

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、患者の個人情報についてはすべて秘匿された状態で扱った。

### C. 研究結果

#### 1) 登録症例の背景

2013年9月1日から2014年11月30日までの全登録症例は64例であった。1年目(2013年9月1日～2014年8月31日)の登録例は62例であった。2年目(2014年9月1日以降)は症例確認途中で現在2例が登録されている。全64例の背景を表1に示す。

表1 全登録例の患者背景

症例	64例
男 n (%)	37例 (56.9%)
平均年齢	80才(42～95才)
市中肺炎 n (%)	47例 (73.4%)
医療介護関連肺炎	17例 (26.6%)
入院加療 n (%)	47例 (73.4%)
肺炎球菌性肺炎	18例 (28.1%)
侵襲性肺炎球菌感染症	1例 (1.6%)
担癌症例 n (%)	17例 (26.6%)
死亡 n (%)	3例 (46.9%)

#### 2) 全登録症例の月別発症数

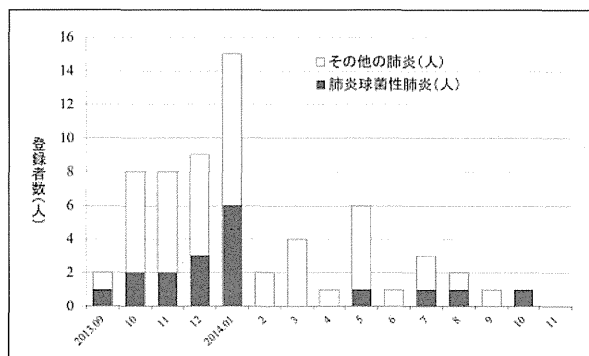


図1 全登録症例の月別発症数

図1に全登録症例の月別発症数を示す。

2014年1月にピークを認め、その後発症数は少数にとどまるも、5月には6名の発症例を認めた。肺炎球菌性肺炎の発症数もほぼ同様の発症動向を認めた。

肺炎球菌性肺炎の年間罹患率(/1,000人・年)は1.0であった。年齢階級別の発生率を図2に示す。65～74才で1.6、75～84才で2.0、85才以上で4.8であった。65才以上から上昇を認めた。

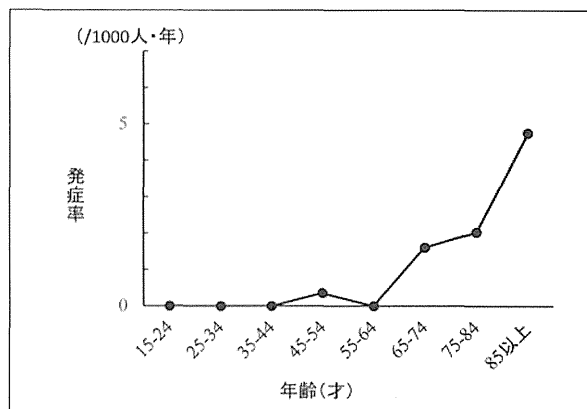


図2 成人における年齢階級別の肺炎球菌性肺炎の発症率

#### 3) 肺炎球菌性肺炎の背景と血清型

表2 肺炎球菌性肺炎症例18例の背景

症例	18例
男 n (%)	8例 (44.4%)
平均年齢(才)	77.4(45～91)
市中肺炎 n (%)	10例 (55.6%)
医療介護関連肺炎	8例 (44.4%)
入院加療 n (%)	14例 (77.8%)
喀痰培養陽性	8例 (44.4%)
尿中肺炎球菌抗原陽性	17例 (94.4%)
血液培養陽性	1例 (5.6%)
侵襲性肺炎球菌感染症	1例 (5.6%)
担癌症例 n (%)	0例 (0.0%)
死亡 n (%)	0例 (0.0%)

起因菌が肺炎球菌であった18例の背景因子を表2に示す。喀痰・血液にて菌株が得られた8例について血清型を確認した。その結果と背景を表3に示す。同定された8例のうち3型が3例でもっとも多かった。肺炎球菌ワクチンの接種歴が有する症例は1例で、血清型は6Aであった。ADROP0で軽症であった。また、いずれもインフルエンザウイルスの先行感染はなかった。

表3 肺炎球菌の血清型が同定された8例の背景

年齢	性	診断	血清型	血液培養	ADL	ワクチン接種	ADROP
79歳	男	市中肺炎	3	-	自立	-	4
62歳	女	医療介護関連肺炎	3	+	自立	-	3
75歳	男	医療介護関連肺炎	3	-	自立	-	4
70歳	女	市中肺炎	6A	-	自立	+	0
72歳	男	市中肺炎	11A/E	-	自立	-	3
45歳	女	市中肺炎	11A/E	-	軽介助	不明	1
84歳	女	医療介護関連肺炎	11A/E	-	車椅子	-	3
85歳	女	医療介護関連肺炎	19A	-	車椅子	不明	3

なお対象例ではないが、同じ登録機関に発症した誤嚥性肺炎のうち喀痰培養で肺炎球菌が同定さ

れ、菌株が得られた4例についても血清型を確認した。内訳は3型2例、35B型2例であった。この4例も肺炎球菌ワクチンの接種歴はなかった。

誤嚥性肺炎も含めた11例において肺炎球菌ワクチン（PPV23）のカバー率は81.8%（9/11例）であった。

#### 4) インフルエンザ発症状況

2013年12月18日から同地域におけるインフルエンザの発症者の登録を開始した。2014年11月30日までの登録期間において、発生数1,195例。A型453例（37.9%）、B型681例（57.0%）。平均年齢：30.3歳（0.5～96才）。65歳以上56人（4.7%）であった。続発性肺炎の発生例は1例。また死亡例0例であった。

インフルエンザと肺炎の月別発生頻度を図2に示す。2013～14年シーズンではインフルエンザ発生数と肺炎の発生数は同期していなかった。

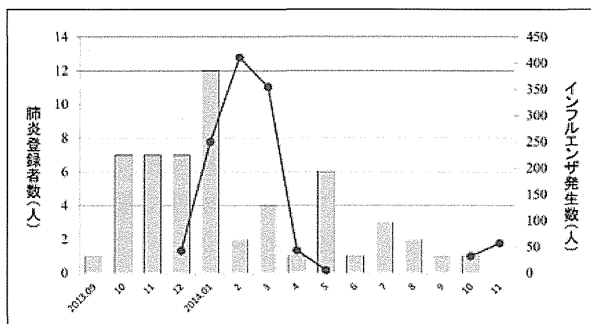


図3 インフルエンザと肺炎の発生数

#### D. 考察

離島地区における population based study で成人の肺炎の罹患率、起因菌の同定を行い、肺炎球菌性肺炎およびIPDの罹患率を明らかにしていくことが、本研究の目的である。ひいては肺炎球菌ワクチンの定期接種化後のワクチン効果をモニタリングできる国の仕組み造りに繋げられることも想定している。

長崎県の西端の離島である上五島地区を対象にこの研究を行い、2014年は2年目となる。

当該地域の2013年10月1日現在の人口は20,625人

（男性10,150人、女性11,566人）である。65歳以上の高齢者人口は7,333人（35.6%）と国内と比較して高齢化が進んだ自治体である。総務省の国勢調査によれば2010年の我が国の高齢化率は23.0%であった。国立社会保障・人口研究所の日本の将来人口推計の報告では、2025年には高齢化率が30.3%、2040年にはいまの上五島地区と同じ35%に達すると予測されている。この地域における肺炎の population based study は将来の日本の肺炎対策に有用なモデルとなると期待される。

64例の肺炎登録で、肺炎球菌性肺炎は18例（28.1%）であった。このうちIPDまで至った症例は1例（1.6%）というのが現時点の結果である。またインフルエンザの流行はあったものの、肺炎の発症状況との関連は認めなかった。今後観測を継続して肺炎球菌性肺炎の経年的発生動向を明らかにし、肺炎球菌ワクチンのカバー率を評価する。さらにはインフルエンザ発症との関連性を明らかにしていく。

#### E. 結論

- 1) 登録症例64例中、肺炎球菌性肺炎は18例（28.1%）であった。
- 2) 肺炎球菌株血清型は、PPSV23でカバーされない35B型が2例（16.7%）認められた。
- 3) 2013～14年シーズンのインフルエンザ流行時期の肺炎発生数の増加は認められなかった。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### G. 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

## 成人市中肺炎患者における病原体プロファイルと分子疫学解析

研究分担者：木村 博一（国立感染症研究所感染症疫学センター）  
研究協力者：倉井 大輔（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
皿谷 健（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
石井 晴之（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
滝澤 始（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
佐々木 佳子（群馬県衛生環境研究所）  
丹羽 祥一（群馬県衛生環境研究所）  
塚越 博之（群馬県衛生環境研究所）  
小澤 邦壽（群馬県衛生環境研究所）  
野田 雅博（国立感染症研究所感染症疫学センター）  
石岡 大成（国立感染症研究所感染症疫学センター）

**研究要旨** 成人市中肺炎の病原体網羅解析を行い、重症度・呼吸不全などの臨床的特徴と原因微生物（ウイルス・細菌・混合感染）との関連を明らかにした。対象を杏林大学病院に入院した成人市中肺炎患者（2012年8月～14年8月）76例（65.7±16.9歳、男/女：51/25）とした。その結果、47例（61.8%）で原因と推定される病原体が判明した。その内訳は、ウイルス単独検出群8例（10.5%）、細菌単独検出群30例（39.5%）、ウイルス・細菌混合検出群9例（11.8%）であり、単独で最も多く検出された細菌・ウイルスは、それぞれ肺炎球菌・HMPVであった。検出されたHMPV、RSVおよびHRVは、いくつかのサブグループあるいは遺伝子型に細分類された。原因病原体の種類と肺炎重症度（Pneumonia Severity Index 値）に有意差はなかったが、呼吸不全の合併頻度が、ウイルス検出患者群（ウイルス単独検出群+ウイルス・細菌混合検出群）で細菌単独検出群より有意に高かった（100% vs 56.7%、 $p<0.05$ ）。これらのことから、呼吸器ウイルスは、成人入院市中肺炎から少なからず検出され、呼吸不全の合併に関与することが示唆された。

