

【原著・臨床】

最近3年間に大学病院小児科で分離した緑膿菌の基礎的・臨床的検討

織田 慶子・池永 昌昭・大津 寧・津村 直幹

久留米大学医学部小児科*

(平成15年10月3日受付・平成16年1月8日受理)

1997年6月から2000年7月までに久留米大学小児科で分離した緑膿菌114株の薬剤感受性と血清型、カルバペネム耐性遺伝子IMP1を検討した。検討した抗菌薬のうちもっとも抗菌力が良好であったのはmeropenemであった。セフェム系薬の耐性化は著しく、もっとも良好な抗菌力を示したcefepimeでさえMIC₉₀は64 µg/mLであった。それに比しアミノ配糖体に対しては比較的感受性菌がみられた。血清型は呼吸器由来株でA型が23株、D型が12株、他の分離部位では特に有意な傾向はみられなかった。114株中IMP1は17株陽性で、そのうち3株は血液由来であった。血液由来株は全部で8株で、4例より分離され、同一患者に異なる菌による再感染がみられた。幸いにもこの時期には多剤耐性菌はみられなかった。

Key words: child, *Pseudomonas aeruginosa*, IMP 1 gene

緑膿菌は特に免疫不全状態の宿主で、重篤な感染症を引き起こす重要な菌である。今回われわれは、久留米大学小児科で1997年6月から2000年7月までに分離された114株の薬剤感受性とその血清型、IMP1遺伝子、さらに血液より分離された症例を検討したので報告する。

I. 対象と方法

薬剤感受性はpiperacillin (PIPC), tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), ceftazidime (CAZ), cefsulodin (CFS), cefpirome (CPR), cefepime (CFPM), ceftazidime (CAZ), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), aztreonam (AZT), imipenem (IPM), panipenem (PAPM), meropenem (MEPM), fosfomicin (FOM), tobramycin (TOB), amikacin (AMK), erythromycin (EM), sulfamethoxazole-trimethoprim (ST), norfloxacin (NFLX) の19薬剤に対し測定した。

MICの測定は日本化学療法学会標準法にしたがい行った¹⁾。感受性菌、耐性菌の区別はNCCLSの基準に準じて行った²⁾。血清型の決定はデンカ生研の群別免疫血清により行った。IMP1の遺伝子はOsanoらの方法にしたがった³⁾。

II. 結果

66例の小児より114株が分離された。年齢は3日齢から21歳、平均4.9歳、男女比は36:30であった。21歳の患者は脳性まひを基礎疾患として10数年来当科でフォローしてきたので、検討に加えた。新生児は13例であった。基礎疾患は19例は血液・悪性疾患、6例が神経疾患であった (Table 1)。114株のうち呼吸器由来は82株と大半を占め、皮膚由来10株、尿14株、血液8株であった。血清型は呼吸器由来株でA型が23株、

D型が12株、他の分離部位では特に有意な傾向はみられなかった。

1. 薬剤感受性 (Tables 2, 3)

Table 2に主なペニシリン、セフェム系静注薬の薬剤感受性を示す。薬剤感受性ではMICのもっとも良好だったのは、小児の適応はないがCFPMで、MIC₉₀は64 µg/mLであった。一時期当科で血液、悪性疾患の第一選択薬として投与されていたCAZの耐性化は著しく、50/114, 44%がintermediate以上であった。しかしもっと深刻なのは現在血液、悪性疾患の発熱時に用いられているCPRの耐性化で、60/114, 53%がintermediate以上であった。一方カルバペネム系薬では、やはり小児に対し適応はないが、MEPMがもっとも良好で、MICが128 µg/mL以上の株はみられなかった。

Table 1. Patient profiles

N	66
Age (range, mean)	3 day-21 y, 4.4 y
Underlying disease malignancy	19
Newborn complication	13
CP, MR	8
Immunodeficiency	2
Metabolic disorder	3
CHD	1
Collagen disease	1
Blood disorder	1
Lung fibrosis	1
None	17
Infections	
UTI	14
Phlegmone	10
Bacteremia	8

