

厚生労働科学研究「新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」
研究課題名「Hib、肺炎球菌、HPV 及びロタウイルスワクチンの各ワクチンの
有効性、安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究」
平成 25 年報告書（3 年計画の 1 年目）
『小児細菌性髄膜炎及び全身性感染症調査』に関する研究
福岡県

研究協力者：岡田賢司 福岡歯科大学総合医学講座小児科学分野

研究要旨

福岡県内の 15 歳未満の小児細菌性髄膜炎及び全身性感染症症例の全数把握を平成 25 年 1 月～12 月の 1 年間で行った。細菌性髄膜炎の 5 歳未満人口 10 万人当たりの罹患率は、インフルエンザ菌性 0.4（昨年 1.3）、肺炎球菌性 0.4（昨年 0）、GBS による髄膜炎 0（昨年 3.5）と推定された。

研究協力者

青木知信（福岡市立こども病院・感染症センター）原田達生（福岡赤十字病院）佐藤和夫（国立病院機構九州医療センター）中山秀樹（国立病院機構福岡東医療センター）村松和彦（福岡徳洲会病院）西尾壽乗（九州大学病院）田中美紀（福岡大学病院）北野陽子（福岡大学筑紫病院）山口英里（千鳥橋病院）市川光太郎（北九州市立八幡病院）神代万壽美（北九州総合病院）日高靖文（北九州市立医療センター）尾上泰弘（国立病院機構小倉病院）高橋保彦（九州厚生年金病院）山本幸代（産業医科大学病院）岩元二郎（麻生飯塚病院）兒玉志保（田川市立病院）村上義比古（大牟田市立総合病院）津村直幹（久留米大学病院）

九州地区・筑豊地区・筑後地区）に分け、各地区の予防接種センター機能を有する施設をまとめ役として集計した。各地区で小児科入院施設のある医療機関ごとにインフルエンザ菌・肺炎球菌・B 群溶連菌（GBS）による髄膜炎、敗血症・菌血症、菌血症に伴う肺炎症例の報告を求めた。

福岡地区：福岡市立こども病院・感染症センター、福岡赤十字病院、国立病院機構九州医療センター、国立病院機構福岡東医療センター、福岡徳洲会病院、九州大学病院、福岡大学病院、福岡大学筑紫病院、千鳥橋病院、福岡通信病院、国立病院機構九州がんセンター、済生会福岡総合病院、浜の町病院、九州中央病院、福岡記念病院、水戸病院、国立病院機構福岡病院、

北九州地区：北九州市立八幡病院、北九州総合病院、北九州市立医療センター、国立病院機構小倉病院、九州厚生年金病院、産業医科大学病院、九州労災病院、筑豊地区：麻生飯塚病院、田川市立病院、田川病院

筑後地区：大牟田市立総合病院、久留米大学病院、久留米大学医療センター、聖マリア病院、公立八女総合病院、筑後市立病院

A. 研究の目的

福岡県内で発生したインフルエンザ菌・肺炎球菌・B 群溶連菌（GBS）による髄膜炎、敗血症・菌血症、菌血症に伴う肺炎症例を全数把握する。報告された症例の年齢、発生月、ワクチン接種の有無、合併症、予後を菌ごとに評価する。

B. 研究方法

対象：福岡県内を 4 医療圏（福岡地区・北

の 34 施設

期間：平成 25 年 1～12 月

方法：症例が入院した場合、既定の報告書に従い FAX にて報告を受け記録後、班長施設に転送した。

(倫理面への配慮)

症例票回収時は児が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

平成 26 年 1 月 1 日時点での福岡県の 5 歳未満の小児人口は 230, 279 人でやや増加した。協力施設は 34 施設で昨年と変化なかった。

化膿性髄膜炎は 2 例（昨年 3 例）が報告された。インフルエンザ菌性 (Hib) は 1 例（昨年 3 例）で月齢は生後 2 か月でワクチン未接種であった。肺炎球菌性は 1 例（昨年 0）は、1 歳 7 か月で 4 回の接種歴があった。血清型は 13 価ワクチンにも含まれていない 24F であった。敗血症・菌血症は 33 例（昨年 39 例）で、肺炎球菌性 32 例（昨年 33 例）、インフルエンザ菌性 1 例（昨年 6 例）であった。

Hib および肺炎球菌による髄膜炎および菌血症・敗血症は昨年と比較して減少した。

各疾患の 5 歳未満人口 10 万人当たりの罹患率を算出した。Hib による髄膜炎 0.4（昨年 0.9）肺炎球菌による髄膜炎 0.4（昨年 0）、GBS による髄膜炎 0（昨年 3.5）であった。

ワクチン接種後の発症例は、Hib ワクチン接種 4 回接種例が 1 例で、年齢は 3 歳、病型は菌血症・肺炎、血清型は Non-typable であった。肺炎球菌ワクチン接種後発症は 29 例（昨年 16 例）報告された。病型は髄膜炎 1 例、非髄膜炎（菌血症や肺炎）28 例であった。分離菌の血清型が判明している 16 例中、7 価ワクチンに含まれている血清型は昨年同様なかった。7 価には含まれないが 13 価には含まれている 19A ; 6 例、3 ; 1 例であった。残りの 9 例は 7 価および 13 価

には含まれない血清型で、それぞれ 15A(2 例), 15B, 15C(2 例), 24F(2 例), 33F(2 例) であった。

D. 考察

Hib ワクチンおよび肺炎球菌ワクチンの公費助成が始まる前の 2009 年・2010 年のインフルエンザ菌による髄膜炎の平均は 1 年間で 17 例であったが、2012 年は 3 例、定期接種が開始された 2013 年は 1 例で 94.1% 減少した。肺炎球菌性の髄膜炎も公費助成前の平均は 7 例/年であったが、2012 年 0, 2013 年は 1 例であった。

Hib ワクチンおよび小児用肺炎球菌ワクチンの有用性が認められたと考えられる。

ワクチン接種後の症例も報告された。Hib ワクチン接種 4 回接種後に菌血症・肺炎を発症し、分離菌の血清型は Non-typable であった。肺炎球菌ワクチン接種後発症は 29 例と昨年より増加した。PCV7 でカバーできる血清型の肺炎球菌は分離されず、19A を代表とする PCV13 でカバーできる血清型の菌は、7/16(43.8%)であった。

2013 年 11 月から PCV13 へワクチンが変更された。分離菌の血清型調査を継続していくことが、今後の対策を考えるうえで重要である。

E. 結論

福岡県の平成 25 年細菌性髄膜炎の罹患率（5 歳未満人口 10 万人あたり）は、Hib 0.4、肺炎球菌 0.4、GBS0 と推計された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 岡田賢司:ワクチンの安全性—副反応を考える。日本医事新報 No4640 : 52-55, 2013
2. 岡田賢司:ワクチン副反応への対応—副反応の種類、アナフィラキシーへの対応、

- 健康被害救済制度. 日本医師会雑誌
142 : 1736-1739, 2013
3. 岡田賢司 : 13 価肺炎球菌ワクチンの効果. 日本医事新報 No. 4671 : 74-75, 2013
 4. 加藤達夫、岡田賢司 : 予防接種ガイドライン 2013 (監修)
 5. 岡田賢司 : ワクチンの副反応. 医師・薬剤師のための医薬品副作用ハンドブック 222-227 日本臨床社 2013
 6. 岡田賢司 : アナフィラキシーの分類. 予防接種 Q&A 改訂第 3 版 小児内科増刊号 57-59 東京医学社 2013
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