### A. 研究目的

市中肺炎は、多くの先進国で成人の主要な死亡原因の1つである<sup>1)</sup>。

成人市中肺炎の主な原因病原体は、肺炎球菌やインフルエンザ菌をはじめとした細菌である<sup>2)</sup>。一方で、RSウイルスなどの呼吸器ウイルスが成人市中肺炎に関与することが近年明らかとなってきた<sup>3)</sup>。しかし、呼吸器ウイルスを網羅的に解析した報告は少なく、その詳細には不明点が多い。

本研究は、入院を要した成人市中肺炎症例において、①ウイルス・細菌を含む病原体プロファイリングを行い、②重症度を中心とした臨床的特徴と

原因微生物（ウイルス感染、細菌感染、ウイルス・細菌混合感染）との関連を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

#### 1. 研究デザイン

前向き観察研究

#### 2. 対象患者

2012年8月から2014年8月に杏林大学医学部附属病院を受診し、市中肺炎と診断され、患者本人もしくは代諾者に文書で同意が得られた18歳以上の入院症例を対象とした。市中肺炎の診断は、咳・

発熱・呼吸困難などの臨床症状に加え、胸部単純エックス線写真で新たな陰影を認める症例と定義した。また、医療介護関連肺炎、院内肺炎および活動性結核は除外した。

### 3. 観察項目

年齢、性別、肺炎重症度、気管支喘息・COPDの合併、喘鳴、呼吸不全、人工呼吸器使用の有無、30日内の死亡率。また、肺炎重症度は、Pneumonia Severity Index (PSI) を用いて評価し、class IVおよびVに分類される症例を重症と定義した<sup>4)</sup>。

### 4. 検体採取

喀痰、鼻咽頭拭い液、気管支肺胞洗浄液 (BALF)の何れかの気道検体を採取し、細菌・ウイルスの同定に用いた。これに加えて、可能な場合は血液、尿を採取し、それぞれ血液培養、尿中抗原検査に用いた。

### 5. 原因微生物の検索

ウイルス検索：喀痰、鼻咽頭拭い液、BALFを用い、RT-PCR法にてウイルスを検出した。検出ウイルスは、ヒトメタニューモウイルス (HMPV)、ヒトライノウイルス (HRV)、RSウイルス (RSV)、インフルエンザウイルスA～C (InfV-A, B and C)、ヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV)、エンテロウイルス、コロナウイルス、アデノウイルス、サイトメガロウイルス (CMV)、パルボB19

ウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルスおよびヒトボカウイルスとした。また、*Mycoplasma pneumoniae*および*Chlamydia pneumoniae*は既報のPCR法で検出した。

細菌検索：良質の喀痰またはBALFを用い、細菌培養法にて分離同定を行った。さらに、検体が得られたものについては血液培養、肺炎球菌・レジオネラ尿中抗原検査、マイコプラズマの血清診断を行った。

以上の検査項目で陽性となった場合（血液培養は他の原因臓器がない場合）に原因病原体と定義した。また、この結果から対象患者をウイルス単独検出群、細菌単独検出群、ウイルス・細菌混合検出群、不検出群の4群に分けて、臨床的特徴を比較した。

### 6. 分子系統樹解析

Neighbor-Joining (NJ) 法を用いて、全症例中で高頻度に検出されたHMPV、RSV、HRVのサブグループまたは遺伝子型を決定した。

## C. 研究結果

### 1. 臨床的特徴

対象症例は76例（男性51例、女性25例）で、年齢（平均値±標準偏差）は65.7±16.9歳であった（表1）。

表1 検出病原体別の臨床データ

	全症例	ウイルス単独群	細菌単独群	ウイルス+細菌群	不検出群
症例数	76 (100)	8 (10.5)	30 (39.5)	9 (11.8)	29 (38.2)
年齢*	65.7 ± 16.9	74.4 ± 4.9 <sup>a,b</sup>	63.1 ± 17.1 <sup>a</sup>	65.6 ± 19.6	65.3 ± 17.6 <sup>b</sup>
男/女	51 / 25	4 / 4	22 / 8	5 / 4	20 / 9
PSI スコア*	3.3 ± 1.1	3.5 ± 0.5	3.2 ± 1.3	3.6 ± 0.7	3.3 ± 1.2
PSI (IV or V)	39 (51.3)	4 (50)	15 (50)	6 (66.7)	14 (48.3)
気管支喘息	8 (10.5)	1 (12.5)	3 (10)	3 (33.3)	1 (3.4)
COPD	20 (26.3)	1 (12.5)	9 (30)	3 (33.3)	7 (24.1)
喘鳴	20 (26.3)	2 (25)	8 (26.7)	5 (55.6) <sup>c</sup>	5 (17.2) <sup>c</sup>
呼吸不全	51 (67.1)	8 (100) <sup>a,b</sup>	17 (56.7) <sup>a,d</sup>	9 (100) <sup>c,d</sup>	17 (58.6) <sup>b,c</sup>
人工呼吸器治療	7 (9.2)	1 (12.5)	2 (6.7)	2 (22.2)	2 (6.9)
侵襲的人工呼吸器治療	5 (3.9)	0 (0)	1 (3.3)	2 (22.2)	2 (6.9)
30日以内死亡**	3/64 (4.7)	0/8 (0)	1/22 (4.5)	1/8 (12.5)	1/26 (3.8)

検出数 (%)

\* mean ± SD. \*\*死亡数/症例数

<sup>a</sup>p < 0.05: ウイルス単独 vs 細菌単独、<sup>b</sup>p < 0.05: ウイルス単独 vs 不検出、

<sup>c</sup>p < 0.05: ウイルス+細菌 vs 不検出、<sup>d</sup>p < 0.05: 細菌単独 vs ウイルス+細菌

## 2. 肺炎の原因微生物

全症例中、病原微生物が検出されたのは47例(61.8%)であった。このうち、ウイルス単独検出群は8例(10.5%)、細菌単独検出群は30例(39.5%)、ウイルス・細菌混合検出群は9例(11.8%)であった。

ウイルス単独検出群の内訳は、HMPV 3例、CMV 2例、RSV、InfV-A、HPIV各1例であった。細菌単独検出群においては、肺炎球菌が11例と最も頻度が高く、次いでマイコプラズマ・MSSAがともに4例ずつ検出された。混合検出群では、HRV + 肺炎球菌の組み合わせが2例、その他はすべて1例ずつ検出された(表2)。なお、今回検出されたHRV 4例は、すべて細菌と重複して検出された。

## 3. 臨床的特徴と原因微生物の関連

ウイルス単独検出群、細菌単独検出群、ウイル

ス・細菌混合検出群、不検出群の4群間で各観察項目を比較した(表1)。PSI値及び重症肺炎の割合に4群間に有意差は認めなかった。ウイルス単独検出群では、年齢が細菌単独群・不検出群より有意に高かった。また、ウイルスが検出されたすべての症例(ウイルス単独検出群+ウイルス・細菌混合検出群)で、呼吸不全が認められ、この呼吸不全を合併する割合は、細菌単独検出群(56.7%)および不検出群(58.6%)と比較し有意に高かった。

## 4. 分子系統樹解析

分子系統樹解析の結果、HMPVの7例は、サブグループA2が2例、B1が2例およびB2が3例であった。RSVの3例は、RSV-A ON1が1例、RSV-B BA9が2例認められた。これらはいずれも我が国において一般的に検出される型であった。HRVの4例はHRV-Aであり、遺伝子によ

表2 検出病原体の内訳

ウイルス単独		8
	HMPV	3
	CMV	2
	RSV	1
	InfV-A	1
	HPIV	1
細菌単独		30
	<i>S. pneumoniae</i>	11
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	4
	MSSA	4
	<i>Haemophilus influenzae</i>	2
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	2
	<i>Streptococcus anginosus</i>	2
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
	<i>Escherichia coli</i>	1
	<i>Serratia marcescens</i>	1
	<i>S. pneumoniae</i> + <i>Haemophilus influenzae</i>	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + MSSA	1
ウイルス+細菌		9
	<i>S. pneumoniae</i>	2
HRV	Group G <i>Streptococcus</i>	1
	<i>S. pneumoniae</i> + <i>Haemophilus influenzae</i>	1
	<i>S. pneumoniae</i>	1
HMPV	MSSA	1
	<i>S. pneumoniae</i> + <i>Haemophilus influenzae</i> + MSSA	1
	<i>S. pneumoniae</i>	1
RSV	CMV + <i>S. pneumoniae</i>	1

*S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*,

MSSA: methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*.

