

表 6 *H. influenzae* 臨床分離株の薬剤感受性 (n=596)

| Antimicrobial agents | MIC (μ g/ml) | | | % by category* | | | |
|----------------------|-----------------------------|------------------|-------------|------------------|-------------|--------------|-----------|
| | Range | 50% | 90% | Mode | Susceptible | Intermediate | Resistant |
| ampicillin | $\leq 0.25 \sim > 8$ | ≤ 0.25 | 8 | ≤ 0.25 | 77.2 | 8.1 | 14.7 |
| ampicillin/sulbactam | $\leq 0.25/0.12 \sim > 8/4$ | $\leq 0.25/0.12$ | 2/1 | $\leq 0.25/0.12$ | 93.0 | | 7.0 |
| piperacilin | $\leq 0.06 \sim > 2$ | ≤ 0.06 | 2 | ≤ 0.06 | | | |
| aztreonam | $\leq 0.12 \sim > 4$ | ≤ 0.12 | 0.5 | ≤ 0.12 | 96.8 | | |
| meropenem | $\leq 0.06 \sim 1$ | ≤ 0.06 | 0.12 | ≤ 0.06 | 99.8 | | |
| cefotaxime | $\leq 0.06 \sim > 2$ | ≤ 0.06 | 0.25 | ≤ 0.06 | 99.2 | | |
| ceftriaxone | $\leq 0.06 \sim > 1$ | ≤ 0.06 | 0.12 | ≤ 0.06 | 100 | | |
| cefaclor | $\leq 1 \sim > 32$ | 4 | 32 | 2 | 70.6 | 12.4 | 17.0 |
| cefepoxime | $\leq 0.06 \sim > 2$ | ≤ 0.06 | 1 | ≤ 0.06 | 93.8 | | |
| ceftazidime | $\leq 0.06 \sim > 2$ | ≤ 0.06 | 0.25 | ≤ 0.06 | 99.3 | | |
| ceftiofen | $\leq 0.06 \sim > 2$ | ≤ 0.06 | ≤ 0.06 | ≤ 0.06 | | | |
| cefepim | $\leq 0.06 \sim > 2$ | ≤ 0.06 | 0.5 | ≤ 0.06 | | | |
| azithromycin | $\leq 1 \sim 4$ | ≤ 1 | 2 | 2 | 100 | | |
| clarithromycin | $\leq 1 \sim 32$ | 4 | 8 | 8 | 87.4 | 11.6 | 1.0 |
| chloramphenicol | $\leq 0.25 \sim > 8$ | 0.5 | 1 | 0.5 | 96.5 | | 3.5 |
| levofloxacin | $\leq 0.06 \sim > 1$ | ≤ 0.06 | ≤ 0.06 | ≤ 0.06 | 99.3 | | |

* Break points are those advocated by the NCCLS for use in MIC determinations with *H. influenzae*

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書
ヘモフィルス・インフルエンザ感染症と分離菌解析

山崎 勉（埼玉医科大学感染症科・感染制御科講師）

研究要旨 インフルエンサ菌の薬剤耐性について、小児の気道由来 58 株について検討した。ニトロセフィン法により β -ラクタマーゼ産生性、微量液体希釈法により薬剤感受性を検索した。また、PCR 法により薬剤耐性遺伝子である *pbp3-1*、*pbp3-2* を検出し、薬剤感受性試験の結果と比較した。ABPC の MIC が 0.5–2.0 $\mu\text{g/ml}$ の感受性株では、*pbp* 遺伝子変異が認められ、MIC が 0.5 $\mu\text{g/ml}$ の 1 株ならびに MIC が 1.0 $\mu\text{g/ml}$ の 7 株は、*pbp3-1* あるいは *pbp3-2* のいずれかの変異が存在した。さらに、MIC が 2 $\mu\text{g/ml}$ の 20 株では、遺伝子変異数が 2 のものか 15 株、変異数 1 のものか 5 株を占めた。ABPC 耐性株については、ABPC の MIC が 4 $\mu\text{g/ml}$ の 9 株では、遺伝子変異数が 2 のものか 8 株、変異数 1 のものか 1 株を占めた。また、MIC が 8 $\mu\text{g/ml}$ 以上の 13 株では、遺伝子変異数が 2 のものか 3 株、変異数 1 のものか 5 株を占めたか、*pbp* 遺伝子変異が見られなかったものも 5 株存在した。なおこの 13 株は、1 株を除いて β -lactamase 産生性であり、ABPC 耐性に関しては β -lactamase が主体的役割を有するものと推察された。しかし、 β -lactamase を産生し、かつ *pbp* 遺伝子変異を 2 個認める株も存在した。薬剤感受性試験で ABPC 感受性であっても、耐性遺伝子を保有する場合があり、今後もインフルエンサ菌の薬剤耐性の動向に留意すべきである。

A 研究目的

ヘモフィルス・インフルエンサ（インフルエンサ菌）の、臨床疫学について解析し、分離株の薬剤耐性について検討する。特に、最近問題となっている β -ラクタマーゼ産生 ABPC 耐性（BLPAR）や β -ラクタマーゼ非産生 ABPC 耐性（BLNAR）等の検出状況について、明らかにする。さらに、血清抗インフルエンサ菌抗体の、気道感染症の病原診断や疫学研究における有用