鹿児島県における小児細菌性髄膜炎と菌血症の全数調査

研究協力者 西 順一郎

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 微生物学分野

研究要旨

鹿児島県におけるHibワクチンと小児用肺炎球菌ワクチン(PCV7/13)の有効性を検証するために、小児細菌性髄膜炎・菌血症の前方視的全数調査を継続して行った。2013年の髄膜炎患者数は8例(原因菌:肺炎球菌3例、大腸菌3例、GBS1例、その他1例)であった。Hib髄膜炎はみられず、菌血症も含めて侵襲性インフルエンザ菌感染症はゼロであった。一方、侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)は、2012年の5例から2013年は12名と増加がみられた。血清型が判明したIPD由来株の64%(7/11)がPCV13に含まれる19Aであり、PCV7に含まれる型はみられなかった。PCV13の普及とPCV7接種終了者への補助的追加接種が必要である。

A. 研究目的

Hibワクチンと小児用抱合型肺炎球菌ワクチン(PCV7)が2013年4月から定期接種となり普及が進んでいる。また、侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)の原因となる肺炎球菌の莢膜血清型の変化を受けて、11月からはPCV13がPCV7に替わって導入された。これらのワクチンの効果を評価するために、2001年から開始している鹿児島県における小児細菌性髄膜炎と菌血症の全数調査を継続して実施した(2007年からは前方視的調査)。

B. 研究方法

県内のほとんどの小児科医が加入している県小児科医メーリングリスト等を利用して、患者診断時に全例報告してもらう体制をとり、前方視的に小児(15歳未満)の細菌性髄膜炎と菌血症の患者数を把握した。特に小児の入院施設のある県内の18病院については、定期的に患者の有無を確認した。検出菌の莢膜血清型は、国立感染症研究所に菌株を送付して決定した。

C. 研究結果

図1に2006年からの細菌性髄膜炎患者数の推移を示す。ワクチン導入から減少がみられたが、2013年は肺炎球菌による髄膜炎3例、大腸菌3例、GBS1例、その他1例、計8例の患者がみられた。大腸菌やGBS例の増加は、これまでサーベイランスが十分ではなかった新生児領域からの報告が増えたためと考えられる。肺炎球菌による髄膜炎は2012年に2例であったが、2013年は3例と増加し、そのうち死亡例も1例みられたことは特記すべきことであった。

図2にHib髄膜炎(5歳未満)患者数の推移を示す。2009年まで10例前後みられていたのが、2010年6例、2011年4例、2012年1例と減少傾向がみられ、2013年にはゼロとなった。

図3に小児IPD患者数の年次推移を示す。PCV7導入以来2012年にかけて患者数は順調に減少してきたが、2013年には再度12名と増加した。

表1に、2013年のIPD患者12例の詳細を示

す。PCV7 による明らかな vaccine failure はみられず、血清型不明の 1 例を除き、すべて PCV7 に含まれない血清型によるものであった。

図 4 に小児 IPD 原因菌の血清型別の年次推移を、①PCV7 に含まれる型(交差反応のある6Aを含む)、②PCV13 で追加された型(交差反応のある6Cを含む)、③それ以外の型の 3 群にわけて示す。PCV7 導入後から、PCV7 に含まれない型がみられていたが、2013 年になって急増したことがわかる。また、PCV13 に追加された型(6Cを含む)の 85%(11/13)は 19A であった。

図5にこれまでの鹿児島県の 5 歳未満 IPD 患者の年齢分布を示す。PCV7 接種終了者の年齢にあたる 1 歳 6 か月から 4 歳の子どもが 35%を占めていた。

D. 考察

侵襲性 Hib 感染症は当県ではついに 2013 年にゼロとなり、Hib ワクチンの優れた効果が示された。この状態を継続するには、今後も Hib ワクチンの高い接種率を維持する必要がある。また昨年みられた non-typable インフルエンザ菌による侵襲性感染症についても今後も注意深いサーベイランスが重要と考える。

PCV7 の普及に伴い PCV7 に含まれる血清型の IPD は激減した。しかし、2013 年は当県では 2012 年の倍増となる IPD 患者がみられた。この間の報告医療機関の血液培養件数には変化がないため、IPD 患者は実際に増加していると推測される。この背景としては、全国的に進んでいる肺炎球菌の莢膜血清型の変化(replacement)があるが、本県でも予想を超えて進んでいることが明らかになった。特に 19A の増加は著しく、2013 年に当県で血清型が判明した IPD 由来株の 64%(7/11)が 19A であり、庵原班の他県の平均 44%に比べて高かった。

今後 PCV13 の導入により 19A による IPD は減

少が期待されるが、1 歳 6 か月以降の PCV7 接種終了者のリスクは依然として大きい。PCV7 接種終了者にも PCV13 の補助的追加接種が必要であることの周知や、市町村での接種費用の補助が望まれる。また PCV7 を規定通り済ませていない児も多いと思われるため、その場合は PCV13 を定期として 1 回接種することが重要である。

E. 結論

Hib ワクチンの普及により、侵襲性 Hib 感染症は激減した。一方 IPD は肺炎球菌の血清型変化特に 19A の増加により、2013 年は倍増した。PCV13 の接種率向上と、PCV7 接種終了者への補助的追加接種が必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishi J, Tokuda K, Imuta N, Minami T, Kawano Y. Prospective safety monitoring of Haemophilus influenzae type b and heptavalent pneumococcal conjugate vaccines in Kagoshima, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(3):235-237
- 2) Oishi T, Ishiwada N, Matsubara K, Nishi J, Chang B, Tamura K, Akeda Y, Ihara T, Nahm MH, Oishi K; the Japanese IPD Study Group. Opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease. *Vaccine.* 2013;31(5):845-849
- 3) 西 順一郎. 予防接種法改正—予防接種とワクチンの現状を知る— Hib (ヘモフィルス・インフルエンザ菌 b 型) 小児科 2013;54(12)(11 月増大号):1709-1714
- 4) 西 順一郎. 侵襲性 non-typable