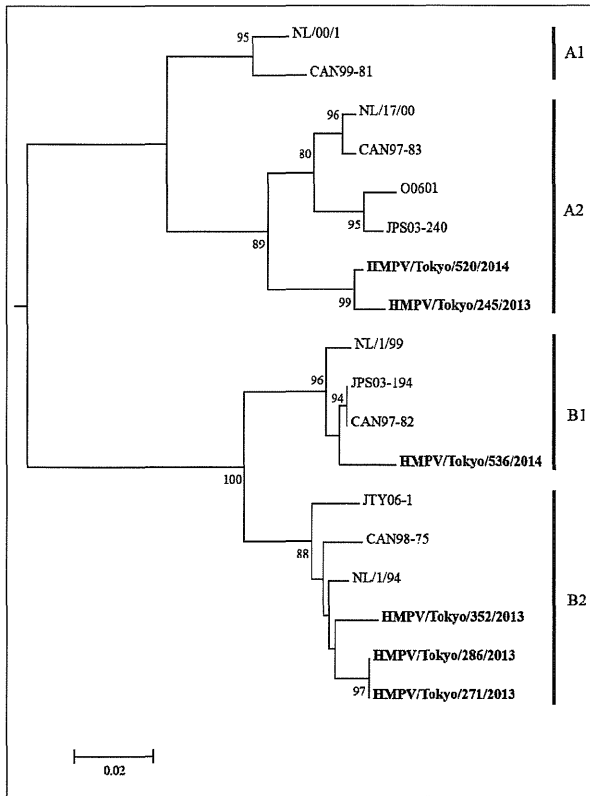


図 1a HMPV *F* gene sequences

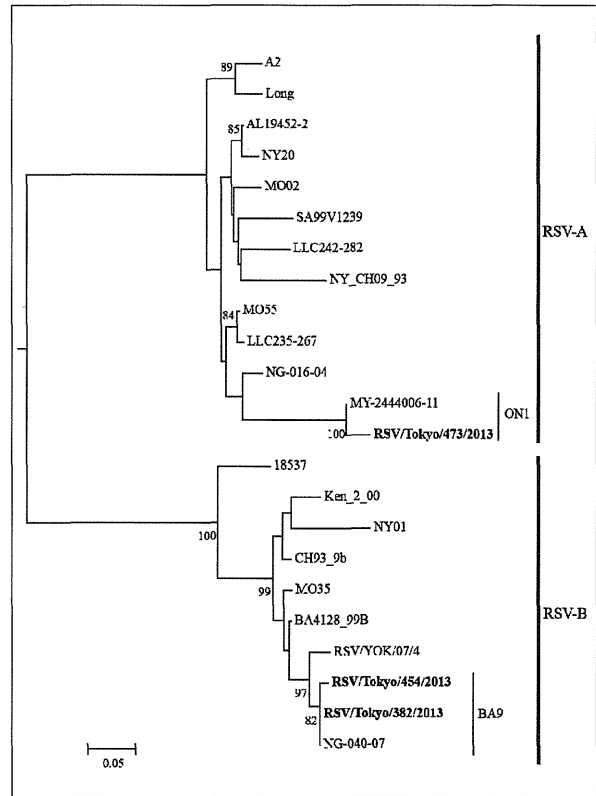


図 1b RSV *G* gene sequences

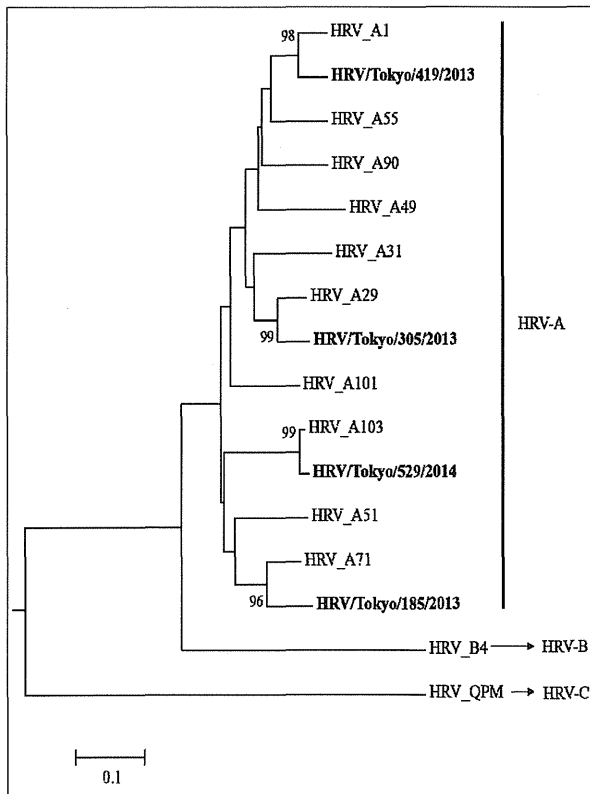


図 1c HRV *VP4/VP2* coding region

り A1、A29、A71、A103 にそれぞれ 1 例ずつ分類された (図 1a-1c)。

#### D. 考察

本研究において、入院を必要とした成人市中肺炎症例の61.8%から病原微生物が検出された。このうち、細菌単独例は39.5%で認められ、中でも肺炎球菌が最も多く検出された。これは過去の国内外の報告とも一致していた<sup>2)</sup>。また、ウイルス単独検出群は全体の10.5%を占め、HMPVが最も多く検出された。HMPV、RSV、InfV-A、HPIVなどの呼吸器ウイルスは、単独でも成人市中肺炎の原因になり得ると考えられた。CMVはHMPVに次いで多く検出されたが、不顕性感染の可能性もあるため、肺炎への関与は判断し難い。また、今回検出された主な呼吸器ウイルス (HMPV、RSV、HRV) は、多様なサブグループおよび遺伝子型を示していた。

PSIによる重症度評価では、4群間に統計学的有意差は認められなかった。しかし、ウイルス検出患者群 (ウイルス単独検出群+ウイルス・細菌混合検出群) において、細菌単独検出群に比べ、呼吸不全の合併頻度が有意に高かった。さらに、統計学的有意差には至らなかったものの、ウイルス・細菌混合検出群では細菌単独群より、人工呼

吸器治療症例が多く認められた。これらの結果から、細菌性肺炎にウイルス感染を合併することは、呼吸不全を重症化させる可能性が示唆された。Johanssonらは、ウイルス・細菌混合検出患者が、細菌単独検出患者よりも有意に頻呼吸を呈し、酸素投与を必要とする期間が長いことを報告しており<sup>5)</sup>、今回の我々の結果を支持するものと考えられた。

今後、さらに調査を継続し、検体数を増やして解析する必要がある。また、外来治療が可能な市中肺炎軽症例にも対象を広げることも検討が必要であると思われた。

## E. 結論

入院を要した成人市中肺炎患者の約22%から呼吸器ウイルスが検出された。ウイルス単独検出は全症例の約10%を占め、HMPVやRSVは単独でも成人市中肺炎の原因になり得ると考えられる。また、成人市中肺炎におけるウイルス感染は、呼吸不全に関与することが示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Saraya T, Kurai D, Ishii H, Ito A, Sasaki Y, Niwa S, Kiyota N, Tsukagoshi H, Kozawa K, Goto H and Takizawa H. Epidemiology of virus-induced asthma exacerbations: with special reference to the role of human rhinovirus. *Front Microbiol.* 2014; 5: 226.
- 2) Saraya T, Kurai D, Nakagaki K, Sasaki Y, Niwa S, Tsukagoshi H, Nunokawa H, Ohkuma K, Tsujimoto N, Hirao S, Wada H, Ishii H, Nakata K, Kimura H, Kozawa K,

Takizawa H, Goto H. Novel aspects on the pathogenesis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia and therapeutic implications. *Front Microbiol.* 2014; 5: 410.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 参考文献

- 1) Mandell LA et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Inf Dis.* 2007; 44: S27-72.
- 2) Lim WS et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. *Thorax.* 2009; 64: 1-55.
- 3) Luchsinger V et al. Community-acquired pneumonia in Chile: the clinical relevance in the detection of viruses and atypical bacteria. *Thorax.* 2013; 68 (11): 1000-6.
- 4) Fine MJ et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med.* 1997; 336 (4): 243-50.
- 5) Johansson N et al. Clinical impact of combined viral and bacterial infection in patients with community-acquired pneumonia. *Scand J Infect Dis.* 2011; 43 (8): 609-15.

## 成人侵襲性肺炎球菌感染症由来株の細菌学的解析

研究分担者：常 彬（国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官）  
研究協力者：前川 純子（国立感染症研究所 細菌第一部）

**研究要旨** 2013年7月から2015年1月現在まで、本研究班に含まれる10道県中の9県で発症した成人侵襲性肺炎球菌感染症231例（うち髄膜炎39症例）から分離された224株の肺炎球菌の解析を行った。そのうち、23価肺炎球菌ワクチン（PPSV23）に含まれる血清型の分離率は66.5%（149例）であった。血清型3型肺炎球菌による症例は42例で、最も多かった。PPSV23に含まれていない血清型の内分けは6C（16例）、15A（13例）、23A（13例）、35B（7例）、24F（6例）、34（6例）、6A（5例）、38（4例）、7C（2例）、15C（1例）、18B（1例）、37（1例）であった。2010年2月に導入された小児用7価肺炎球菌コンジュゲートワクチン（PCV7）に含まれる血清型（4、6B、9V、14、18C、19F、23F）による症例は28例（12.5%）のみであって、PCV7による集団免疫効果が示唆された。また、231症例のうちにPPSV23が接種された症例は8例であった。23A型による症例は2例で、3、14、23F、34、18B、7C型による症例はそれぞれ1例であった。血清型3、14、23FはPPSV23に含まれるタイプであった。

### A. 研究目的

侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）は、ワクチン接種により予防可能な疾患となっている。本邦においては、23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（PPSV23）、7価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV7）および13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）が承認されている。現在、日本国内ではPCV13は5歳未満小児を対象とする定期接種ワクチン（A類疾病）として使われている。一方、PPSV23が65歳以上の成人を対象に、2014年10月に定期接種（B類疾病）になった。PPSV23は免疫不全のない成人において、今後の接種率の増加によって、ワクチン血清型によるIPDの発症率の減少が期待されている。また、PCV13は2014年6月に65歳以上の成人への応用が追加承認された。本分担研究は、日本国内の10道県で行われた人口あたりの成人IPD罹患率調査の一部として行われている。成人IPDより分離された肺炎球菌の血清型別を行い、ペニシリンG等の抗菌薬への感受性の状況の変化も併せて調査し、PPSV23の効果を評価する基礎疫学デー