性を検討する。

B 研究方法

平成 13 年～14 年の期間に、埼玉医科大学附属病院にて分離されたインフルエンサ菌 418 株について、臨床背景を検討し、ニトロセフィン法により β -ラクタマーゼ産生性、微量液体希釈法により薬剤感受性を検索した。この中で、気管支・肺感染症患児の喀痰由来の 58 株については、PCR 法により薬剤耐性遺伝子である、*pbp3-1*、

pbp3-2 を検出し、薬剤感受性試験の結果と比較した。さらに、喀痰培養にてインフルエンサ菌が主体菌として検出された18例より、ペア血清を採取してインフルエンサ菌に対する抗体を測定した。抗体測定は、インフルエンサ菌の粗抗原を用いたELISA法にて施行した。

倫理面への配慮は、倫理規定に沿った。

C 研究結果

各科由来株

埼玉医科大学附属病院におけるインフルエンサ菌の分離株は、小児由来が65%を占めた(図1)。また、インフルエンサ菌が分離された検体は、喀痰(57%)、咽頭粘液(32%)など、気道由来株が89%を占めた(図2)。そこで、分離菌の解析は、小児の気道由来のインフルエンサ菌について行った。

小児の気道由来株 気管支・肺感染症に罹患して埼玉医科大学附属病院小児科を受診し、洗浄喀痰培養法にて起炎菌を判定した小児は、268例であった。この中で、インフルエンサ菌は33%を占め、最も検出頻度の高い起炎菌であった(表1)。小児由来の菌株における β -lactamase およびABPCに対する感受性による分類を、表2に示す。BLPAR株およびBLNAR株が占める割合は、各々11%、6%であった。さらに、小児由来のインフルエンサ菌58株について、検討した。これらの菌株の、ABPCに対する最小発育阻止濃度(MIC)は、0.25 μ g/ml, 8株, 0.5, 1株, 1.0, 7株, 2.0, 20株, 4.0, 9株, 8.0 \leq , 13

株であった。ABPCのMICが4 μ g/ml以上のものをABPC耐性とする、ABPC耐性株は、22株であった。一方、58株の中で β -lactamase陽性は12株、陰性は46株であった。ABPCに対する感受性ならびに β -lactamase産生性により、これらの菌株を分類すると、BLPAR株が12株、BLNAR株が10株を占めた。インフルエンサ菌の耐性遺伝子は、*pbp3-1*, *pbp3-2*両方の変異が26株、どちらか一方の変異が19株、変異がないものが13株であった。ABPCに対するMICが0.25 μ g/mlの8株は、いずれも遺伝子変異はみられなかった。一方、ABPCのMICが0.5~2.0 μ g/mlの感受性株は遺伝子変異が認められ、MICが0.5 μ g/mlの1株ならびにMICが1.0 μ g/mlの7株は、*pbp3-1*あるいは*pbp3-2*のいずれかの変異が存在した。さらに、MICが2 μ g/mlの20株では、遺伝子変異数が2のものか15株、変異数1のものか5株を占めた。一方、ABPC耐性株については、ABPCのMICが4 μ g/mlの9株では、遺伝子変異数が2のものか8株、変異数1のものか1株を占めた。また、MICが8 μ g/ml以上の13株では、遺伝子変異数が2のものか3株、変異数1のものか5株を占めたか、*pbp*遺伝子変異が見られなかったものも5株存在した。なおこの13株は、1株を除いて β -lactamase産生性であった。

抗インフルエンザ菌抗体の測定

喀痰でインフルエンサ菌が主体菌として検出された18例の中で、血清抗体の上昇がみられたものは、1例

(6%)のみであった。

D 考察

インフルエンサ菌の薬剤耐性について、従来は β -lactamase 産生菌における ABPC をはしめとする β -lactam 薬に対する耐性か問題とされてきた。最近、 β -lactamase を陰性せず、ABPC 耐性を示すインフルエンサ菌の存在か、特にわか国において注目されている。インフルエンサ菌は、呼吸器感染症以外にも髄膜炎や敗血症の原因ともなり、これらの耐性株の出現は、臨床上的脅威である。米国 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)の基準では、ABPC の MIC が $4\mu\text{g/ml}$ 以上のものを ABPC 耐性と定義している。この判定基準を適用すると、今回の検討からは ABPC 感受性菌であっても耐性遺伝子を持つ場合があった。ABPC に対する MIC が $0.5\text{--}2.0\mu\text{g/ml}$ のものでは、いずれも pbp 遺伝子変異を有し、全身感染症の際の抗菌薬選択に、今後留意する必要がある。一方、ABPC に対する MIC が $8\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株では、pbp 遺伝子変異のない株もあり、この群における ABPC 耐性は、従来より報告されている β -lactamase が主體的役割を有するものと推察された。しかし、 β -lactamase を産生し、かつ pbp 遺伝子変異を2個認める株も存在した。インフルエンサ菌における、これらの耐性株の検出状況を、今後も注意深く調査する必要がある。今回は、インフルエンサ菌の感染症の中で、最も臨床的に遭遇する機会の多いと考えられる、小