Haemophilus influenzae 感染症. 国立感染症研究所感染症疫学センター 病原微生物検出情報. 2013;34(7):188-189

性と今後の課題 第27回日本小児救急医学会学会学術集会ランチョンセミナー 沖縄 2013.6.15

5) 西 順一郎. 侵襲性肺炎球菌感染症とワクチンによる予防. Modern Media 2013;59(11):273-283

H. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

2. 学会発表

J. 利益相反の開示

1) 西 順一郎. ヒブ・肺炎球菌ワクチンの有効

著者はファイザー株式会社より講演料を受けている。

図1 小児細菌性髄膜炎患者数の原因菌別年次推移

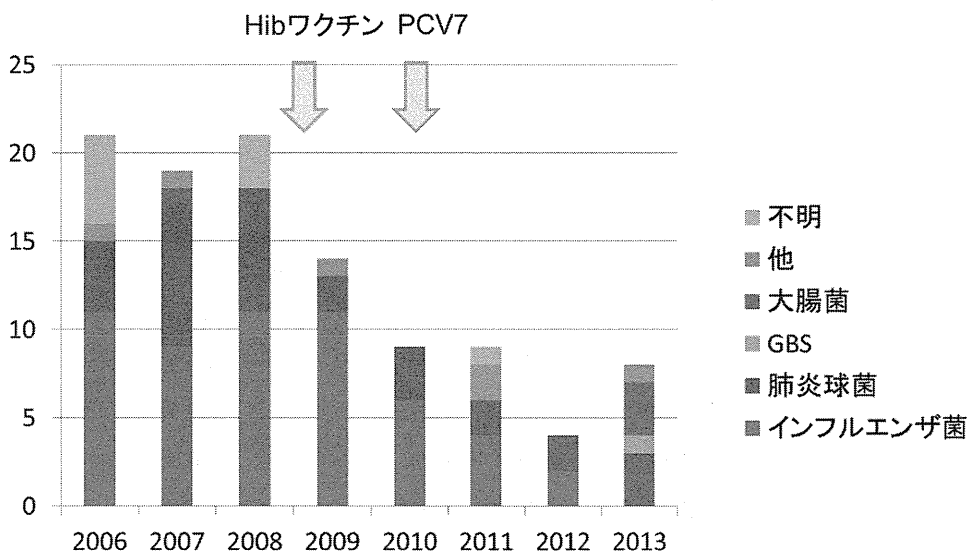


図2 鹿児島県の Hib 髄膜炎 (5歳未満) の減少

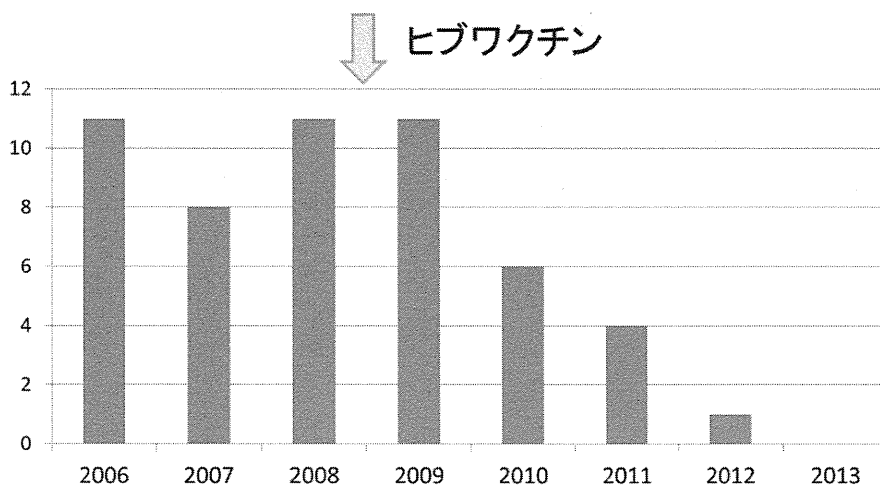


図3 小児菌血症患者数の年次推移

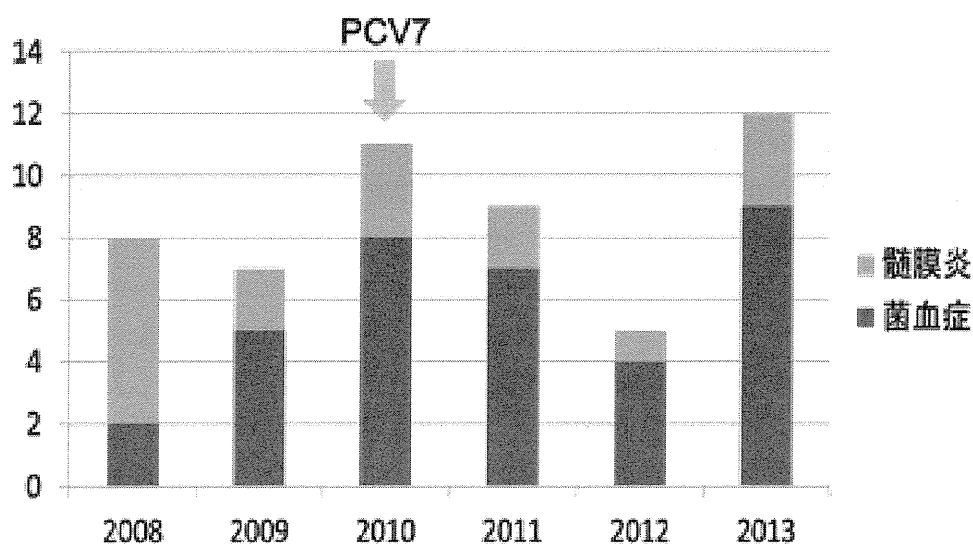


表1 2013年の小児侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)患者

No.	病院	月	年齢	性	疾患型	感受性	転帰	HibV	PCV7	居住地	
1	鹿児島生協	3	6m	F	髄膜炎	24F	PSSP	軽快	0	0	鹿児島市
2	南九州	4	11m	M	髄膜炎	19A	PISP	軽快	0	0	始良市
3	徳之島徳洲会	4	10m	F	菌血症	NT	NT	合併症	2	2	大島郡
4	鹿児島子ども	4	3m	M	菌血症	19A	PSSP	軽快	0	0	日置市
5	鹿児島生協	5	1y1m	M	菌血症	19A	PSSP	軽快	4	4	鹿児島市
6	鹿児島生協	5	3y2m	M	菌血症	15A	PISP	軽快	1	1	鹿児島市
7	今給黎総合	8	1y9m	M	菌血症	19A	PISP	軽快	4	4	鹿児島市
8	鹿児島生協	10	8m	M	菌血症	19A	PISP	軽快	3	3	鹿児島市
9	今給黎総合	11	1y1m	F	菌血症	19A	PSSP	軽快	3	3	鹿児島市
10	鹿児島子ども	11	2y6m	F	菌血症	24F	PSSP	軽快	4	3	日置市
11	済生会川内	11	6m	M	髄膜炎	11A/E	PSSP	死亡	3	3	薩摩川内市
12	鹿児島子ども	12	3y2m	M	菌血症	19A	PSSP	軽快	3	4	薩摩川内市