タを提供することを目的とした。

### B. 研究対象と方法

#### 1. 成人IPD症例由来肺炎球菌

2013年7月から2015年1月現在まで、9県から送付された成人IPD由来の224株肺炎球菌を対象とした。血液寒天培地にて37℃、5% CO<sub>2</sub>の条件下で一晩培養した肺炎球菌を用いて解析を行った。

#### 2. 血清型別

肺炎球菌の血清型はStatens Serum Institut 製血清を用いて、莢膜膨潤法により決定した。

#### 3. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は微量液体希釈法によって行った。薬剤感受性試験の結果は2008年から使われたCLSIの基準によって判別を行った。すなわち、髄膜炎由来肺炎球菌のペニシリンG（PCG）のMICが $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 0.12 \mu\text{g/mL}$ をそれぞれ、



ペニシリン感受性 (PSSP)、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) と判別し、セフトキシムに対するMICが $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $1 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ をそれぞれ、セフトキシム感受性、低感受性、耐性と判別した。髄膜炎以外のIPD由来肺炎球菌についてはPCGのMICが $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ 、 $4 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ をそれぞれ、PSSP、ペニシリン低感受性 (PISP)、PRSPと判別し、セフトキシムに対するMICが $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ 、 $2 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ をそれぞれ、セフトキシム感受性、低感受性、耐性と判別した。また、分離部位に関係なく、メロペネムに対するMICが $\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ をそれぞれ、メロペネム感受性、低感受性、耐性と判別した。

#### 4. マルチローカスシークエンスタイピング (MLST) 解析

MLSTでは、分離株のゲノムDNAを精製し、肺炎球菌のゲノム上にある7つのハウスキーピング遺伝子 (*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl*) の配列を決定し、<http://spneumoniae.mlst.net>にて検索を行い、sequence type (ST) を決定した。

### C. 研究結果

#### 1. 成人IPDの患者背景

2013年7月から2015年1月現在まで、9県で成

人IPD症例231例が報告された。患者年齢は25-100歳、平均は68.9歳で、男女それぞれ148名と82名で、1名患者の性別は不明であった。65歳以下の患者は81名で、全体の35.1%を占めていた。231名の患者のうち、PPSV23を接種されていたのは8名のみで、165名の患者にはPPSV23の接種歴はなく、残る58名の患者の肺炎球菌ワクチンの接種歴は不明であった。231症例IPDのうち、髄膜炎は39症例 (16.9%)、菌血症を伴う肺炎の症例は127例 (55.0%)、菌血症のみは39例 (16.9%) であった。26症例 (11.3%) に菌血症および肺炎以外の合併症状がみられた。

#### 2. 成人IPD由来肺炎球菌の血清型分布

231例のIPD症例のうち、224例から分離された肺炎球菌の血清型別を行った。その結果を図1に示す。血清型3型肺炎球菌による症例は42例 (18.8%) で、最も多かった。10症例以上から分離された血清型は19A (23例、10.3%)、22F (23例、10.3%)、10A (16例、7.1%)、6C (16例、7.1%)、15A (13例、5.8%)、23A (13例、5.8%) および14 (11例、4.9%) で、PPSV23に含まれる血清型の分離率は66.5%であった (図1、2)。2014年6月に成人の適用も承認されているPCV13のカバー率は46.0%であった。2010年2月に日本に導入された小児用PCV7に含まれる血清型 (4、6B、9V、14、18C、19F、23F) による症例は28例で、12.5

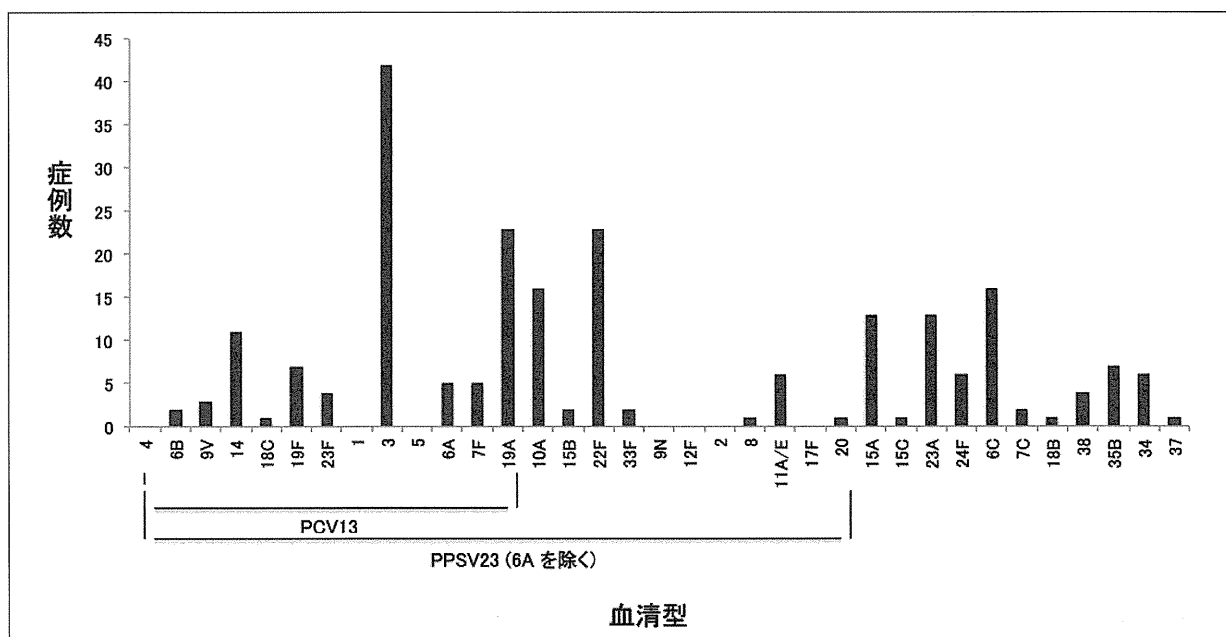


図1 2013/4-2015/1月現在に肺炎球菌を原因とする成人IPD症例数 (n=224)

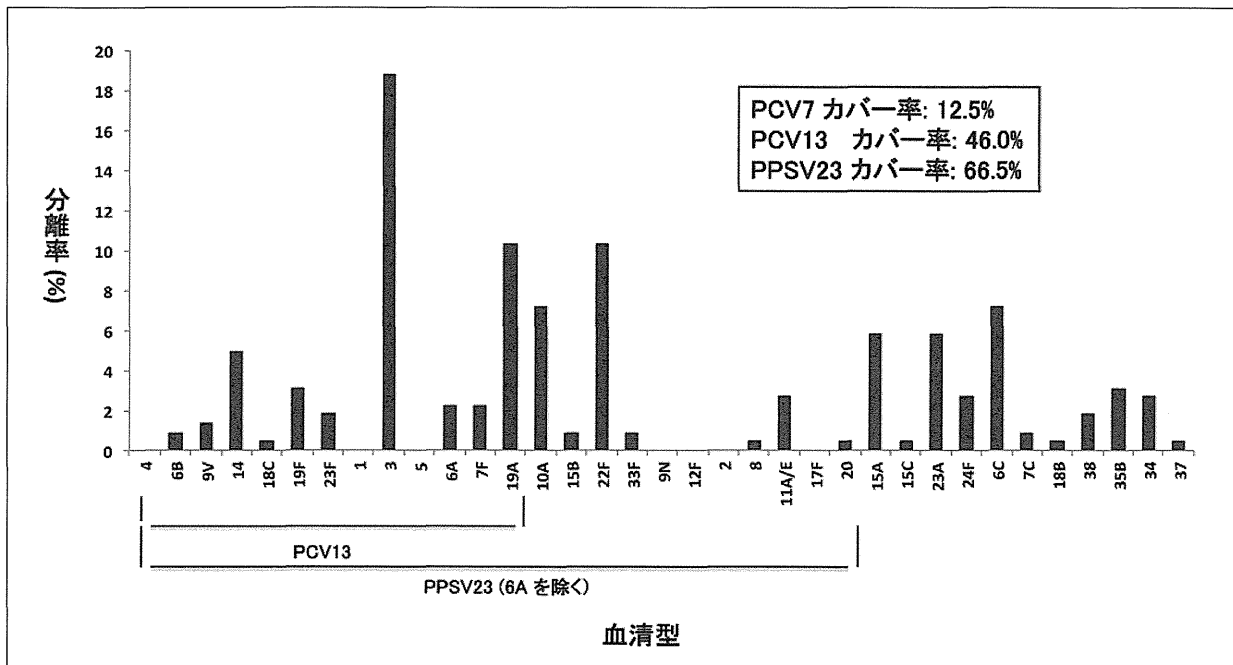


図2 2013/4-2015/1月現在に成人IPD由来肺炎球菌の血清型分布

%を占めた。PPSV23に含まれていない血清型は6C (16例)、15A (13例)、23A (13例)、35B (7例)、24F (6例)、34 (6例)、6A (5例)、38 (4例)、7C (2例)、15C (1例)、18B (1例)、37 (1例)であった。また、PPSV23の接種歴のある8症例より分離された肺炎球菌の血清型は23Aが2例、血清型3、14、23F、34、18B、7C型がそれぞれ1例であった。3、14、23F型はPPSV23に含まれるタイプであった。この3名の患者は2011-2013年の間に接種を行い、そのうちの2名には免疫不全の基礎疾患が認められた。髄膜炎と髄膜炎以外の症例由来肺炎球菌の血清型分布には明らかな違いが認められなかった。