児の気道感染症について主に検討した。今後は、髄膜炎や敗血症などの全身感染症由来株についても検討する必要があるものと考えられる。

インフルエンサ菌の抗体測定については、喀痰培養との一致率は低かった。この理由として、今回抗体測定に用いた抗原は、北欧由来でありわか国の菌株とは抗原性に異なっていた可能性がある。今後は、抗原の選択や精製法、さらには測定方法についても、検討が必要である。

E 結論

インフルエンサ菌は、小児の気道感染症の原因菌として重要であった。

薬剤感受性試験で ABPC 感受性であっても、耐性遺伝子を保有する場合があり、今後もインフルエンサ菌の薬剤耐性の動向に留意すべきである。

インフルエンサ菌の抗体測定は、血清診断に使用する抗原や測定方法についての検討が必要である。

F 健康危険情報

特記すべきことなし

G 研究発表

1 論文発表

なし

2 学会発表

1)山崎 勉、他 小児の気管支・肺感染症における起炎菌の検討- 洗浄喀痰培養と血清抗体の比較- 第77回日本感染症学会総会(平成15年4月17日、福岡)

2)館 良美、山崎 勉、他 当院から分離された ABPC 耐性 *H influenzae* の薬剤感受性について 第77回日本

感染症学会総会(平成15年4月17日、福岡)

3)伊東敦子、山崎 勉、他 小児の気管支・肺感染症における洗浄喀痰培養と鼻咽頭培養の比較 第106回日本小児科学会学術総会(平成15年4月25日、福岡)

4)山崎 勉 小児感染症の問題点と新しい治療戦略 呼吸器感染症(細菌性,非定型細菌も含む) 第52回日本感染症学会東日本地方会総会ワークショップ(平成15年10月31日、横浜)

5)伊東敦子、山崎 勉、他 小児肺炎の起炎微生物による臨床的検討 第106回日本小児感染症学会(平成15年11月8日、富山)

6)橋北義一、山崎 勉、他 埼玉医科大学におけるABPC耐性*H influenzae*の薬剤感受性と遺伝子解析について 第15回日本臨床微生物学会、(平成16年1月24日、つくば)

