 2000
- 8) Feikin D R, Klugman K P: Historical changes in pneumococcal serogroup distribution: implications for the era of pneumococcal conjugate vaccines. *Clin Infect Dis* 35: 547~555, 2002
- 9) Huebner R E, Wasas A D, Klugman K P: Trends in antimicrobial resistance and serotype distribution of blood and cerebrospinal fluid isolates of *Streptococcus pneumoniae* in South Africa, 1991~1998. *Int J Infect Dis* 4: 214~218, 2000
- 10) Kaltoft M S, Zeuthen N, Konradsen H B: Epidemiology of invasive pneumococcal infections in children aged 0~6 years in Denmark: a 19-year nationwide surveillance study. *Acta Paediatr Suppl* 89: 3~10, 2000
- 11) Kyaw M H, Clarke S, Jones I G, et al.: Incidence of invasive pneumococcal disease in Scotland, 1988~99. *Epidemiol Infect* 128: 139~147, 2002
- 12) Miller E, Waight P, Efstratiou A, et al.: Epidemiology of invasive and other pneumococcal disease in children in England and Wales 1996~1998. *Acta Paediatr Suppl* 89: 11~16, 2000
- 13) Pantosti A, D'Ambrosio F, Tarasi A, et al.: Antibiotic susceptibility and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing meningitis in Italy, 1997~1999. *Clin Infect Dis* 31: 1373~1379, 2000
- 14) Skoczynska A, Hryniewicz W: Genetic relatedness, antibiotic susceptibility, and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* responsible for meningitis in Poland, 1997~2001. *Microb Drug Resist* 9: 175~182, 2003
- 15) Spanjaard L, Van der Ende A, Rumke H, et al.: Epidemiology of meningitis and bacteraemia due to *Streptococcus pneumoniae* in The Netherlands. *Acta Paediatr Suppl* 89: 22~26, 2000
- 16) Syriopoulou V, Daikos G L, Soulis K, et al.: Epidemiology of invasive childhood pneumococcal infections in Greece. *Acta Paediatr Suppl* 89: 30~34, 2000
- 17) Verhaegen J, Vandecasteele S J, Vandeven J, et al.: Antibiotic susceptibility and serotype distribution of 240 *Streptococcus pneumoniae* causing meningitis in Belgium 1997~2000. *Acta Clin Belg* 58: 19~26, 2003
- 18) Ziebold C, Von Kries R, Siedler A, et al.: Epidemiology of pneumococcal disease in children in Germany. *Acta Paediatr Suppl* 89: 17~21, 2000
- 19) 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
- 20) 有益 修, 目黒英典, 白石裕昭, 他:  $\beta$ -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
- 21) Ubukata K, Muraki T, Igarashi A, et al.: Identification of Penicillin and Other  $\beta$ -Lactam Resistance in *Streptococcus pneumoniae* by PCR. *J Infect Chemother* 3: 190~197, 1997
- 22) Nagai K, Shibasaki Y, Hasegawa K, et al.: Evaluations of the primers for PCR to screen *Streptococcus pneumoniae* isolates,  $\beta$ -lactam resistance and to detect common macrolide resistance determinants. *J Antimicrob Chemother* 48: 915~918, 2001
- 23) 千葉菜穂子, 小林玲子, 長谷川恵子, 他: 肺炎球菌に対するカルバペネム系薬の抗菌作用の比較。日化療会誌 50: 161~170, 2002
- 24) Appelbaum P C, Bhamjee A, Scragg J N, et al.: *Streptococcus pneumoniae* resistant to penicillin and chloramphenicol. *Lancet* 2: 995~997, 1977
- 25) Tomasz A: *Streptococcus pneumoniae*: Molecular Biology & Mechanisms of Disease. Mary Ann Liebert, N. Y., 2000
- 26) 柳瀬義男, 生方公子, 紺野昌俊, 他: 最近の小児科領域における肺炎球菌の性状について。小児科臨床 31: 59~65, 1978
- 27) Dowel S F, Butler J C, Giebink G S: Acute otitis media: management and surveillance in an era of pneumococcal resistance. Drug-Resistant *Streptococcus Pneumoniae* Therapeutic Working Group. *Pediatr Infect Dis J* 18: 1~9, 1999
- 28) Dowell S F, Marcy S M, Phillips W R, et al.: Otitis Media-Principles of Judicious Use of Antimicrobial Agents. *Pediatrics Suppl* 101: 165~171, 1998
- 29) Klein J O: Review of consensus reports on management of acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 18: 1152~1155, 1999
- 30) Yu V L, Chiou C C C, Feldman C, et al.: An international prospective study of pneumococcal bacteremia: correlation with in vitro resistance, antibiotics administered, and clinical outcome. *Clin Infect Dis* 37: 230~237, 2003
- 31) Black S, Shinefield H, Fireman B, et al.: Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J* 19: 187~195, 2000
- 32) Choo S, Seymour L, Morris R, et al.: Immunogenicity and reactogenicity of a pneumococcal conjugate vaccine administered combined with a haemophilus influenzae type B conjugate vaccine in United Kingdom infants. *Pediatr Infect Dis J* 19: 854~862, 2000
- 33) Dagan R, Fraser D: Conjugate pneumococcal vaccine