### 3. 成人IPD由来肺炎球菌の薬剤感受性

224症例 (髄膜炎36例、髄膜炎以外188例) 由来肺炎球菌の薬剤感受性を調べた。

髄膜炎由来肺炎球菌36株のうち、23株は PSSP、13株は PRSPであった。セフトキシム感受性菌は35株、低感受性は1株であった。1株はメロペネムに対するMICが0.5 µg/mLで、低感受性を示した。菌血症から分離された188株のうち、187株は PSSPで、1株は PISPであった。セフトキシム感受性菌は181株、低感受性は1株、耐性菌は6株を占めた。また、メロペネムに対する低

感受性であった肺炎球菌は10株で、耐性を示した株は1株であった。

### 4. 成人IPD由来肺炎球菌のST型

成人IPD由来肺炎球菌のMLSTの解析結果を表1に示す。224株の肺炎球菌のうち、13株はデータベースに登録されていない新規STであった。世界中の多くの地域から分離されるST (血清型3型のST180、15A型のST63、19F型のST236、23A型のST338、23F型のST242など) は日本国内の成人IPD症例からも分離された。一方、血清型3型の新規STであるST9607 (5、35、2、1、45、39、18) は、ST717 (5、35、29、1、45、39、18) と *gki* 遺伝子の配列が異なった近縁タイプであった。日本国内で分離された血清型3型の肺炎球菌の多くはST180 (7、15、2、10、6、1、22) とその近縁タイプであった。一方、ST717は血清型33F肺炎球菌には多くみられるSTであったため、この肺炎球菌は血清型33F肺炎球菌の capsular switching (遺伝子組み換え) である可能性が示唆された。今後、ワクチン (PCV13またはPPSV23) のセレクションによるワクチンに含まれる血清型の莢膜遺伝子が非ワクチン血清型に capsular switching するケースが増加することが懸念され、観測を続ける必要がある。

表1 成人IPD由来肺炎球菌のST型

血清型	ST	<i>aroE</i>	<i>gdh</i>	<i>gki</i>	<i>recP</i>	<i>spi</i>	<i>xpt</i>	<i>ddl</i>
6B	90	5	6	1	2	6	3	4
	<u>10003</u>	1	12	8	6	6	6	14
9V	280	15	17	4	16	6	1	17
	5231	15	17	4	148	6	1	17
14	790	7	5	10	18	6	58	1
	2922	1	5	4	5	5	20	8
	5240	5	19	2	17	6	22	14
	7972	7	5	1	8	14	11	524
	<u>10011</u>	305	8	4	15	39	12	14
	4876	1	8	4	12	6	3	41
18C	115	15	16	19	15	30	20	39
19F	236	15	16	19	15	6	20	26
	926	15	16	19	15	6	20	14
	2890	15	16	19	4	6	20	26
	<u>10017</u>	15	16	435	15	6	20	26
	<u>10019</u>	15	16	19	272	6	20	26
	242	15	29	4	21	30	1	14
23F	1437	1	32	6	6	6	1	14
	180	7	15	2	10	6	1	22
3	<u>9607</u>	5	35	2	1	45	39	18
	<u>9614</u>	285	15	2	10	6	1	22
	<u>9618</u>	7	15	2	255	6	1	22
	<u>10010</u>	304	15	2	10	6	1	22
	<u>10020</u>	7	15	2	10	417	1	22
	<u>10025</u>	7	15	2	10	6	1	634
6A	282	30	4	2	4	4	1	1
	2755	10	12	2	1	152	28	14
	3113	8	8	4	16	77	1	68
	5833	7	13	1	6	6	6	
7F	191	8	9	2	1	6	1	17
	<u>10018</u>	8	9	436	1	6	1	17
19A	2331	10	16	150	1	17	1	29
	3111	61	60	67	16	10	104	14
	7988	61	60	67	16	6	104	14
	8474	61	60	67	39	10	104	14
	<u>9611</u>	61	6	67	16	10	104	14
10A	5236	7	12	1	1	10	1	11
	7773	15	13	4	4	6	1	17
15B	199	8	13	14	4	17	4	14
	7793	8	13	14	4	30	4	14
22F	433	1	1	4	1	18	58	17
	7158	7	12	1	1	10	1	14
33F	717	5	35	29	1	45	39	18
	8	2234	2	5	9	1	125	14
11A/E	99	5	8	4	16	6	1	31
	20	4745	93	17	1	113	6	1
15A	63	2	5	36	12	17	21	14
	374	2	5	36	12	17	1	14
15C	7793	8	13	14	4	30	4	14
23A	338	7	13	8	6	1	6	8
	5242	7	13	8	6	1	337	8
	5246	7	13	8	6	1	138	8
	8340	7	367	8	6	1	337	8
24F	4982	7	120	8	8	25	28	14
	2572	7	75	9	6	25	6	14
	5496	7	257	9	6	25	6	14
	2923	2	13	2	5	6	121	29
6C	2924	1	5	2	6	6	1	14
	4233	7	16	1	1	6	6	14
	5241	7	9	8	6	1	6	384
	5832	7	9	4	16	1	6	384
	2758	10	5	1	1	9	220	8
18B	3594	10	13	34	16	6	1	31
38	6429	8	175	40	1	6	234	270
35B	558	18	12	4	44	14	77	97
	2755	10	12	2	1	152	28	14
34	3116	10	8	6	1	9	1	279
	7388	5	5	7	16	9	1	14
	<u>10012</u>	306	5	7	16	9	1	14
37	447	29	33	19	1	36	22	31

下線：新規 ST 型

## D. 考察

日本ではPPSV23が1988年に薬事承認され、2014年10月からB類疾病として65歳以上の成人対象に定期接種が始まった。今後の接種率の増加が予測されるとともに、小児用PCV7の導入後におきたPCV7に含まれない血清型によるIPD罹患率の増加 (serotype replacement) のような現象 (Pilishvili T et al. JID 201: 31-41, 2010) が起こる懸念も持たれている。本研究の同一地域における成人IPDの疫学調査は、PPSV23が定期接種の対象になる前後の両期間を含む形で2013年に始まったため、PPSV23の効果およびserotype replacementの有無をリアルタイム、かつ正確に反映することが期待されている。

本分担研究の調査では、成人IPD由来肺炎球菌の33.5%はPPSV23に含まれないnon-vaccine型で、PCV7とPCV13タイプが占めている割合はそれぞれ12.5%と46.0%であった。日本国内にPCV7が導入される前は小児IPD由来肺炎球菌の76.6%と90.2%がそれぞれPCV7とPCV13に含まれていたという調査結果 (常 彬ら、IASR 34: 64-66) に比べて、成人IPD由来肺炎球菌の血清型は多様性を示し、PCV7とPCV13のカバー率は低かった。また、小児PCV7が導入後serotype replacementとしてみられた血清型19A型の、成人IPDからの分離率が血清型3型に続いて、2番目に高かった。これらの結果の理由としては、小児用ワクチンの普及は、PCV7とPCV13に含まれる血清型の肺炎球菌による小児IPDの減少のみならず、成人への効果 (集団免疫効果) も果たし

たためと考えられる。

2014年10月からPPSV23の定期接種が始まり、対象者の接種率の増加に伴い、高齢者における肺炎球菌性感染症の予防効果や医療費の削減効果が期待されている。一方、19A型やその他のPPSV23に含まれない血清型の肺炎球菌によるIPD罹患率の上昇の懸念も持たれる。今後、PPSV23の予防効果とともに、serotype replacementおよびcapsular switchingの有無を継続して調べる必要がある。

## E. 結論

2013年7月から2015年1月現在までに成人IPDから分離された肺炎球菌はPCV7とPCV13に含まれない血清型が多く占めていた。PCV7による成人への集団免疫効果が現れた可能性が示唆された。一方、PPSV23の予防効果を評価するために、成人IPD由来肺炎球菌の収集と細菌学的解析を続ける必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## G. 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

## 成人侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の臨床像と原因菌血清型分布 に関する記述疫学 (2013-2014)

研究協力者：福住 宗久（国立感染症研究所 実地疫学専門家養成コースFETP）

成人の重症肺炎サーベイランス構築に関する研究班：西 順一郎、丸山 貴也、渡邊 浩、柳 哲史、高橋 弘毅、武田 博明、田邊 嘉也、笠原 敬、藤田 次郎、横山 彰仁、山崎 一美

国立感染症研究所感染症疫学センター：牧野 友彦、高橋 琢理、松井 珠乃、石岡 大成、木村 博一、大日 康史、砂川 富正、大石 和徳

国立感染症研究所細菌第一部：常 彬、大西 真

国立感染症研究所真菌部：金城 雄樹

### 研究要旨

【背景】 侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) に対する小児のPCV導入による集団免疫効果に伴う成人IPD原因菌の血清型置換が海外同様、我が国でも明らかになりつつある。また2014年6月にPCV13の65歳以上の成人に対する適応拡大が承認され、2014年10月からは65歳以上の成人に対する23価肺炎球菌ワクチン (PPSV23) の定期接種 (B類) が開始された。

【方法】 2013年4月から2014年11月までに厚生労働省研究班 (成人IPD研究班) における10道県のネットワークで収集された調査票と菌株情報をもとに、成人IPDの臨床像と原因菌の血清型分布についてまとめた。