E 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
なし

図1. *H influenzae*の年齢別検出状況

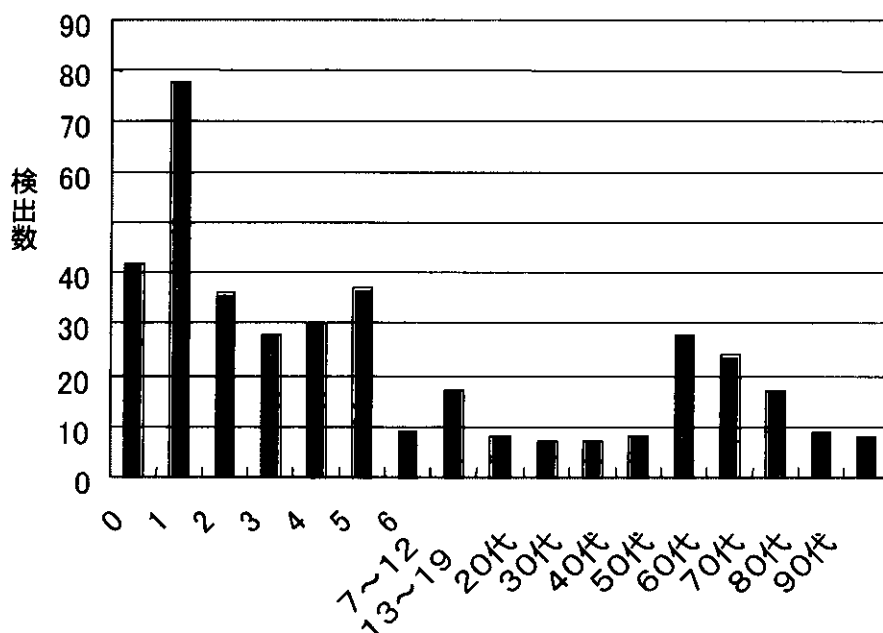


図2 . 臨床材料別のインフルエンザ菌検出状況

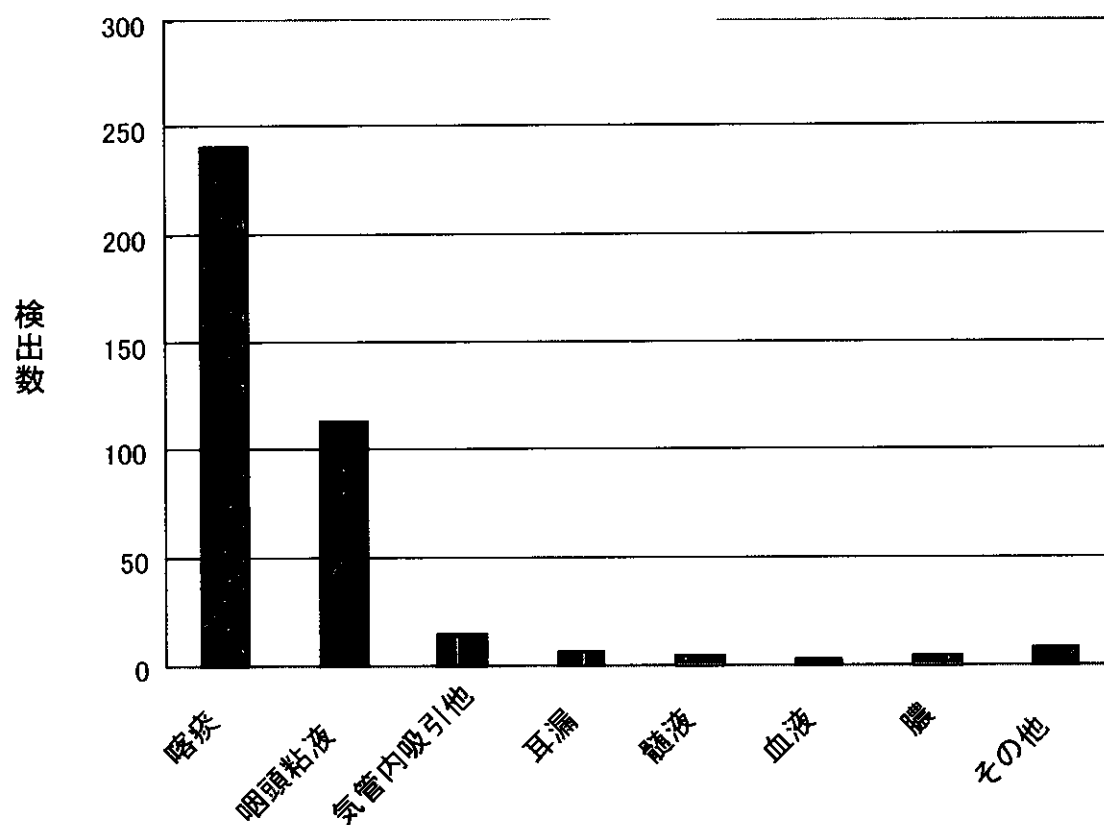


表1 基礎疾患のない児の気管支・肺感染症起炎菌(埼玉医科大学、268 検体)

| 起炎菌 | 検出頻度 |
|----------------------|------|
| <i>H influenzae</i> | 33% |
| <i>S pneumoniae</i> | 16% |
| <i>M catarrhalis</i> | 1% |
| メチシリン感受性黄色フトウ球菌 | 2% |
| メチシリン耐性黄色フトウ球菌 | 1% |
| <i>S agalactiae</i> | 1% |
| no pathogen | 46% |

表 2 インフルエンザ菌の抗菌薬感受性による分類(小児由来株)

| インフルエンザ菌の分類 | 検出頻度 |
|---------------------------------------|------|
| β -lactamase 陽性 ABPC 耐性(BLPAR) | 11% |
| β -lactamase 陰性 ABPC 耐性(BLNAR) | 6% |
| β -lactamase 陰性 ABPC 感受性(BLNAS) | 83% |

表 3 インフルエンザ菌の ABPC 耐性と遺伝子変異(小児由来 58 株)

| ABPCに対するMIC (μ g/mL) | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 | 4 | 8 \leq |
|---------------------------|------|-----|---|----|---|----------|
| 分離株数 | 8 | 1 | 7 | 20 | 9 | 13 |
| β -lactamase産生 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 |
| pbp ₂ 遺伝子変異数 | | | | | | |
| 2 (BLNAR) | 0 | 0 | 0 | 15 | 8 | 3 |
| 1 (low-BLNAR) | 0 | 1 | 7 | 5 | 1 | 5 |
| 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍(特になし)

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | へー／ |
|------|---------|-----------|-----|------|-----|-----|-----|
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻名 | ページ | 出版年 |
|-------|--|-----------------------|--------|----------|-------|
| 佐々木次雄 | マクロライド耐性 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 増加の兆し | 病原体検出情報 | 25 (2) | 43-44 | 2003 |
| | マイコプラズマ肺炎の細菌学的診断法 | 日本臨床微生物雑誌 | 13 (2) | 101-106 | 2003 |
| 高橋元秀 | <i>Corvnbacterium ulcerans</i> Diphtheria in Japan | Emerging Infect Dis J | 9 (6) | 752-753 | 2003 |
| 荒川宜親 | マクロライド耐性 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 増加の兆し | 病原体検出情報 | 25 (2) | 43-44 | 43-44 |
| 見理 剛 | マイコプラズマの遺伝子学 | 日本臨床増刊号 | 61 | 772-778 | 2003 |
| | Multiple promoter inversions generate surface antigenic variation in <i>Mycoplasma penetrans</i> | J Bacteriol | 185(1) | 231-242 | 2003 |
| 成田光生 | マイコプラズマ感染症の基礎と臨床 小児マイコプラズマ肺炎の臨床 | 臨床と微生物 | 30 | 47-51 | 2003 |
| | 小児マイコプラズマ感染症診断における迅速診断キットの有用性 | 感染症学雑誌 | 77 | 310-315 | 2003 |
| | 感染症迅速診断の実弊 マイコプラズマ | 小児科 | 44 | 1884-890 | 2003 |
| | マイコプラズマ肺炎の病態と治療戦略 | 分子呼吸器病 | 7 | 553-555 | 2003 |
| | マクロライド耐性 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 増加の兆し | 病原体検出情報 | 25 (2) | 43-44 | 2003 |