図4 小児 IPD 由来肺炎球菌の血清型別の年次推移

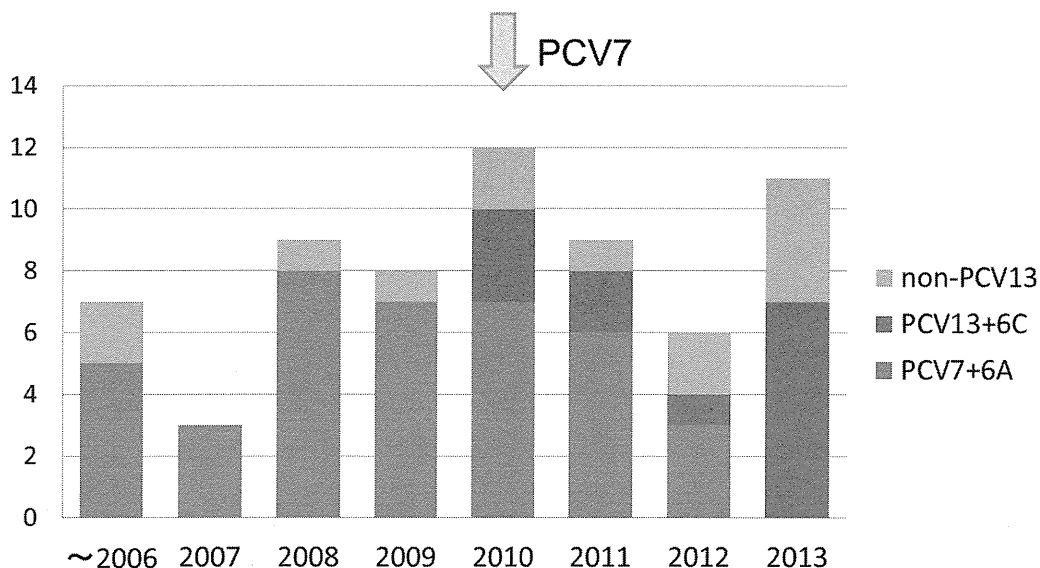
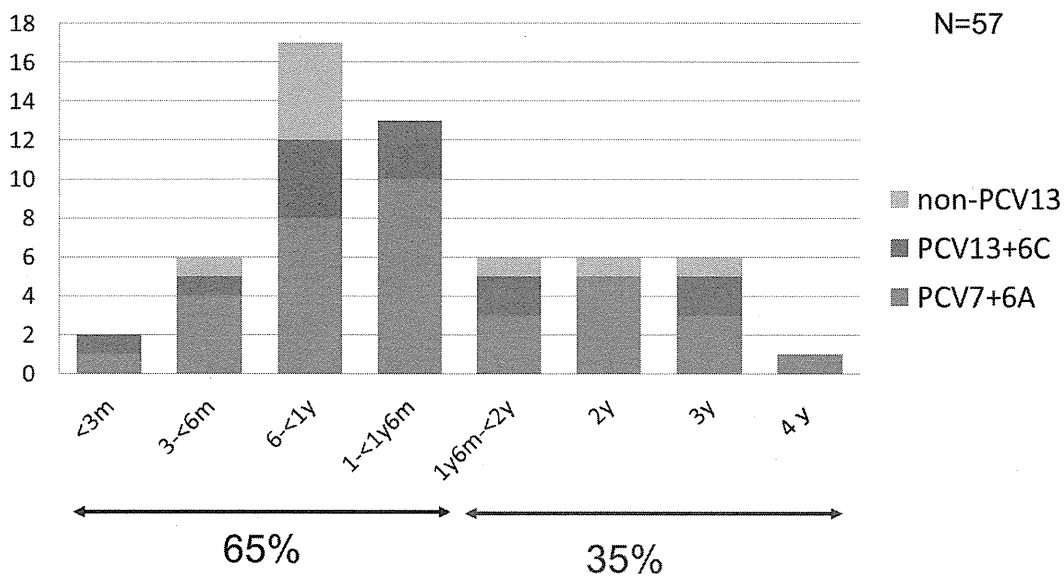


図5 鹿児島県の5歳未満 IPD 患者の年齢分布 (2007年～2014年2月)



平成 25 年度厚生科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

H i b、肺炎球菌、HPV 及びロタウイルスワクチンの各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究

沖縄県における小児の侵襲性細菌感染症の発生動向に関する研究

研究協力者 安慶田英樹 沖縄県立南部医療センター・こども医療センター

研究要旨

2008 年から侵襲性細菌感染症の前方視的全数把握調査を継続している。2011 年に Hib ワクチンと PCV7 の公費助成制度が開始され、2013 年 4 月に定期接種化された。2013 年は侵襲性感染症の症例数、罹患率に両ワクチンの効果が表れ、両ワクチンの有用性が示された。すなわち、インフルエンザ菌による症例は報告されず、侵襲性肺炎球菌感染症は全体として、公費助成前より 70.5%減少した。一方、血清型の調査では、肺炎球菌に serotype replacement が認められた。7 価血清型の消失、19A 型と非 13 価血清型の増加が見られた。2013 年 11 月から PCV13 の接種に切り替わった。今後、PCV13 の効果、serotype replacement の推移等を監視するため、調査研究を継続する必要がある。

A 研究目的

インフルエンザ菌 b 型 (Hib) ワクチンおよび 7 価肺炎球菌ワクチン (PCV7) の導入前後の、沖縄県における小児の細菌性髄膜炎および全身性細菌感染症の発生動向を明らかにすることにある。あわせて両ワクチンの有用性、安全性を検討する。(なお、小児用肺炎球菌ワクチンの定期接種は平成 25 年 11 月 1 日に、全国一斉に 7 価から 13 価ワクチンに切り替えられた。)

B 研究方法

対象疾患は市中感染による細菌性髄膜炎および全身性感染症であり、対

象細菌はインフルエンザ菌、肺炎球菌、B 群溶連菌 (GBS) である。小児科の急性期入院病床を有する県内の全 15 病院に呼びかけ、2008 年以降、前方視的全数把握調査を継続している。対象年齢は生後 0 日から 15 歳未満である。研究内容は各病院より症例の調査票の提出を受けて臨床情報を集計すること、検出された細菌を国立感染症研究所に送付し、血清型、Multi Locus Sequence Typing MLST、抗菌薬感受性等を検査することである。

(倫理面の配慮) 本研究は国立病院機構三重病院の倫理委員会の承認を得て行われた。

C 研究結果

表 1 に 5 歳未満の侵襲性細菌感染症の症例数を示す。特筆すべきはインフルエンザ菌による症例の報告が 2013 年には認められなかったことである。また、肺炎球菌性髄膜炎も 1 症例に減少していた。GBS 髄膜炎は 1 例であったが、GBS 菌血症が 8 例に増加していた。表 2 に侵襲性肺炎球菌感染症 IPD の臨床像別の実数を示す。2011 年までは年間合計約 70 例から 80 例報告されていたが 2013 年には計 23 例まで減少している。髄膜炎、菌血症、肺炎 + 菌血症の症例の報告数が各々減少している。表 3 に 5 歳未満人口 10 万人あたりの罹患率を、表 4 に罹患率の変化を示す。表 4 は Hib ワクチンと PCV7 の公費助成が開始される以前の 2008 年から 2010 年までの罹患率の平均と、開始された以降の 2011 年、2012 年、2013 年の罹患率をそれぞれ比較した。表 4 に示されるように、インフルエンザ菌の侵襲性感染症は 2012 年から減少傾向が顕著になり、2013 年には髄膜炎、非髄膜炎ともに症例の発生を認めず、劇的に 100%減少している。侵襲性肺炎球菌感染症 IPD については、2012 年に非髄膜炎に減少傾向が表れ、2013 年には髄膜炎、非髄膜炎ともに減少し、IPD 全体で 70.5%減少している。GBS は症例数が少なく年次別の変動が見られる。2013 年は GBS 非髄膜炎（菌血症）が増加しており、注目される。

2013 年、肺炎球菌の血清型別検査を 22 株に対し行った。7 価血清型は

分離されなかった。13 価血清型では 19A が 12 株と最も多く、6A が 1 株であった。その他、非 13 価血清型である 15C が 3 株、15A 2 株、24F 2 株、6C 1 株、10A 1 株が検出された。表 5 に IPD 由来の肺炎球菌の年毎のワクチンカバー率を示す。2013 年については、7 価ワクチンカバー率は 0%であり、13 価ワクチンのカバー率は 59%であった。19A の比率が全体の 54.5%を占め、年々、比率・株数ともに増加していることが注目される。非 13 価型も 41%に増加している。7 価ワクチンの普及に伴い、7 価血清型が減少し、非 7 価血清型が増加する現象は serotype replacement と呼ばれている。この間の血清型の変化はまさに serotype replacement に相当する。