【結果】 10道県における成人IPD研究班へ登録され、菌株と調査票がそろった症例は152例であった。152例の年齢中央値は70歳 (範囲:25歳~94歳)、男性が97例 (64%) であった。喫煙者は67例 (44%)、基礎疾患のある患者は107例 (70%) で、うち免疫不全を伴う患者は64例 (42%) であった。PPSV23の接種歴がある患者は5例 (3%) であった。人工呼吸器管理は36例 (24%)、集中治療室管理は35例 (23%) であった。主な病型は菌血症を伴う肺炎86例 (57%)、髄膜炎25例 (16%)、菌血症のみ24例 (16%) で髄膜炎、菌血症が比較的若年に偏る傾向にあった。死亡例は32例 (致命率21%) であったが、転帰の記載なし51例を分母に含む。

【結論】 成人のIPD患者で基礎疾患を有する症例は70%と多く、42%が免疫不患者であった。基礎疾患のない患者に比べて、免疫不全患者の原因菌としてPCV13非含有血清型の割合 (63%) が高く、菌血症の病型を取る割合 (25%) が高かった。今後も継続した動向把握が重要である。

### A. 研究目的

侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) に対する我が国のワクチン政策において、小児に対しては7価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) が2010年11月から公費助成 (子宮頸がん等ワクチン接種促進事業) が始まった。その後、2013年4月からPCV7の小児に対する定期接種が開始され、2013年11月からはPCV7が13価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13)

に切り替わった。このような状況から、海外同様、わが国においても小児のPCV導入による集団免疫効果に伴う成人IPD原因菌の血清型置換が明らかになりつつある<sup>1)</sup>、一方、成人では1988年に23価肺炎球菌ワクチン (PPSV23) が承認され、2014年6月にPCV13が65歳以上の成人に対して適応拡大された。また、2014年10月からは65歳以上の成人に対する23価肺炎球菌ワクチン

(PPSV23)の定期接種(B類)が開始された。本研究の目的はIPD患者の臨床像と原因菌血清型分布との関連を記述する事である。

## B. 研究方法

2013年4月から2014年11月までに厚生労働省研究班(成人IPD研究班)における10道県のネットワークで収集された調査票と菌株情報をもとに、成人IPDの臨床像と原因菌の血清型分布についてまとめた。

## C. 結果

10道県における成人IPD研究班へ登録され、菌株と調査票がそろった症例は152例であった。なお、同時期に発生動向調査で報告された成人IPDは557例であった。152例の年齢中央値は70歳

(範囲:25歳~94歳)、男性が97例(64%)であった。喫煙者は67例(44%)、基礎疾患のある患者は107例(70%)で、うち免疫不全を伴う患者は64例(42%)であった。免疫不全の内訳は悪性腫瘍28例(18%)、自己免疫性疾患21例(14%)、ステロイド投与20例(13%)、無脾・脾臓低形成9例(6%)などであった(重複あり)。PPSV23の接種歴がある患者は5例(3%)であった。人工呼吸器管理は36例(24%)、集中治療室管理は35例(23%)であった。主な病型は菌血症を伴う肺炎86例(57%)、髄膜炎25例(16%)、菌血症のみ24例(16%)で髄膜炎、菌血症が比較的若年に偏る傾向にあった。死亡例は32例(致命率21%)であったが、転帰の記載なし51例を分母に含む。(図1、表1)基礎疾患の有無とその内容に関して回答のあった146例において、免疫不全のない症例(82

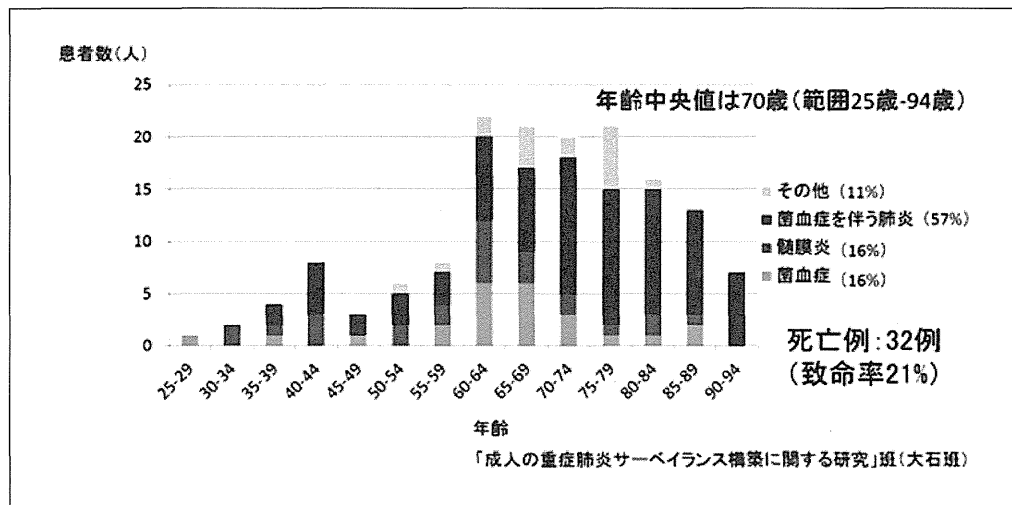


図1 侵襲性肺炎球菌感染症患者の年齢と病型分布  
2013年4月~2014年11月

表1 侵襲性肺炎球菌感染症患者の臨床的特徴 (n=152) 2013年4月~2014年11月

患者の特徴	患者数 (%)
男性	97 (64%)
喫煙歴	67 (44%)
アルコール多飲歴	16 (11%)
PPSV23の接種歴	5 (3%)
免疫不全を伴わない基礎疾患	43 (28%)
免疫不全	64 (42%)
集中治療室管理	35 (23%)
人工呼吸器管理	36 (24%)

注)免疫不全には悪性腫瘍、ステロイド投与、免疫抑制剤投与、肝移植、骨髄移植、無脾、脾臓低形成等を含む。  
「成人の重症肺炎サーベイランス構築に関する研究」班(大石班)

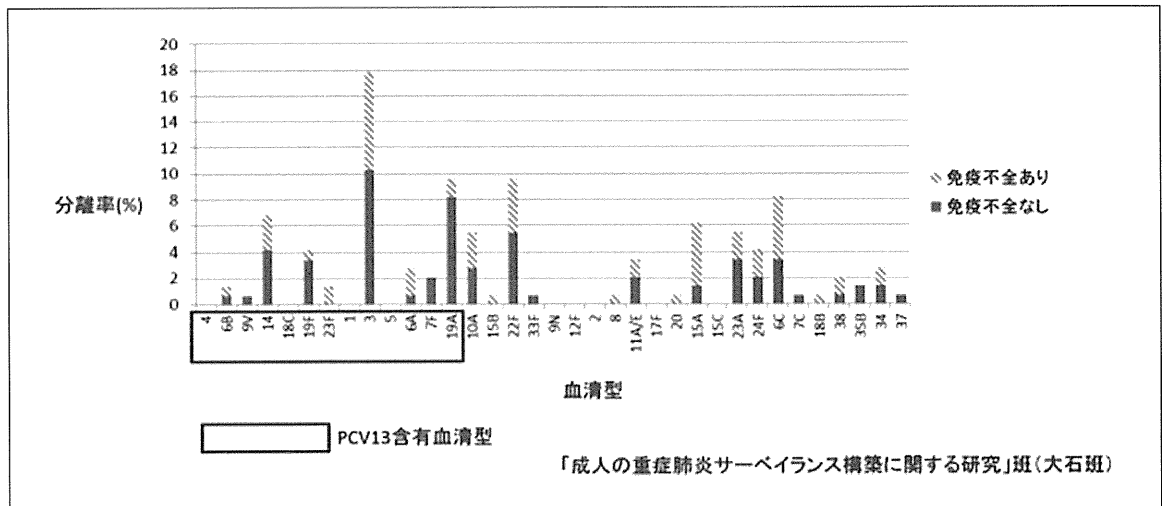


図2 成人IPD原因菌の血清型分布と基礎疾患 (n=146)  
2013年4月～2014年11月

例)、免疫不全を有する症例 (64例)、それぞれの原因菌株のPCV13含有血清型の割合は、それぞれ52% (43/82)、38% (24/64) (図2)。また基礎疾患のない症例の病型の割合は菌血症を伴う肺炎が57%、菌血症が11%であったのに対し、免疫不全を伴う症例ではそれぞれ52%、25%であった。

#### D. 考察

10道県における成人IPD研究班において登録された成人のIPD患者について検討した。報告された152例のうち基礎疾患を有する症例は107例で、うち免疫不全状態であった者は64例であった。免疫不全をもつ症例では原因菌としてPCV13非含有血清型の割合が高く(63%)。免疫不全を伴う症例では感染巣不明の菌血症の割合が増える(25%)傾向が見られた。Lujánらは免疫不全状態と心肺系の基礎疾患を有するIPD患者においてPCV13非含有血清型が検出される頻度が高く、免疫不全では本来IPDをおこしにくい血清型が原因菌となっている点を指摘しており<sup>2)</sup>本研究結果と矛盾しない。2006年～2007年に実施された国内のIPD患者に関する研究において成人IPD患者195例のうち135例(69.2%)が基礎疾患を有しており、死亡の詳細は不明なもの、基礎疾患をもつ症例では有意に死亡率が高かったと報告されている<sup>3)</sup>。本研究報告例では32例が死亡しているが、うち75%が基礎疾患を有しており先行研究の結果と一致していた。

制約として、観察期間中に小児肺炎球菌ワクチンが7価から13価に切り替わったこと、発生動向調査を通じて10道県から報告された症例数と比較し本研究への登録数が少なく過小評価となっていること、調査票に対する無回答が多いことなどが挙げられ、その影響が結果に反映されている可能性がある。

#### E. 結論

成人のIPD患者で基礎疾患を有する症例は70%と多く、42%が免疫不患者であった。基礎疾患のない患者に比べて、免疫不全患者の原因菌としてPCV13非含有血清型の割合(63%)が高く、菌血症の病型を取る割合(25%)が高かった。今後も継続した動向把握が重要である。