20030537

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

V. 参考資料、その他

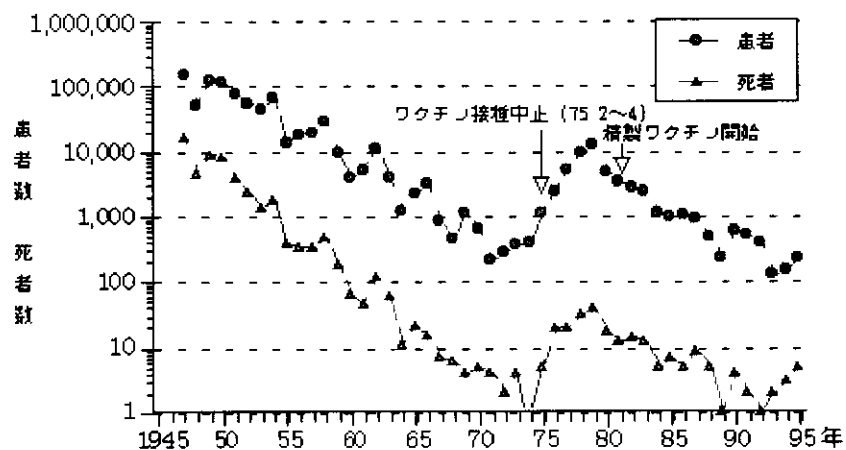
研究対象病原体に関する疫学データ

- 1. 百日咳菌
 - 2. ジフテリア
 - 3. マイコプラズマ
 - 4. インフルエンザ菌
- (国立感染症研究所IASR情報)

百日咳届出患者数及び死亡者数の推移

IASR Vol 18, No 5 (1997)

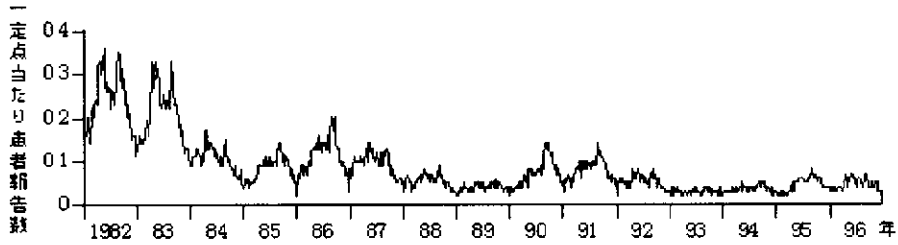
図1 百日咳届出患者数及び死亡者数の推移, 1947~1995年
(厚生省伝染病統計 人口動態統計)



百日咳様疾患患者報告数の推移

IASR Vol 18, No 5 (1997)

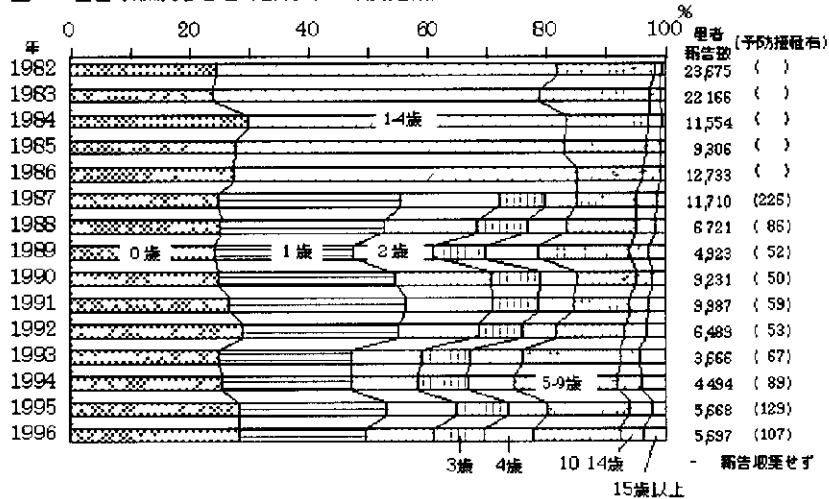
図2 百日咳様疾患患者報告数の推移, 1982~1996年 (感染症サーベイランス情報)



百日咳様疾患患者年齢分布の年別比較

IASR Vol 18, No 5 (1997)

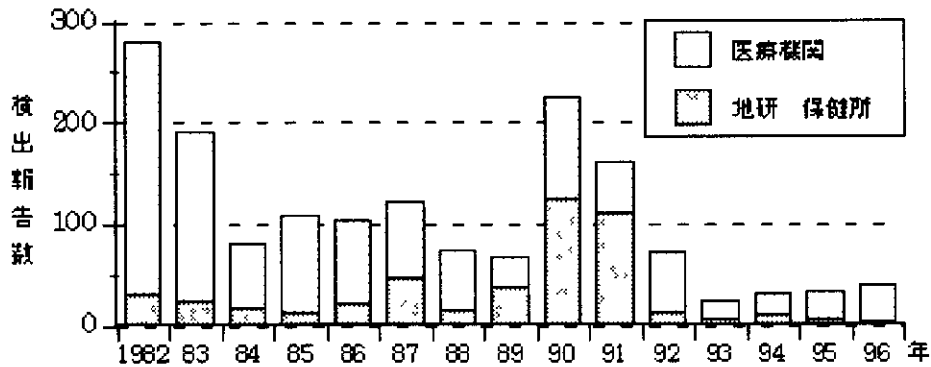
図3 百日咳様疾患患者年齢分布の年別比較, 1982~1996年 (感染症サーベイランス情報)