12 株の 19A に対して遺伝子型 ST の検査を感染研において行った。その結果、9 株は ST320 型、3 株は ST3111 型であった。ST320 型は PCG の MIC が 2~4 μ g/ml と高いことが特徴であり、2 μ g/ml が 6 株、4 μ g/ml が 3 株であった。ST3111 の MIC は 0.06 μ g/ml が 2 株、0.12 μ g/ml が 1 株であった。表 6 に 2013 年の 7 価ワクチン接種後の IPD 罹患例を示す。21 例報告されたが、全て非 7 価血清型、すなわち、non-vaccine type infection によるものであり、vaccine failure や breakthrough infection に相当する例は認められなかった。

D 考察

本年度の特徴は、インフルエンザ菌

と肺炎球菌ともに侵襲性感染症の症例数・罹患率が明らかに減少していることである。インフルエンザ菌は、髄膜炎・非髄膜炎ともに症例を認めなかった。2011年に公費助成制度によるHibワクチン接種が開始され、3年目にして画期的な成果が得られた。肺炎球菌についても2013年は髄膜炎が78.9%、非髄膜炎が70%とそれぞれ減少し、IPD全体として70.5%減少している。PCV7の公費助成開始後3年目の成績であり、ワクチンの効果として順当な成果と評価することが可能である。因みにワクチンの出荷数を5歳未満人口で除することで普及率が求められる。沖縄県の普及率は公費助成開始以降、全国上位と報告を受けており、Hib、PCV7の両ワクチンの接種率は高いと評価されている。高い普及率により、両ワクチンの効果が発現したものと考えられる。

次いで、血清型について考察を行う。インフルエンザ菌については、昨年度、沖縄県からnon-typeableが2例、初めて検出された。全国ではnon-typeable以外にa型、f型が報告された。今後、インフルエンザ菌による症例の発生があれば血清型別を確実にを行い、動向を監視していく必要がある。

肺炎球菌の血清型については、serotype replacementの一層の進行が注目される。2013年はIPD症例から7価血清型が全く分離されなかった。一方、19A型54.5%と非13価血清型41%と両者の比率の増加が認め

られる。19Aと6Cは13価ワクチンに含まれている。6Aは6Cと抗原性の交叉があり、PCV13の効果が期待できる。2013年11月からPCV13に切り替えられており、2014年以降、PCV13の効果が表れることを期待している。他方、15A、15Cなどの非13価血清型の今後の動向を、継続的に監視していく必要がある。

19A型について考察を加える。19A型は米国においてPCV7の普及後に増加したserotype replacementの代表的な血清型である。沖縄県は19Aの検出数が多く、中でも遺伝子型ST320が多いと報告されている。ST320はMICが2~4 μ g/mlと高いことも注目される。「ST320は何故沖縄に多いのか?」、「その由来は? 他国・地域から持ち込まれたのか?」、「米国由来か、中国・韓国由来か?」等いくつかの疑問があるが、現時点では不明である。今後の解明を期待している。

E 結論

2013年は、HibワクチンとPCV7の公費助成開始後3年目となる。さらに4月から定期接種化された。患者実数、罹患率にワクチンの効果が表れている。インフルエンザ菌は髄膜炎・非髄膜炎ともに患者の報告が見られなかった。IPDも減少し、IPD全体では公費助成前の平均より罹患率が70.5%減少している。血清型別では、IPD症例より7価血清型が分離されず、19A型と非13価血清型が増加してお

り、serotype replacement の進行が認められた。11 月から PCV13 に切り替えられており、今後の動向を引き続き監視する必要がある。

G 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表：沖縄小児科学会第 76 回例会 2013 年 3 月 10 日 肺炎球菌ワクチンおよびインフルエンザ菌 b 型ワクチン接種後に侵襲性感染症を発症した症例の検討
安慶田英樹、玉那覇榮一

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1 侵襲性細菌感染症の年間患者数
5歳未満 沖縄県

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
インフルエンザ菌 髄膜炎	4	4	6	3	0	0
インフルエンザ菌 非髄膜炎	10	16	9	13	4	0
肺炎球菌 髄膜炎	4	6	4	4	4	1
肺炎球菌 非髄膜炎	77	62	76	65	25	22
GBS 髄膜炎	1	2	2	3	2	1
GBS 非髄膜炎	0	3	3	1	0	8

表2 侵襲性肺炎球菌感染症
5歳未満 沖縄県

疾患名	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
髄膜炎	4	6	4	4	4	1
菌血症	42	35	37	29	10	11
菌血症+肺炎	28	21	34	24	10	7
菌血症+中耳炎	3	4	3	9	4	2
菌血症+蜂巣炎	4	1	0	0	0	0
菌血症+肺炎+中耳炎	0	1	2	3	1	2
計	81	68	80	69	29	23

表3 侵襲性細菌感染症罹患率 沖縄県
5歳未満人口10万人あたり ()は1道9県

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
インフルエンザ菌 髄膜炎	4.9 (8.3)	4.9 (7.1)	7.4 (7.8)	3.6 (3.3)	0 (0.6)	0 (0.2)
インフルエンザ菌 非髄膜炎	12.3 (3.8)	19.5 (5.2)	11.1 (6.3)	15.7 (3.0)	4.8 (0.9)	0 (0.2)
肺炎球菌 髄膜炎	4.9 (3.3)	7.3 (2.8)	4.9 (2.3)	4.8 (2.1)	4.8 (0.8)	1.2 (1.1)
肺炎球菌 非髄膜炎	95.1 (21.4)	75.6 (21.3)	93.8 (23.8)	78.3 (18.1)	30.1 (10.6)	26.5 (8.1)
GBS 髄膜炎	1.2 (1.2)	2.4 (1.3)	2.5 (1.3)	3.6 (1.3)	2.4 (1.5)	1.2 (0.9)
GBS 非髄膜炎	0 (1.1)	3.7 (1.4)	3.7 (1.0)	1.2 (1.1)	0 (1.2)	9.6 (1.9)

表4 侵襲性感染症 罹患率の変化 沖縄県
2008~2010年の平均 vs 2011年、2012年、2013年

	2008-2010	2011	減少率 (%)	2012	減少率 (%)	2013	減少率 (%)
Hi 髄膜炎	5.7	3.6	36.8	0	100	0	100
Hi非髄膜炎	14.3	15.7	-9.8	4.8	66.4	0	100
SP髄膜炎	5.7	4.8	15.8	4.8	15.8	1.2	78.9
SP非髄膜炎	88.2	78.3	11.2	30.1	65.9	26.5	70
IPD	93.9	83.1	11.5	34.9	62.8	27.7	70.5
GBS髄膜炎	2.0	3.6	-80	2.4	-20	1.2	40
GBS非髄膜炎	2.5	1.2	52	0	100	9.6	-284

表5 IPD由来の肺炎球菌のワクチンカバー率
沖縄県

ワクチンカバー率	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
7価ワクチンカバー率	64.6% 42/65	77.4% 24/31	77.7% 56/72	74.0% 40/54	27.6% 8/29	0% 0/22
13価ワクチンカバー率	81.5% 53/65	93.5% 29/31	93.1% 67/72	94.4% 51/54	69% 20/29	59% 13/22
19A型比率	7.7% 5/65	9.7% 3/31	11.1% 8/72	14.8% 8/54	41.4% 12/29	54.5% 12/22

表6. ワクチン接種後罹患例(肺炎球菌感染症)