#### 参考文献

- 1) IASR 35: 179-181, 2014
- 2) Luján M, et al., Effects of immunocompromise and comorbidities on pneumococcal serotypes causing invasive respiratory infection in adults: implications for vaccine strategies, Clin Infect Dis. 57: 1722-30, 2013
- 3) Chiba N, et al., Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal diseases in Japan, Epidemiol. Infect. 138: 61-68, 2010

## 地方衛生研究所への肺炎球菌およびインフルエンザ菌検査の導入と 成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症の臨床像と細菌学的解析

研究分担者：石岡 大成（国立感染症研究所感染症疫学センター）  
研究協力者：鈴木 裕（山形県衛生研究所）  
細谷 美佳子（新潟県保健環境科学研究所）  
金谷 瑠美（新潟市衛生研究所）  
松井 重憲（群馬県衛生環境研究所）  
増田 千恵子（富山県衛生研究所）  
永井 佑樹（三重県保健環境研究所）  
田邊 純子（奈良県保健環境研究センター）  
金山 知代（高知県衛生研究所）  
岡元 冬樹（福岡県保健環境研究所）  
穂積 和佳（鹿児島県環境保健センター）  
岡野 祥（沖縄県衛生環境研究所）  
新垣 絵里（沖縄県衛生環境研究所）  
倉井 大輔（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
皿谷 健（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
石井 晴之（杏林大学医学部附属病院呼吸器内科）  
野田 雅博（国立感染症研究所感染症疫学センター）  
木村 博一（国立感染症研究所感染症疫学センター）

**研究要旨** 10道県における成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症について、2013年度は4例、2014年度は13例、計17例が報告された。患者の年齢は24～96.1歳と幅広く分布し、平均値が72.1歳、中央値が76.0歳であった。これらの患者のうち菌血症を伴う肺炎を呈した患者が、送付菌株数の半数以上を占め（10/17, 58.8%）、特に80歳以上の高齢者に多く認められた。17症例からの分離菌株について精査したところ、莢膜型別用免疫血清によるスライド凝集法およびPCR法により、分離菌株のすべてがnon-typable *Haemophilus influenzae*であった。また、生化学性状検査により生物型は、I、II、III、VおよびVIに分類され、分離菌株の多くはIIおよびIII型であった。薬剤感受性については、分離菌株の過半数がアンピシリンおよびアンピシリン/スルバクタムに耐性を示したが、他の供試薬剤には分離菌株のほとんどは感受性を示した。これらのことから、今後とも成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症由来株の継続的な解析が必要であるとともに、各自治体レベルで本感染症の流行を監視していくことが必要であることが示唆された。

### A. 研究目的

平成25年4月から、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の一部が改正され、

「侵襲性肺炎球菌感染症」および「インフルエンザ菌感染症」が5類感染症に追加された。これにより、地方自治体はそれぞれの疾病の発生状況を各



自治体レベルで把握することが可能になった。一方、侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症の予防のため、平成25年度から小児を対象としたPCV7またはPCV13、Hibワクチンが、また、平成26年10月から高齢者を対象としてPPV23が公費助成の対象となったことから、本疾病の患者から分離される菌株の血清型に強い関心が寄せられている<sup>1-3)</sup>。また、インフルエンザ菌も成人の市中肺炎の原因菌であるが、本邦における成人の侵襲性インフルエンザ感染症に関する詳細はよくわかっていない。

そこで本分担研究では、成人における侵襲性インフルエンザ菌感染症の地方衛生研究所（以下、地衛研）への検査導入および地衛研から国立感染症研究所（以下、感染研）に送付された患者由来菌株について細菌学的検査を実施した。

## B. 研究方法

### 1. 対象地衛研

2013年度から継続して参加している9地衛研および2014年度新規に協力が得られた3地衛研を対象とした。

### 2. 菌株の収集

2013年度に確立した各自治体に応じた収集方法により菌株を収集し、地衛研を経由して感染研に送付するように調整した。

### 3. 侵襲性細菌感染症実技研修

2013年度に引き続き、2014年度も希望する地衛研を対象に侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症に関する実技研修を実施した。研修は、特に肺炎球菌に関するMultiplex Serotyping PCR法の導入<sup>4, 5)</sup>を主として実施した。

### 4. 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株の細菌学的精査

地衛研経由で感染研に送付された侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株について、それらの患者情報、血清型、生物型、薬剤感受性について精査した。薬剤感受性試験については、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) の6薬剤についてEtestおよびヘモフィリステスト

ト寒天培地 (BD) を用いて実施した。

## C. 研究結果

### 侵襲性細菌感染症研修の実施

2013年度は、以下の8自治体から研修の希望があった。すなわち、山形県、新潟県、三重県、奈良県、高知県、福岡県、鹿児島県、および沖縄県であった。一方、2014年度については希望を募ったところ、北海道立衛生研究所、札幌市衛生研究所から要望があったため、2014年8月7～8日に感染研山庁舎で上記地衛研の職員3名を対象に研修を実施した。また、その後群馬県衛生環境研究所からも要望があったため、2015年1月19～29日に感染研村山庁舎で1名を対象に研修を実施した。主たる研修内容は、肺炎球菌の血清型スクリーニング検査としてMultiplex serotyping PCR法を実施した。肺炎球菌の血清型は、必ずしもPCR法のみでは確定できないため、SSIなどの抗血清を用いた莢膜膨潤化法により確定した。ただし、コスト面などから地衛研に導入する検査法として膨潤法は現実的ではないため、感染研に菌株を送付して実施している (図1)。一方、インフルエンザ菌については、市販莢膜型別用免疫血清 (デンカ生研) によるスライド凝集反応およびPCR法<sup>6, 7)</sup>により血清型別の実習を実施した。また、両菌種とも一般的な培養法による同定方法について研修を実施した。すなわち、各種培地における発育状況の観察、ヘモフィルス鑑別用培地 (極東) における各区画における発育状況差異および性状を確認した。なお、インフルエンザ菌の血清型別において、抗血清のすべてに凝集が認め

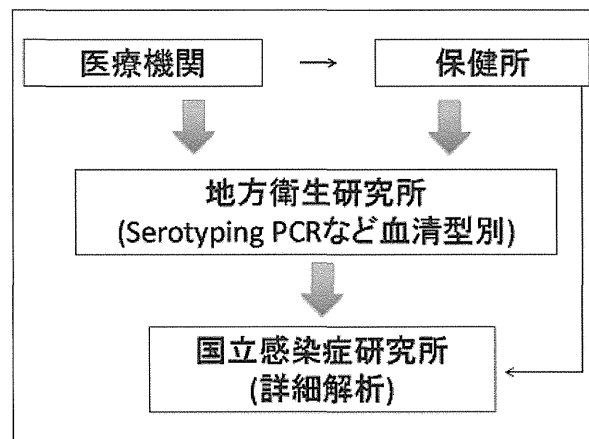


図1 侵襲性インフルエンザ菌の輸送フローの流れ

られなかった場合は、莢膜形成に関わる特異遺伝子をターゲットとしたPCR法<sup>6-8)</sup>の結果から血清型を決定した。なお、Multiplex Serotyping PCR法については、研修実施回により泳動バッファーや電気泳動条件を変化させて検討した。その結果、TAEとTBEバッファーとで泳動像に明確な違いは認められなかった。また、泳動条件についても、50V、1.5時間と100V、30分とで大きな差異は認められなかった。さらには、Multiplex Serotyping PCRにおいて複数のバンドが観察された場合は、対象となる血清型のプライマーを用いてsingle PCRを実施して血清型を決定した。なお、供試した菌株は、本年度実際に研修に参加した地衛研から感染研に送付された菌株を用いた。これらの検査法は地方衛生研究所においても対応できることが示唆された。

### 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来株の収集状況

侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株は、2013年度および2014年度で計17株送付され、それら菌株の地域別送付数を図2に示した。分離菌株は西日本からの送付が多かった。

### 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来株の年齢分布および所見

送付された菌株の患者調査票に基づいて、患者の年齢、性別、診断所見および基礎疾患について表1および表2に示した。男女比は、男性10名に

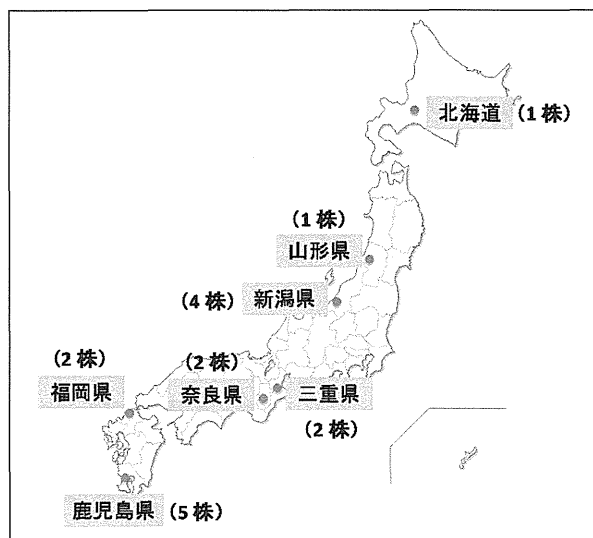


図2 侵襲性インフルエンザ菌の収集状況 (2013.4~2015.1)

表1 分離菌株の患者年齢分布および診断名

診断名	年齢	20~30歳	30~40歳	40~50歳	50~60歳	60~70歳	70~80歳	80歳以上	計
菌血症を伴う肺炎					1	2	1	6	10
敗血症							2		2
敗血症および菌血症			1					1	2
菌血症							1		1
髄膜炎					1				1
菌血症を伴う副鼻腔炎		1							1
計		1	1		2	2	4	7	17