百日咳菌の年別検出状況

IASR Vol 18, No 5 (1997)

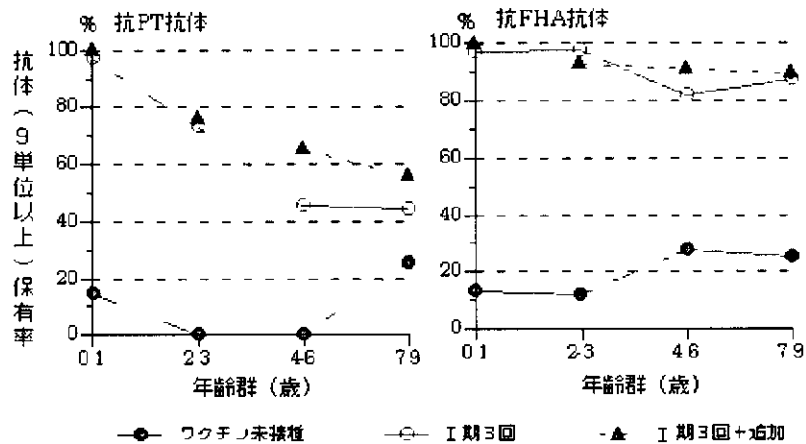
図4 百日咳菌の年別検出状況，1982～1996年（病原微生物検出情報）



百日咳ワクチン接種歴別の年齢別ELISA抗体価保有状況

IASR Vol 18, No 5 (1997)

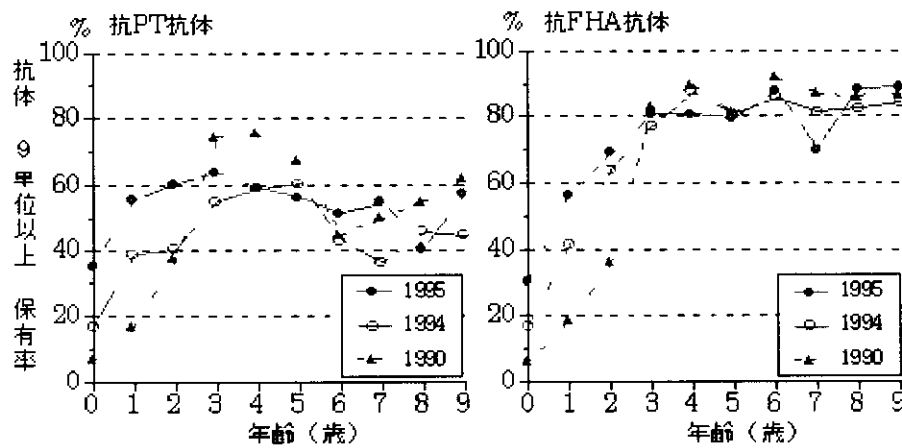
図5 百日咳ワクチン接種歴別の年齢別ELISA抗体保有状況
(伝染病流行予測調査 1995年度)



百日咳ELISA抗体保有状況の年別比較

IASR Vol 18, No 5 (1997)

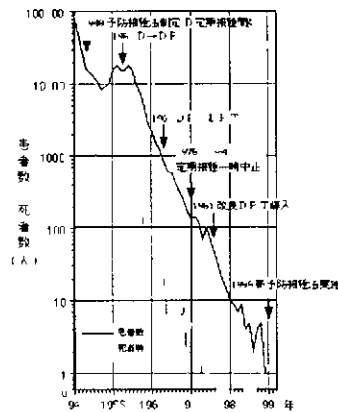
図6 百日咳ELISA抗体保有状況の年別比較 (伝染病流行予測調査)



ジフテリア届出患者数および死亡者数の推移

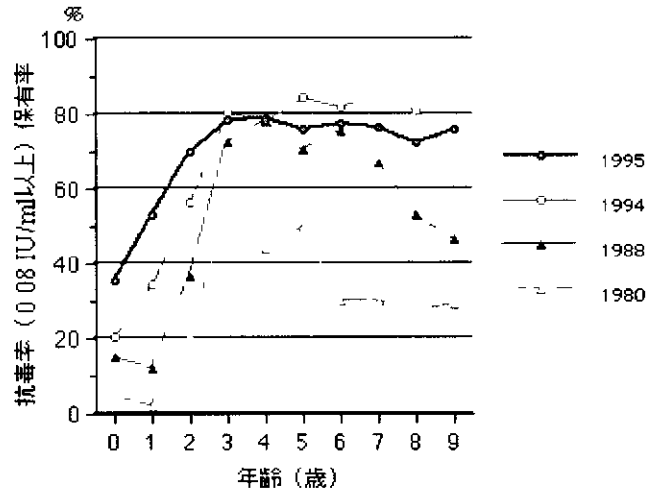
IASR Vol.19, No 10 (1998)