症例	診断名	年齢	性別	接種回数	接種後から発症まで	基礎疾患	予後	分離菌血清型	薬剤感受性 PCG
1	髄膜炎	4月	男	1	1月	なし	治癒	24F	<0.015
2	菌血症	29月	男	2	17月	なし	治癒	19A	4
3	菌血症	15月	男	2	7月	なし	治癒	19A	2
4	菌血症+中耳炎	9月	女	3	3月	なし	治癒	19A	4
5	菌血症+肺炎	13月	女	3	7月	なし	治癒	19A	0.06
6	菌血症+肺炎	19月	女	3	不明	なし	治癒	15C	0.06
7	菌血症	9月	男	3	2月	なし	治癒	15A	0.25
8	菌血症+肺炎	15月	女	3	11月	21トリソミー	治癒	6C	0.12
9	菌血症+中耳炎	14月	女	3	8月	なし	治癒	19A	4
10	菌血症	12月	男	3	7月	横隔膜弛緩	治癒	15C	0.03
11	菌血症+肺炎	14月	男	3	10月	なし	治癒	19A	2
12	菌血症	11月	男	3	1月	なし	治癒	15A	1
13	菌血症+肺炎	15月	男	4	2月	なし	治癒	24F	<0.015
14	菌血症	18月	男	3	8月	なし	治癒	19A	0.06
15	菌血症	20月	男	4	5月	なし	治癒	19A	2
16	菌血症+肺炎	23月	女	4	不明	なし	治癒	10A	0.03
17	菌血症+肺炎	13月	男	1	不明	なし	治癒	19A	2
18	菌血症+肺炎	29月	女	3	16月	なし	治癒	19A	0.12
19	菌血症	17月	女	3	10月	なし	治癒	15C	0.06
20	菌血症	22月	男	不明	9月	水頭症	不明	19A	2
21	菌血症	23	男	4	不明	なし	不明	19A	2

2013年小児侵襲性肺炎球菌感染症由来肺炎球菌の解析

研究分担者 柴山恵吾 国立感染症研究所 細菌第二部 部長

研究要旨

2013 年度に 9 県において発症した小児侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）96 例（うち髄膜炎 10 症例）から菌株を収集し、うち実験室で発育した 94 株について血清型と薬剤耐性を解析した。その結果、PCV7 タイプに含まれる血清型による IPD は 4 例（4.3%）だった。94 株のうち、49 株（52.1%）は PCV13 に含まれる血清型であったため、PCV13 の予防接種の導入により今後さらなる予防効果が期待される。なおこの中で 19A 型肺炎球菌の分離率は 41 株（43.6%）で、最も多かった。2013 年に Breakthrough infection および Vaccine failure 症例はみられなかった。薬剤感受性試験の結果では、PCV7 の接種歴の有無による薬剤感受性に明らかな変化はみられなかった。一方、2013 年に分離された肺炎球菌のうち、メロペネム非感受性菌の分離率は 18.1% で、2011 年以前の分離率より高かった。今後、PCV13 の普及により Serotype replacement および薬剤非感受性株の割合が変化していく可能性があるため、引き続き監視が必要である。

研究協力者

常 彬 国立感染症研究所 細菌第一部

A. 研究目的

2013 年 4 月 1 日から侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）は 5 類感染症に追加され、全数把握疾患に指定された。また、同時期から PCV7 は定期接種の対象となり、11 月 1 日からは PCV13 に変更され、接種率は高いと考えられる。

しかし、ワクチンの効果は血清型特異的であり、ワクチンに含まれない血清型の肺炎球菌が引き起す感染症についてはそもそも予防効果は期待出来ないと考えられる。ワクチンの導入効果を適切に評価するためには、IPD 症例のワクチン接種歴の有無を調べるとともに、肺炎球菌の血清型を調べる必要があ

る。本分担研究は、2013 年に 9 県において 15 歳未満小児 IPD から分離された肺炎球菌を収集し、血清型別と薬剤耐性を解析した。PCV7 または PCV13 の接種歴の有無によって、血清型分布に違いがあるかどうかや抗菌薬に対する感受性の違いを明らかにして、ワクチンの効果を評価できる基礎疫学データを得ることを目的とした。

B. 研究対象と方法

2013 年の 1 年間に、9 県から送付された小児 IPD 96 例（うち髄膜炎 10 症例）由来の肺炎球菌を解析した。菌株は血液寒天培地にて 37°C、5% CO₂ 下で一晩培養し、解析を行った。血清型は、Statens Serum Institut 製血清を用い莢膜膨化法により決定した。薬剤感受性試験は微量液体希釈法によって行っ

た。薬剤感受性は 2008 年の GLSI の基準に従って判定した。すなわち、髄膜炎由来肺炎球菌のペニシリン G (PCG) の MIC が ≤ 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.12\text{--}1$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 ≥ 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ をそれぞれ、ペニシリン感受性 (PSSP)、ペニシリン低感受性 (PISP)、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) と判別し、セフォタキシムに対する MIC が ≤ 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 ≥ 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ をそれぞれ、セフォタキシム感受性、低感受性、耐性と判別した。髄膜炎以外 IPD 由来肺炎球菌については PCG の MIC が ≤ 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 ≥ 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ をそれぞれ、PSSP、PISP、PRSP と判別し、セフォタキシムに対する MIC が ≤ 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 ≥ 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ をそれぞれ、セフォタキシム感受性、低感受性、耐性と判別した。本報告書のすべての集計は症例数をもとに行った。

C. 研究結果

1: 小児 IPD の患者情報

2013 年の 1 年間に、9 県の IPD 症例 96 例の肺炎球菌を収集した。96 例のうち、髄膜炎は 10 症例、菌血症は 85 例、骨髄炎は 1 症例であった。その中の 21 症例は、PCV7、PCV13、および 23 価肺炎球菌ポリサッカライドワクチン (PPSV23) のいずれについても接種歴がなかった。96 症例の中で、5 歳未満の IPD は 92 例で、5 歳以上の IPD 症例は 4 例であった。5 歳児は 2 症例、6 歳児は 1 例、10 歳児は 1 例の発症で、これら 4 例中の 3 例には基礎疾患があった。

2: 2013 年の小児 IPD 由来肺炎球菌の血清型分布

96 症例 IPD のうち、2 症例 (1 症例は髄膜炎、1 症例は菌血症) から分離された菌株は実験室で生育しなかったため、94 症例の肺炎球菌について細菌学的解析を行った。血清

型別の結果を図 1 に示す。PCV7 に含まれる血清型による症例は 4 例 (血清型はそれぞれ 6B、19F、4、18C) で、PCV7 のカバー率は 4.3% であった。これらの 4 例はいずれもワクチンの接種歴がなかった。PCV7 のカバー率はワクチン導入される前の 76.6% および 2012 年の 27.6% に比べると、顕著に減少しているため、ワクチンの導入効果によると考えられた (平成 22-24 年度分担研究報告書、平成 24 年度分担研究報告書を参照)。Breakthrough infection または Vaccine failure はみられなかった。19A 型肺炎球菌は 41 例 (43.6%) から分離され、増加がみられた。19A 型肺炎球菌による IPD 症例全てで PCV13 の接種歴がなかった。PCV13 のカバー率は 52.1% で、2012 年 (59.8%) よりわずかな低下がみられた。

一方、PCV13 にも含まれない血清型による IPD は 45 症例 (47.9%; 45/94 症例) あった。24F、15A、15B、10A、33F 型肺炎球菌はそれぞれ 12 (12.8%)、8 (8.5%)、8 (8.5%)、6 (6.4%)、4 (4.3%) 症例から分離された。

髄膜炎症例 10 例中に、PCV7 の接種歴があった 5 例から分離された肺炎球菌の血清型は 24F (2 例)、15C、16F、11A/E で、接種歴のない 4 症例 (1 症例の分離菌は死滅した) 由来肺炎球菌は 19A (2 例)、19F、24F 型であった。