表2 送付菌株に関する患者の年齢、性別および基礎疾患

番号	性別	年齢(年)	診断名	基礎疾患
1	M	71.2	菌血症を伴う肺炎	気管支ぜんそく
2	F	96.1	菌血症を伴う肺炎	
3	M	86	菌血症を伴う肺炎	
4	F	57.3	菌血症を伴う肺炎	うつ病
5	M	67.3	菌血症を伴う肺炎	COPD
6	M	64.5	菌血症を伴う肺炎	悪性腫瘍
7	M	88.8	菌血症を伴う肺炎	
8	M	70.9	敗血症	
9	M	90.4	菌血症を伴う肺炎	脳梗塞後遺症
10	F	36.3	敗血症および菌血症	慢性肝疾患
11	F	93.2	菌血症を伴う肺炎	
12	M	24	菌血症を伴う副鼻腔炎	
13	F	79	敗血症	腎不全、ANCA関連血管炎
14	M	76	菌血症	
15	F	57	髄膜炎	糖尿病、混合性結合組織病、関節リウマチ、シーゲル症候群
16	M	80.2	敗血症および菌血症	成人型T細胞白血病、慢性呼吸器疾患
17	F	86.3	菌血症を伴う肺炎	脳梗塞後遺症

対し女性が7名であった。患者の年齢は24~96.1歳と幅広く分布し、平均値が72.1歳、中央値が76.0歳であった。これらの患者のうち菌血症を伴う肺炎を呈した患者は、送付菌株数の半数以上を占め(10/17、58.8%)、特に80歳以上の高齢者に多く認められた。また、多くの患者は、慢性呼吸器疾患(COPD、気管支喘息など)、糖尿病、慢性肝疾患、悪性腫瘍、脳梗塞後遺症、関節リウマチ、自己免疫疾患など、何らかの基礎疾患を有することが認められた。

### 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株の血清型

地衛研から感染研に送付された侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株は、2013年度は4株、2014年度は17株(2015年1月末現在)であった。これら17菌株のうち、16株が莢膜型別用免疫血清で特異的凝集を示さず、また、PCR法<sup>6,7)</sup>によっても特異的バンドは認められなかった。また、1株がa~fすべての免疫血清および生理食塩水で凝集を示したが、PCR法で**bexB**遺伝子のバンドが確認されなかったため、今回送付された17株すべてをnon-typable *Haemophilus influenzae*

表3 分離菌株の莢膜血清型

Serotype	a	b	c	d	e	f	NTHi
菌株数	0	0	0	0	0	0	17

(NTHi) と判定した (表3)。

### 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株の生物型

インフルエンザ菌は、インドール産生能、ウレアーゼおよびオルニチンデカルボキシラーゼ活性などの生化学性状により、I～VIII型およびaegyptiusに分類される。今回送付された分離菌株について簡易同定キット (api NH、ピオメリユー) を用いて菌同定および生物型別を実施したところ、すべての菌株が*H. influenzae*であり、生物型は、I型が3株、II型が8株、III型が4株、V型が1株およびVI型が1株であった。17株の生物型は、多くの無莢膜型が属するII型およびIII型が多く、自然凝集を示した菌株はI型であった (表4)。

表4 分離菌株の生物型

biotype	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
菌株数	3	8	4	0	1	1	0	0

### 薬剤感受性試験

ABPC、ABPC/SBT、PIPC、MEPM、CTX、CTRXの6薬剤についてEtestを用いて薬剤感受性試験を実施したところ、ABPC、ABPC/SBTに耐性を示す株がそれぞれ8株および9株認められた。一方、PIPC、MEPM、CTXに耐性を示す株がそれぞれ1株ずつであり、CTRXに関してはすべてが感受性を示した。また、セフィナーゼ試験によりβ-lactamase産生菌が2株認められ、それらの菌株は同一地方から送付された菌株であった。なお、本結果について解析するにあたり、

表5 分離菌株の薬剤感受性

	ABPC	ABPC/SBT	PIPC	MEPM	CTX	CTRX
Sensitive	9	8	16	16	16	17
Resistance	8	9	1	1	1	0

・β-lactamase産生菌：2株検出  
 ・日本化学療法学会が示す臨床的ブレイクポイントを採用 (BP= 1 μg/mL)

日本化学療法学会が示す臨床的ブレイクポイントを採用した (BP = 1 μg/mL) (表5)。

### D. 考察

平成25年度から侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症が五類感染症として位置づけられたことや、肺炎球菌に関しては、ワクチン接種に関する公的助成が実施されたことなどから、地方自治体においてこれら疾患の情報収集および分離菌株の性状を把握することは重要である。特に、平成26年10月からは高齢者を対象としたPPV23が公費助成の対象となったことから、成人の侵襲性肺炎球菌感染症のサーベイランスは重要である<sup>9, 10)</sup>。一方、侵襲性インフルエンザ菌感染症に関しては、インフルエンザ菌b型 (Hib) を原因菌とする小児の敗血症、細菌性髄膜炎のほとんどが、Hibワクチンの導入により世界的レベルで激減している<sup>11)</sup>。その一方で、Hibの減少に呼応してNTHiによる侵襲性インフルエンザ菌感染症が報告されるようになった<sup>12)</sup>。

侵襲性インフルエンザ菌感染症に関しては、小児領域においては多くの研究報告がなされているが、成人の侵襲性インフルエンザ菌に関する報告は少ない。今回の結果から、本疾患は特に基礎疾患を有する高齢者に好発し、かつ、莢膜血清型がすべてNTHiであることが判明した。NTHiは、莢膜を有する菌株と比較して、莢膜多糖合成遺伝子が欠損し莢膜型とは遺伝子レベルで同系列でない報告がされている<sup>13)</sup>。このことから、NTHiは、単純に莢膜を欠損したインフルエンザ菌であるとみなすことはできないと考えられる。これらのことから、今後菌株側と生体側との相関関係についての解析が必要であると思われる。なお、分離菌株の莢膜血清型がすべてNTHiであったことから、今後血清型タイピングに変わる指標も必要であることが示唆された。

今回生物型について検討したところ、I型、II型、III型、V型およびVI型5型に分類された。今回の分離株のほとんどが莢膜欠損株が属するIIおよびIII型に分類されたものの、同じNTHi株でも生物型が多岐にわたることから、今後分離菌株のさらなる精査が必要であると考えられた。

薬剤感受性に関しては、PIPC、MEPM、CTX

およびCTRXにはほぼすべての分離株が感受性を示した。一方、ABPCおよびABPC/SBTには、約半分の分離株が耐性を示し、 $\beta$ -lactamase産生菌が2株認められた。小児での調査ではあるが、本邦をはじめとして世界的にも $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant (BLNAR) および $\beta$ -lactamase producing ampicillin resistant (BLPAR) の検出事例が多くなっていることから<sup>14, 15)</sup>、成人においても監視体制を強化する必要があると思われた。

本研究において、地方衛生研究所が積極的に侵襲性細菌感染症技術研修に参加し、自施設においてこれらの病原体に関する細菌検査を導入するに至ったのは、自治体における侵襲性細菌感染症に関するサーベイランス構築に大きな前進であると考えられる。なお、本研修については、地衛研からの要望により今後も実施する予定である。

## E. 結論

地衛研から侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株が順調に送付されつつある。これらの疾病の血清型などの菌株情報を把握することは、今後のワクチン開発および感染症行政対応における重要なファクターであることから、今後も継続していくことが必要であることが示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的財産の出願・登録状況

なし

## 参考文献

- 1) ACIP Provisional Recommendations for Use of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine (PCV13) Among Infants and Children, February 24, 2010.
- 2) CDC. Licensure of a 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine (PCV13) and Recommendations for Use Among

Children ACIP. MMWR March 12, 2010: 258-261.

- 3) IASR Vol. 34, 2013: 64-66.
- 4) Pai R, Gertz RE, Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. Journal of Clinical Microbiology. 2006; 44: 124-131.
- 5) Carvalho Mda G, Pimenta FC, Gertz RE Jr, et al. PCR-based quantitation and clonal diversity of the current prevalent invasive serogroup 6 pneumococcal serotype, 6C, in the United States in 1999 and 2006 to 2007. Journal of Clinical Microbiology. 2009; 47: 554-559.
- 6) Falla, T. J., Crook, D. W. M., Brophy, L. N., Maskell, D., Kroll, J. S. and Moxon, E. R. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. J. Clin. Microbiol. 1994; 32: 2382-2386.
- 7) van Ketel RJ, de Wever B, van Alphen L. Detection of *Haemophilus influenzae* in cerebrospinal fluids by polymerase chain reaction DNA amplification. J Med Microbiol. 1990; 33 (4): 271-276.
- 8) Davis GS, Sandstedt SA, Patel M, Marrs CF, Gilsdorf JR. Use of *bexB* to detect the capsule locus in *Haemophilus influenzae*. J Clin Microbiol. 2011; 49 (7): 2594-2601.
- 9) Maruyama T, Taguchi O, Niederman MS, Morser J, Kobayashi H, Kobayashi T, D'Alessandro-Gabazza C, Nakayama S, Nishikubo K, Noguchi T, Takei Y, Gabazza EC. Efficacy of 23-valent pneumococcal vaccine in preventing pneumonia and improving survival in nursing home residents: double blind, randomised and placebo controlled trial. BMJ. 2010; 8; 340: c1004.
- 10) Agrawal A, Murphy TF. *Haemophilus influenzae* infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era. J Clin Microbiol. 2011; 49 (11): 3728-3732.