*福岡県久留米市旭町 67

Table 2. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to parenteral penicillin, cephem and carbapenem

MIC ($\mu\text{g/mL}$)	PIPC	TAZ/PIPC	CTX	CAZ	AZT	CPR	CZOP	CFPM	CFS	IPM	PAPM	MEPM
0.016	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
0.032	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	2	7
0.06	0	0	0	3	0	0	5	7	0	0	0	9
0.125	1	0	0	0	0	0	5	7	16	0	0	12
0.25	6	0	0	1	0	0	12	11	1	0	0	9
0.5	3	3	0	7	2	3	0	17	1	2	5	7
1	6	3	8	14	3	16	16	10	3	13	7	8
2	2	5	1	12	21	16	12	11	11	21	8	8
4	12	27	6	7	28	16	5	9	19	23	10	8
8	20	10	16	18	22	4	18	14	12	17	11	17
16	10	18	15	7	14	9	4	11	12	17	22	13
32	12	18	14	13	10	16	5	3	1	9	16	3
64	19	13	9	1	0	15	6	7	0	3	23	5
128	10	10	17	6	13	16	8	2	7	9	7	0
256	4	0	0	3	0	3	18	4	16	0	3	0
512	9	7	28	16	1	0	0	1	15	0	0	0
MIC ₉₀	256	128	512	512	128	128	256	64	512	32	64	16

intermediate strains defined by NCCLS

resistant strains defined by NCCLS

PIPC: piperacillin, TAZ/PIPC: tazobactam/piperacillin, CTX: cefotaxime, CAZ: ceftazidime, AZT: aztreonam, CPR: cefpirome, CZOP: ceftazopran, CFPM: cefepime, CFS: cefsulodin, IPM: imipenem, PAPM: panipenem, MEPM: meropenem

Table 3. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycoside, fosfomycin, erythromycin, and norfloxacin

MIC ($\mu\text{g/mL}$)	TOB	AMK	NFLX	EM	FOM
0.032	0	0	3	0	0
0.06	1	0	12	0	0
0.125	4	0	2	0	0
0.25	3	0	42	0	1
0.5	55	4	30	0	1
1	17	19	12	0	0
2	9	15	8	0	11
4	2	38	3	0	20
8	2	16	0	2	41
16	2	1	2	0	16
32	3	6	0	4	5
64	9	6	0	29	5
128	4	7	0	24	3
256	2	0	0	55	2
512	2	0	0	0	2
>512	0	0	0	1	6
MIC ₉₀	64	64	2	256	128

intermediate strains defined by NCCLS

resistant strains defined by NCCLS

TOB: tobramycin, AMK: amikacin, NFLX: norfloxacin, EM: erythromycin, FOM: fosfomycin

Table 3 ではその他の抗菌薬の MIC を示している。EM は本来緑膿菌に適応はないが、近年 biofilm 産生を抑制し、慢性呼吸器疾患の病状改善に役立つ、という報告が

多数なされているので⁴⁾、参考までに測定した。アミノ配糖体ではセフェム系薬に比し、耐性化はさほどでなく、TOB で 27/114, 24%, AMK で 19/114, 17% が intermediate 以上であった。もっとも良好であったのはニューキノロン系薬の NFLX で 2 株しか耐性菌がなかった。

2. IMP 1 遺伝子の検討 (Table 4)

カルバペネム系薬に対する代表的耐性遺伝子である IMP 1 を検討した。17 株で陽性であった。陽性であった症例を Table 4 に示す。いずれも何らかの基礎疾患をもち、頻回に抗菌薬の投与を受けているような症例であった。このうちいわゆる起炎菌として臨床問題となったのは、血液、膿、もしくは尿から分離された 6 例 (表の実線の上部分) で、他はいわゆる colonization の状態と思われた。このなかで比較的抗菌力が保たれていたのは AZT で、17 株中 10 株は感受性菌であった。幸いなことに多剤耐性菌は 1 株もなかった。ただし、2 株は TOB を除くと全薬剤に耐性であった。