以上の結果から、PCV7 は日本においても小児 IPD 予防に有効であることが示された。19A 型は 2013 年 11 月に導入された PCV13 に含まれているため、今後減少が期待できる。しかし、24F、15A、15B、10A、33F 型は小児に使用できる PCV7、PCV13 および 10 価肺炎球菌結合型ワクチン (GSK 社) にも含まれていない血清型であるため、今後これらの血清型による症例の増加しないかどうか、監視が必要である。

3: 抗菌薬に対する感受性

94株の抗菌薬のMICの値を表1に示す。

髄膜炎由来肺炎球菌9株のうち、ペニシリンGに対するMICが1 µg/mLのPISPが1株、2 µg/mLのPRSPが1株あった。セフトキシムについては、2株においてMICが1 µg/mLで非感受性だった。耐性株はみられなかった。メロペネムについては、2株が低感受性を示した。

髄膜炎以外のIPDから分離された85株肺炎球菌では、PRSPはなかった。ペニシリンGのMICが4 µg/mLのPISPが4株(4.7%; 4/85症例)あった。セフトキシムについては、2症例においてMICが8 µg/mL、1症例で1 µg/mLを示す非感受性であった。メロペネムについては、2株が耐性で、13株は低感受性(MIC = 0.5 µg/mL)だった。

以上をまとめると、94株IPD由来肺炎球菌のうち、メロペネム非感受性菌は17株(18.1%; 17/94)が分離され、2012年と同様に高い分離率であった(メロペネム非感受性肺炎球菌の分離率は2007-2010/1: 2.0%; 2010/2-2011/3: 5.6%; 2011/4-2011/12: 5.0%; 2012: 17.2%; 平成24年度分担研究報告書を参照)。

2013年に分離された肺炎球菌はすべて、セフトキシム、メロペネム、パニペネム、バンコマイシンおよびトシル酸トスフロキサシンに感受性だった。PCV7の接種と分離された肺炎球菌の各抗菌薬に対する感受性との関連性を解析した結果、接種歴の有無による感受性の変化はみられなかった。

D. 考察

本研究は、PCV7導入前から同一地域における小児侵襲性感染症の疫学調査が始まったため、ワクチンの効果をリアルタイム、かつ正確に反映することができると思われる。

2013年、PCV7に含まれる血清型の分離菌は減少し続け、ワクチンの予防効果が証明された。一方、19Aや小児用すべてのワクチンに含まれない血清型肺炎球菌の分離率の増加がみられた。今後、PCV13の導入により、19A型などPCV13に含まれる血清型の肺炎球菌によるIPDの減少が期待されるとともに、ワクチン非含有タイプのSerotype replacementへの懸念があり、継続して調査する予定である。

E. 結論

2013年に小児IPD症例から分離された肺炎球菌では、PCV7に含まれる血清型の割合は2012年の(27.6%)よりさらに低下した。ワクチンの導入効果と考えられる。一方、分離菌のうち47.9%はPCV13にも含まれないことが明らかになった。肺炎球菌には多種の血清型が存在するため、ポリサッカライドをターゲットとするワクチンには限界がある。肺炎球菌の共通抗原をターゲットとする次世代ワクチンの開発が必要である。

F. 健康危機情報

特記すべきもの無し。

G. 研究発表

1: Toru Hifumi, Seitaro Fujishima, Bin Chang, Junichi Sasaki, Nobuaki Kiri, Hiroshi Kato, Junichi Inoue, Yuichi Koido. 2013. Fatal overwhelming postsplenectomy infection caused by *Streptococcus pneumoniae* in mothers within 1 year after delivery: case report. Journal of Infection and Chemotherapy. DOI 10.1007/s10156-013-0613-x.

2: Taketo Otsuka, Bin Chang, Akihito Wada,

and Minoru Okazaki. 2013. Molecular epidemiology and serogroup 6 capsular gene evolution of pneumococcal carriage in a Japanese birth cohort study. *Journal of Medical Microbiology*, 62:1868-1875.

3: Masahiro Ueno, Yoshikazu Ishii, Kazuhiro Tateda, Yoshiko Anahara, Akiko Ebata, Masaei Iida, Fumie Mizuno, Seiko Inamura, Kahori Takahata, Yoko Suzuki, Bin Chang, Akihito Wada, Minoru Sugita, Taichiro Tanaka, and Yuji Nishiwaki. 2014. Changes in *Streptococcus pneumoniae* Serotypes in the Nasopharynx of Japanese

Children after Inoculation with a Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 67:40-43.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

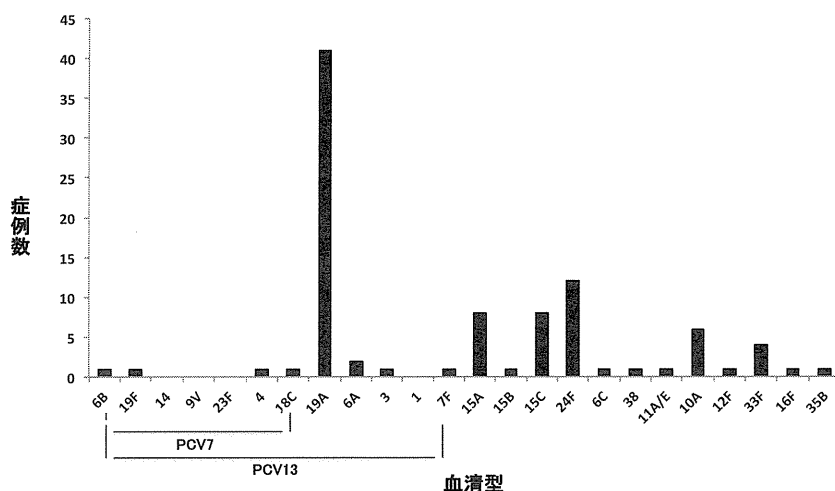


図1: 2013年、9県の小児IPD症例から分離された肺炎球菌の血清型別と症例数(合計94例)

表1: 2013年IPD由来肺炎球菌(n=94)のβ-lactam系抗生物質感受性

髄膜炎由来肺炎球菌 (n=9) の感受性								
PCG			CTX			MEPM		
≤0.06	0.12-1	≥2 μg/mL	≤0.5	1	≥2 μg/mL	≤0.25	0.5	≥1 μg/mL
7	1	1	7	2	0	7	2	0

髄膜炎以外IPD由来肺炎球菌 (n=85) の感受性								
PCG			CTX			MEPM		
≤2	4	≥8 μg/mL	≤1	2	≥4 μg/mL	≤0.25	0.5	≥1 μg/mL
81	4	0	82	1	2	70	13	2