図1 デンマークのジフテリア届出患者数および死亡者数の推移 94～97年
厚生省伝染病統計、人口動態統計



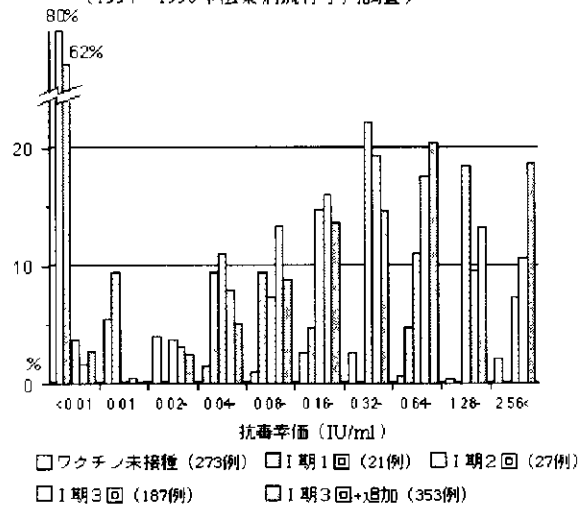
年齢別ジフテリア抗毒素保有状況 IASR Vol.19, No.10 (1998)

図2 シフテリア抗毒素保有状況の年別比較
(伝染病流行予測調査)



DPTワクチン接種歴とジフテリア抗毒素レベル IASR Vol 19, No 10 (1998)

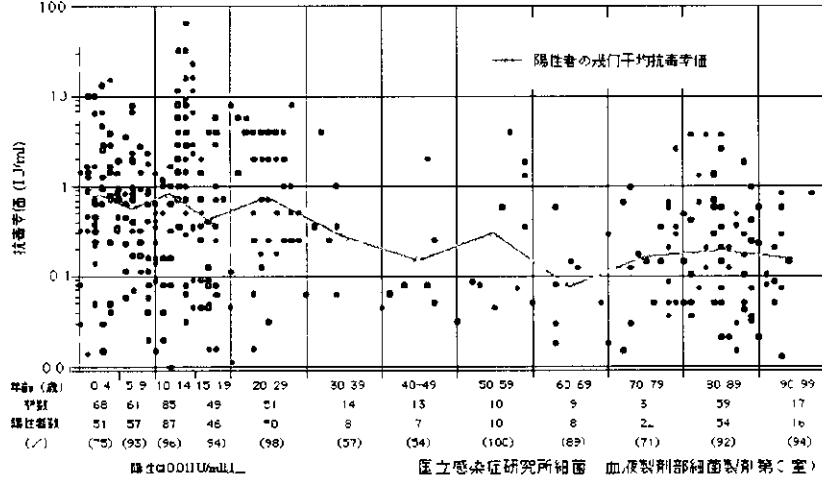
図3 DPTワクチン接種歴別のジフテリア抗毒素レベル
(1994~1995年伝染病流行予測調査)



年齢別ジフテリア抗毒素価レベル

IASR Vol 19, No 10 (1998)

図4 年齢別ジフテリア抗毒素価レベル, 1994~1995年



異型肺炎患者報告数の推移

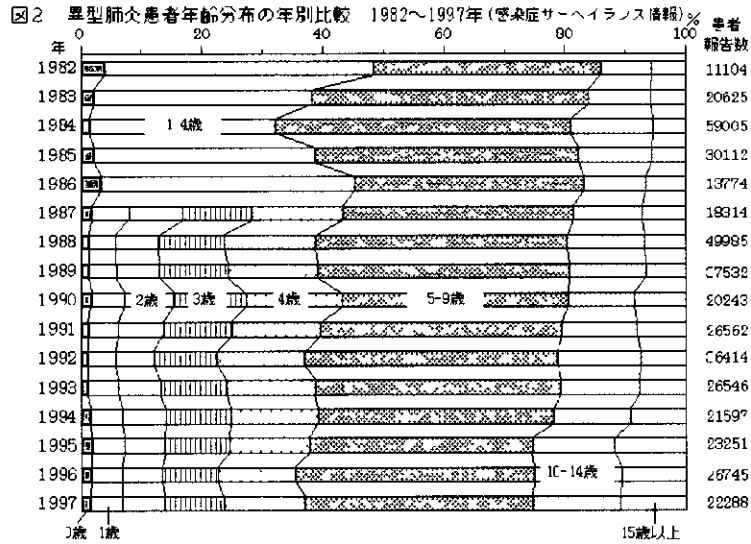
IASR Vol 19, No 2 (1998)

図1 異型肺炎患者報告数の推移 (感染症サーベイランス情報)



異型肺炎患者年齢分布

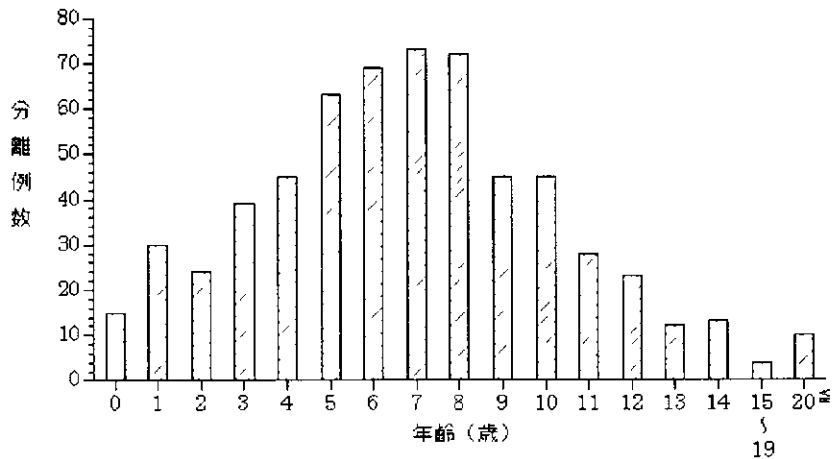
IASR Vol 19, No 2 (1998)