- and antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*: herd immunity and reduction of otitis morbidity. *Pediatr Infect Dis J* 19: S 79~88, 2000
- 34) Hausdorff W P, Bryant J, Paradiso P R, et al.: Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. *Clin Infect Dis* 30: 100~121, 2000
- 35) Whitney C G, Farley M H, Hadler J, et al.: Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med* 348: 1737~1746, 2003
- 36) Sniadack D H, Schwartz B, Lipman H, et al.: Potential interventions for the prevention of childhood pneumonia: geographic and temporal differences in serotype and serogroup distribution of sterile site pneumococcal isolates from children—implications for vaccine strategies. *Pediatr Infect Dis J* 14: 503~510, 1995
- 37) Vakevainen M, Eklund C, Eskola J, et al.: Cross-reactivity of antibodies to type 6 B and 6 A polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*, evoked by pneumococcal conjugate vaccines, in infants. *J Infect Dis* 184: 789~793, 2001

## Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients with meningitis between 1993 and 2002

Naoko Chiba<sup>1)</sup>, Keiko Hasegawa<sup>1)</sup>, Reiko Kobayashi<sup>2)</sup>, Etsuko Suzuki<sup>2)</sup>,  
Satoshi Iwata<sup>3)</sup>, Keisuke Sunakawa<sup>1)</sup> and Kimiko Ubukata<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Kitasato Institute for Life Sciences & Graduate School of Infection Control Sciences, Kitasato University, 5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo, Japan

<sup>2)</sup>Pharmaceutical Center, Meiji Seika Kaihsha

<sup>3)</sup>Department of Pediatrics, Tokyo National Medical Center

We studied 304 meningitis cases, including 18 cases pneumococcal meningitis confirmed by direct PCR for cerebrospinal fluid between 1993 and 2003. We analyzed isolates of 199 strains from children and isolates of 105 strains from adults to determine antibiotic susceptibility, genotype of penicillin-binding protein (PBP) genes, and the serotype distribution of isolates. Isolates in which abnormal PBP genes of *pbp 1a*, *pbp 2x*, and *pbp 2b* were identified by PCR were classified based on PCR results and MIC<sub>90</sub> of penicillin G as follows: (i) PSSP with 3 normal PBP genes (23.1%, MIC<sub>90</sub>: 0.031 µg/mL), (ii) PISP with an abnormal *pbp 2x* (19.9%, MIC<sub>90</sub>: 0.063 µg/mL); (iii) PISP with an abnormal *pbp 2b* (0.7%, MIC<sub>90</sub>: 0.125 µg/mL); (iv) PISP with abnormal *pbp 2x* and *pbp 2b* (5.9%, 0.25 µg/mL); (v) PISP with abnormal *pbp 1a* and *pbp 2x* (10.5%, 0.25 µg/mL); and (vi) PRSP with 3 abnormal PBP genes (39.9%, 2 µg/mL). The incidence of PRSP, PISP having abnormal *pbp 1a* and *pbp 2x*, and PISP having an abnormal *pbp 2x* in the last 3 years was significantly higher rather than in preceding years. The incidence of PRSP was also significantly higher in children (45.3%) than in adults (27.1%). Panipenem showed an excellent MIC<sub>90</sub> of 0.125 µg/mL against PRSP, followed by biapenem (0.25 µg/mL), meropenem and vancomycin (0.5 µg/mL), cefotaxime (1 µg/mL), ceftriaxone (2 µg/mL), ampicillin (4 µg/mL), and cefotiam (8 µg/mL). Significantly prevalent pneumococcal serotypes of isolates from children were 6B (25.4%), 19F (19.0%), 23F (13.8%), 6A (10.1%), and 14 (7.9%), in that order, compared to 23F (16.5%), 22 (12.4%), 3 (11.3%), 6B (10.3%), 19F (9.3%), and 10=14 (6.2%) in adults. Serotypes of isolates from both generations differed significantly ( $\chi^2=56.9656$ ,  $p=0.0000$  (\*\*)). PRSP was more prevalent in serotypes in strains from children. For isolates in the last 3 years, in children, seven-valent pneumococcal conjugate vaccine covered isolates in 76.7% and eleven-valent vaccine 81.7%, but coverage was apparently low in adults at 43.8% and 56.3%. These findings suggest the need to introduce conjugate vaccine at the earliest opportunity and to continue nationwide monitoring of meningitis in Japan.