3. 血液から分離された 4 例の検討 (Table 5)

血液より緑膿菌が分離された 4 例、8 株を示す。全例血液疾患、もしくは後天性免疫不全の基礎疾患をもっていた。血清型はこれと違って多くみられたものはなかった。きわめて興味深いことには、緑膿菌を血液から何度も繰り返し分離する症例があることで、血清型もすべて違い MIC も異なっているため、まったく別の菌が何度も同一個体に入り込んでいることがわかる。8 株中 3 株に耐性遺伝子 IMP 1 が証明された。

III. 考 察

当科の緑膿菌のセフェム、カルバペネム系薬に対する

Table 4. Cases yielding *Pseudomonas aeruginosa* with IMP 1

Case	Age	Gender	Underlying disease	Sample	Serotype	PIPC	TAZ/PIPC	CAZ	CPR	CZOP	CFPM	AZT	IPM	PAPM	MEPM	TOB	AMK	NFLX
1	4	F	neuroblastoma	blood	M	8	8	512	128	256	64	2	128	128	8	64	128	0.5
2	15	F	germinoma	blood	NT	256	256	512	128	128	128	128	16	32	16	4	32	16
3	16	M	PNET	blood	A	128	128	32	2	0.5	1	16	1	4	0.5	0.5	2	0.06
4	18	F	galactosemia	urine	G	8	8	512	128	256	32	1	128	128	16	64	128	0.25
5	1 mo	F	newborn	pus	A	8	8	64	2	16	2	1	256	64	8	0.5	4	2
6	16	M	AIDS	pus	A	256	256	256	32	64	32	128	16	32	16	2	32	16
7	1	M	CP	intubation tube	J	8	8	512	128	256	64	2	64	128	8	64	128	0.5
8	1 mo	F	newborn	intubation tube	NT	8	8	>512	128	256	64	1	64	128	16	64	64	0.5
9	12	F	CP	nasopharynx	NT	32	16	4	4	2	8	32	128	16	4	1	8	0.06
10	3	M	CHD	intubation tube	E	64	32	8	8	2	1	64	64	16	4	1	2	0.25
11	2	F	anomaly	nasopharynx	E	128	64	16	32	8	8	16	128	32	8	128	8	1
12	4	F	CP	sputum	NT	32	64	>512	128	256	256	32	256	256	256	128	128	2
13	18	M	CP	sputum	NT	1	0.125	0.125	16	8	1	0.25	16	64	128	256	128	0.25
14	6	M	Lung fibrosis	intubation tube	D	8	8	512	128	256	256	2	64	128	16	64	64	2
15	18	F	galactosemia	tonsil	J	8	8	512	128	256	64	8	128	128	8	64	64	0.5
16	5	M	ALL	sputum	L	16	32	512	256	256	128	1	64	128	128	64	128	0.5
17	3	M	ALL	nasopharynx	NT	8	8	512	256	256	128	1	128	256	16	128	128	0.5

PNET: primitive neuroectodermal tumor, AIDS: acquired immunodeficiency syndrome, CP: cerebral palsy, CHD: congenital heart disease, ALL: acute lymphoblastic leukemia

PIPC: piperacillin, TAZ/PIPC: tazobactam/piperacillin, CAZ: ceftazidime, CPR: ceftazidime, CFPM: ceftazidime, AZT: aztreonam, IPM: imipenem, PAPM: panipenem, MEPM: meropenem, TOB: tobramycin, AMK: amikacin, NFLX: norfloxacin