厚生労働科学研究費補助金

(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

Hib、肺炎球菌、HPV及びロタウイルスワクチンの各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与

方法に関する基礎的・臨床的研究

平成 25 年度 分担研究報告書

髄膜炎等の侵襲性細菌感染症症例由来の *Haemophilus influenzae* 臨床分離株の 解析、並びに

細菌性髄膜炎疑い症例由来培養陰性髄液の微生物遺伝子解析

研究分担者 柴山恵吾 国立感染症研究所 細菌第二部 部長

研究要旨

侵襲性インフルエンザ菌感染症症例から分離された *Haemophilus influenzae* 株の莢膜型別解析と薬剤感受性試験を実施した。Hib ワクチン導入効果を評価するため、2007 年以降を 4 つの期間、Hib ワクチン接種開始前（期間 1）、任意接種開始後（期間 2）、任意接種開始後かつワクチン緊急接種事業開始後（期間 3）、定期接種開始後（期間 4）に分けて集計した。分離株中の Hib の割合は、期間 1 では 97.2% (70/72 株)、期間 2 では 97.4% (154/158 株)、期間 3 では 83.0% (68/82 株)、期間 4 では 33.3% (1/3 株) だった。Hib 以外の株は、全て Non-typable *H. influenzae* と判定された。参考情報として、2012-2013 年に全国で少なくとも 3 症例の莢膜 f 型の Hif による侵襲性感染症が報告され菌株が分離されている。海外においては Hia, Hie, Hif による侵襲性感染症症例の増加が報告されている。我が国においても継続した監視が必要であると考えられる。薬剤耐性については、4 期間中、アンピシリンならびにアンピシリン・スルバクタムに対する感性株の割合が、期間 1 で 56.9% であったが、期間 2-4 では、約 50% に低下した。ピペラシリン、メロペネム、セフォタキシム、セフトリアクソンについては 4 期間を通して大きな変化は認めなかった。二つ目の研究テーマである細菌性髄膜炎疑い症例の髄液中の微生物遺伝子解析については、本研究班でこれまでに解析した 34 検体中、7 検体で何らかの細菌遺伝子が検出された。推定された菌種は、*S. pneumoniae* 4 症例、*H. influenzae* 3 症例、*N. meningitidis* 2 症例、*S. agalactiae* 2 症例で、うち 2 症例においては、複数菌種の遺伝子が検出された。平成 25 年度に感染症法に基づく医師の届出の対象感染症が改定され、髄膜炎菌性髄膜炎、侵襲性肺炎球菌感染症ならびに侵襲性インフルエンザ菌感染症がそれぞれ全数把握 5 類感染症とされ、上記 3 種以外の起因菌

による髄膜炎が細菌性髄膜炎として5類基幹定点把握感染症とされた。現在、細菌性髄膜炎として届け出られる感染症でも、細菌培養陰性や起因菌不明の場合が多いため、今後幅広い菌種の検出が可能な方法の確立が必要である。

研究協力者

佐々木裕子、増田まり子、久保田眞由美、見理 剛（国立感染症研究所、細菌第二部）

A. 研究目的

平成25年に、感染症法に基づく医師の届出の対象感染症が改定され、*Haemophilus influenzae*（インフルエンザ菌）による侵襲性インフルエンザ菌感染症が、第5類感染症として全数報告の対象疾患となった。同時期から、*H. influenzae* 莢膜b型(Hib)ワクチンの小児への定期接種が開始された。本研究では、Hibワクチン導入効果の評価を目的として、ワクチン接種開始前の2007年以降、小児の侵襲性感染症症例由来の*H. influenzae* 菌株のPopulation-based サーベイランスを実施してきている。分離された*H. influenzae* 菌株中のHib検出率の推移をHibワクチン接種開始前、任意接種、任意接種（ワクチン緊急接種事業開始後）、定期接種の4つの時期に分けて解析した。同時に、Hibワクチンによる予防が期待できないHib以外の*H. influenzae* による小児の侵襲性感染症についてもデータを集積した。

一方、平成24年度まで、*H. influenzae* による髄膜炎が含まれていた第5類感染症の細菌性髄膜炎（髄膜炎菌性

(Neisseria meningitidis) 髄膜炎を除く）は、平成25年度以降、侵襲性インフルエンザ菌感染症と侵襲性肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae*)感染症が別枠になったことで、小児の主要な髄膜炎起因菌3種 *N. meningitidis*、*H. influenzae* ならびに *S. pneumoniae* による髄膜炎が含まれなくなった。平成24年度年の時点で感染症発生動向調査に報告された細菌性髄膜炎の分離菌の約半数242/466(52%)は、その他の菌、細菌培養陰性や起因菌不明であった。本研究では、小児における細菌性髄膜炎疑い患者の髄液から微生物遺伝子を検出する方法を改良し、細菌性髄膜炎の起因菌の同定の精度を向上させることを目的とする。

B. 研究方法

調査対象地域と対象菌種：調査対象9県（福島、新潟、千葉、三重、岡山、高知、福岡、鹿児島、沖縄）における小児の侵襲性感染症症例の髄液、血液等から分離された*H. influenzae* 菌株を解析に用いた。

調査期間：

調査を開始した2007年から2014年2月までについての結果を報告する。Hibワクチンの導入と、分離菌の性状の変化との関連を解析する目的で、Hibワクチン

接種状況が異なる以下の4期間に分けて集計を行った。期間1) Hib ワクチン接種開始前にあたる2007(平成19)年6月～2008(平成20)年11月、期間2) Hib ワクチン任意接種開始後で、かつ全国公的補助金無支給の期間にあたる2008(平成20)年12月～2010(平成22)年12月、期間3) Hib ワクチン任意接種開始後で、かつ、子宮頸癌ワクチン等緊急接種事業によるHib ワクチン接種への全国公的補助金支給開始後にあたる2011(平成23)年1月～2013(平成25)年3月、期間4) Hib ワクチン定期接種開始後にあたる2013(平成25)年4月～2014(平成26)年2月。

菌株の莢膜型別：

抗血清存在下での菌体凝集法による莢膜型別解析：インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いた菌体凝集法により解析した。a, b, c, d, e, f 株に対する抗血清で凝集しない株を Non-typable *H. influenzae* (NTHi) とした。

菌株の莢膜関連遺伝子の増幅による莢膜型別：一部の菌株については、抗血清による菌体凝集法に加えて、a～f型莢膜遺伝子の有無について、Polymerase Chain Reaction (PCR)法を用いて解析した。菌株からのDNA抽出には、QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN)を用い、得られたDNAを鋳型にしPremix Taq (Takara)を用いて遺伝子増幅を行った。*H. influenzae* 莢膜型特異的遺伝子に対するPCR法は、Falla TJ

et al. J. Clin. Microbiol. 32: 2382-2386 (1994)をもとに、一部のプライマー配列を改良して実施した。

β-lactamase 活性試験：IDテスト・HN-20ラピッド「ニッスイ」(日水製薬)または、セフィナーゼディスク(ベクトン・ディッキンソン)を用いて、分離株のβ-lactamase 産生性を調べた。

薬剤感受性試験：E-test (AB BIODISK)を用い、試験用培地には Haemophilus Test Medium (HTM, ベクトン・ディッキンソン)を用いた。薬剤としてアンピシリン (ABPC)、アンピシリン/スルバクタム (ABPC/SBT)、ピペラシリン (PIPC)、メロペネム (MEPM)、セフォタキシム (CTX)、セフトリアキソン (CTRX)を用いた。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の微量液体希釈法の感受性等の基準を参考値とした。

細菌性髄膜炎疑い患者由来の髄液からの微生物遺伝子検出方法：髄液検体よりQIAamp DNA Mini kit (QIAGEN)を使用してDNAを精製した。抽出DNAを鋳型とし16S-23S rRNA 遺伝子間領域をNested PCR法 (LMC Hall *et al.* Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1995, 14, p.1090-1094)により増幅し、*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*の4菌種の遺伝子検出を行った。加えて、平成23年度以降、高感度で検査時間の短縮が可能なReal-time PCR法を実施した。*H. influenzae*, *pdh* 遺伝