M. Pneumoniae分離年齢分布

IASR Vol 19, No 2 (1998)

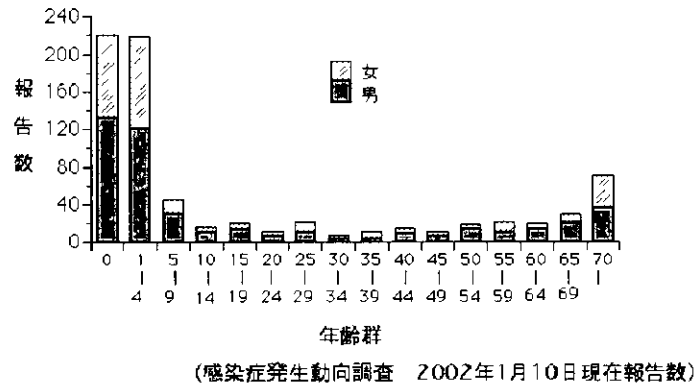
図4 *Mycoplasma pneumoniae*分離例の年齢分布, 1982～1997年



細菌性髄膜炎患者の年齢

IASR Vol 2, No 5 (2002)

図1 細菌性髄膜炎患者の年齢, 1999年4月～2001年12月



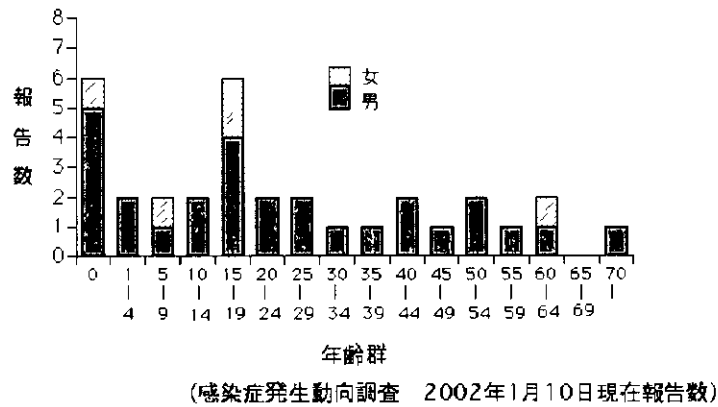
IASR

日本感染症学会

髄膜炎菌性髄膜炎患者の年齢

IASR Vol 2, No 5 (2002)

図2 髄膜炎菌性髄膜炎患者の年齢, 1999年4月～2001年12月



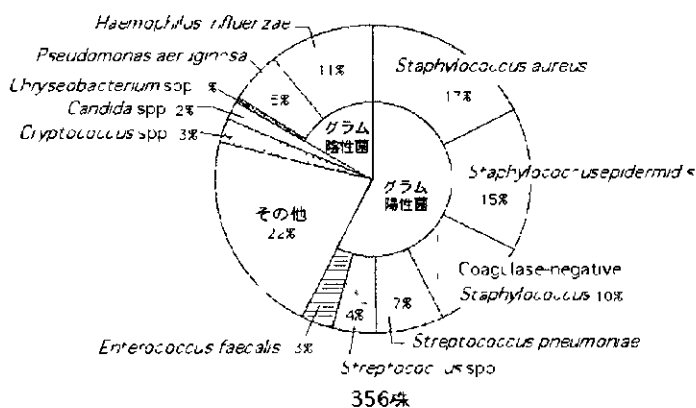
IASR

日本感染症学会

髄液から分離された主要菌種

IASR Vol 2, No 5 (2002)

図3 髄液から分離された主要菌種 2000年10~12月



356株 (院内感染対策サーベイランス 2002年1月末現在暫定数)

IASR

2002年5月号

小児髄膜炎患者から分離された病原菌

IASR Vol 2, No 5 (2002)

表1 小児髄膜炎患者から分離された病原菌 1997年7月~2000年6月

| 病原菌 | 1997年 | 1998年 | 1999年 | 2000年 | 合計 |
|---------------------------------|---------|-------|-------|--------|-----|
| | (7~12月) | | | (1~6月) | |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 81 | 51 | 74 | 49 | 205 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 20 | 28 | 25 | 14 | 87 |
| Group B <i>Streptococcus</i> | 7 | 5 | 8 | 5 | 25 |
| <i>Escherichia coli</i> | 4 | 9 | 8 | 3 | 24 |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | 0 | 1 | 2 | 2 | 5 |
| MRSA/MRSE | 2 | 0 | 0 | 3 | 5 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| その他 | 9 | 11 | 6 | 5 | 31 |
| 不明 | 13 | 11 | 12 | 8 | 44 |
| 例数 | 86 | 117 | 136 | 89 | 428 |

(砂川らの小児化膿性髄膜炎全国調査 感染症学雑誌 75:931-939, 2001)

IASR

Infectious Disease Surveillance & Report