Table 5. Bacteremia due to *Pseudomonas aeruginosa*

Case	Gender	Age	Underlying disease	Serotype	MIC								Imp	Outcome
					PIPC	CAZ	CPR	CZOP	IPM	MEPM	AMK	NFLX		
1	M	16	AIDS	J	2	2	128	64	2	0.06	32	0.1		death
2	F	15	germinoma	A	0.5	1	128	128	8	0.06	8	0.1		ARF
2	F	15	germinoma	NT	256	128	128	128	32	16	256	16	+	cure
3	F	4	neuroblastoma	M	8	512	128	256	128	8	128	0.5	+	death
4	M	16	PNET	NT	8	16	4	8	16	0.5	8	0.1		cure
4	M	16	PNET	M	4	1	16	2	16	0.5	256	0.1		cure
4	M	16	PNET	A	128	32	0.5	16	4	0.5	256	0.1	+	cure
4	M	16	PNET	B	8	1	16	4	16	0.5	256	0.1		cure

ARF: acute renal failure, AIDS: acquired immunodeficiency syndrome, PNET: primitive neuroectodermal tumor

PIPC: piperacillin, CAZ: ceftazidime, CPR: ceftiofime, CZOP: ceftiofime, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, AMK: amikacin,

NFLX: norfloxacin

耐性獲得は予想以上であったが、ほとんどの菌がいわゆる colonization の (82/114, 72%) 状態で、重症感染症の起炎菌としてはそれほど高い率を占めるものではなかった(同期間の敗血症起炎菌 121 株中 8 株⁵⁾)。そのため高度耐性菌が多い割には、全体の予後を著しく悪化させる要因とはなっていない。ただし 4 例の敗血症症例のうち 2 例は死亡、1 例に合併症をきたしており、今後も薬剤感受性、さらには耐性遺伝子の注意深い観察が必要と思われた。この時期にはいわゆる多剤耐性菌はみられなかったが、これはたまたまニューキノロン系薬が NFLX を除き小児に適応がないためと思われ、もしこれらの薬剤が成人と同様に投与できる状況になれば、多剤耐性菌は容易に出現しうるものと思われる。実際今回の検討でも NFLX, MEPM, およびアミノ配糖体以外に高度耐性を示す菌が散見されており、今後の傾向に十分留意する必要があると思われた。

IV. 結 語

1997 年から 2000 年までに分離された緑膿菌 114 株

の薬剤感受性、血清型、カルバペネム耐性遺伝子 IMP 1 を検討した。薬剤耐性化はかなり進んでいたが、幸いなことに多剤耐性菌は検討期間では分離されなかった。

文 献

- 1) 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定再改訂について。Chemotherapy 29: 71~79, 1981
- 2) M 100-S 9. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial susceptibility testing; Ninth Informational supplement. 19: 76~77, 1999
- 3) Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, et al.: Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in clinical isolates of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. Antimicrob Agents Chemother 38: 71~78, 1994
- 4) Jaffe A, Bush A: Anti-inflammatory effects of macrolides in lung disease. Pediatr Pulmonol 31: 464~473, 2001
- 5) Oda K, Matsuo Y, Nagai K, et al.: Sepsis in children. Pediatr Int. 528~533, 2000

Clinical analysis of pediatric *Pseudomonas aeruginosa* infections in University Hospital

Keiko Oda, Masaaki Ikenaga, Kenji Masunaga,
Yasusi Otsu and Naoki Tsumura

Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine,
67 Asahimachi, Kurume, Fukuoka, Japan

We analyzed 114 strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from 66 children between 1997 and 2000. Drug susceptibility, serotypes, and the IMP 1 gene were studied. Thirty-six patients had underlying diseases, including 19 neoplastic disorders, and 6 neurological problems. Twenty one strains were from 13 newborn babies. Eighty-two strains were from the respiratory tract, 14 from urine, 10 from skin or pus, and 8 from blood. The most effective antimicrobial agent other than new quinolones was meropenem. The prevalent serotype was type A (23/114, 20%). Seventeen of strains had the IMP 1 gene (17/114, 15%) and most were from respiratory tract (10/17, 59%). Interestingly, there were two patients who isolated *P. aeruginosa* from blood repeatedly. And their strains were different on each case of bacteremia. We found no multidrug-resistant *P. aeruginosa*.