過去 4 年間に於ける当院での *Haemophilus influenzae* の細菌学的検討

山本 絢子¹⁾ 原田 一²⁾ 山田美恵子¹⁾ 太田 求磨³⁾

Bacteriological study of *Haemophilus influenzae* in Niigata Prefectural Central Hospital for four years

Ayako YAMAMOTO¹⁾ Hajime HARADA²⁾ Mieko YAMADA¹⁾ Kyuma OTA³⁾

1) Department of Clinical Laboratory, Niigata Prefectural Central Hospital (205, Shinnan-cho, Joetsu-shi, Niigata, 〒943-0192, Japan)

2) Department of Clinical Laboratory, Niigata Prefectural Tokamachi Hospital 3) Division of Internal Medicine, Niigata Prefectural Central Hospital

Summary

We investigated the resistance of 846 strains of *Haemophilus influenzae* isolated from clinical materials in our hospital between January 2008 and December 2011. The detection rate of β -lactamase-negative ABPC-resistant *H. influenzae* (BLNAR) increased remarkably from 28.1% in 2009 to 53.7% in 2010. The rate of BLNAR from epipharyngeal mucus and sputum increased in all age groups. Furthermore, cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), cefditoren pivoxil (CDTR-PI), meropenem (MEPM), and levofloxacin (LVFX) showed higher antibacterial activity.

キーワード

Haemophilus influenzae BLNAR BLNAS 薬剤感受性試験

Haemophilus influenzae (以下 *H. influenzae*) は中耳炎、上気道感染症や肺炎といった呼吸器感染症の主要な起炎菌であり、特に乳幼児においては、細菌性髄膜炎の重要な原因菌のひとつである。近年、*H. influenzae* の抗菌薬への耐性化が進んでおり、特に BLNAR (β -lactamase negative ABPC resistant *H. influenzae*) の増加が、急速に進んでいる。そこで、当院の 4 年間に於ける *H. influenzae* の薬剤感受性推移について検討した。

I 対象と方法

2008 年 1 月～2011 年 12 月の 4 年間に当院にて分離された *H. influenzae* のうち、薬剤感受性試験を実施した 846 株を対象とした。また同一患者の同一材料から分離された場合は 1 件／月として集計した。この

対象とした 846 株を用いて以下の 4 項目について調査し、当院での *H. influenzae* 分離動向について検討した。

1. *H. influenzae* 材料別分離状況

対象の *H. influenzae* 846 株が分離された材料について調査を行い、材料別の検出状況について検討した。

2. 耐性菌年次推移

分離した *H. influenzae* の耐性菌検出状況を 2008～2011 年の年ごとに調査し、比較検討を行った。*H. influenzae* は、 β -ラクタマーゼ産生の有無と ampicillin (ABPC) の最小発育阻止濃度 (MIC) により耐性菌の識別を行った。 β -ラクタマーゼ非産生かつ ABPC の MIC が $1\mu\text{g/ml}$ 以下の場合を、 β -lactamase negative ABPC susceptible *H. influenzae* (BLNAS), ABPC の MIC が $2\mu\text{g/ml}$ 以上を、 β -lactamase negative ABPC resistant *H. influenzae* (BLNAR), β -ラクタ

1) 新潟県立中央病院臨床検査科 (〒943-0192 新潟県上越市新南町 205 番地) 2) 新潟県立十日町病院検査科 3) 新潟県立中央病院内科 (平成 25 年 5 月 10 日受付・平成 25 年 7 月 9 日受理)

マーゼ産生かつ ABPC の MIC が $2\mu\text{g/ml}$ 以上を、 β -lactamase positive ABPC resistant *H. influenzae* (BLPAR) とした。なお、 β -ラクタマーゼ産生の有無は、セフィナーゼテスト(日本 BD)を使用してニトロセフィン法にて行った。また、統計解析については χ^2 検定を実施し、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

3. 材料別 BLNAR 検出状況

BLNAR が検出された材料別にまとめ、各材料の BLNAR 検出状況が年ごとに変化があったかについて検討を行った。また、上咽頭粘液と喀痰から分離された *H. influenzae* の耐性菌検出状況の年次推移をまとめ、この 2 材料において BLNAR の検出状況がどのように変化したかについて検討した。

4. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、調製した菌液を HTM プロセスに接種し、Micro FAST 4J(シーメンス)を用いて CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) に準拠して感性(S)、中間(I)、耐性(R)を判定し、BLNAS、BLNAR、BLPAR の菌群ごとにまとめた。また抗菌薬は cefotiam (CTM)、cefotaxime (CTX)、ceftazidime (CZOP)、ceftriaxone (CTRX)、sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC)、cefditoren pivoxil (CDTR-PI)、meropenem (MEPM)、levofloxacin (LVFX) の 8 薬剤について検討を行った。判定基準が感性(S)のみ設定されている薬剤については、その値から外れたものを N/A (Not/Applicable) とした。

II 結 果

1. *H. influenzae* 材料別分離状況

4 年間に分離された *H. influenzae* の材料別分離状況を、図 1 に示す。上咽頭粘液、喀痰の順で検出数が多く、この 2 材料で 83.9% を占めていた。その他に耳漏、尿、扁桃粘液、生殖器検体などさまざまな材料から分離されており、静脈血からは 8 株、髄液より 2 株が分離された。

2. 耐性菌年次推移

図 2 に *H. influenzae* の耐性菌検出状況の年次推移を示す。BLNAR の検出率は、2010 年に 53.7% となり、2010 年以降は 50% 強を BLNAR が占めた。また、BLPAR の検出率は 2008 年の 2.8% と比較し、2009 年以降は増加傾向を示した ($p < 0.05$)。

図 1 材料別検出状況 (n=846)

図 2 *H. influenzae* 耐性菌分離年次推移

3. 材料別 BLNAR 検出状況

BLNAR の材料別検出状況の年次推移を図 3 に示す。上咽頭粘液からの検出が 49.1~74.5% と最も多く、次いで喀痰が 13.7~24.0% を占めた。また上咽頭粘液の培養提出件数は 2008 年 280 件、2009 年 595 件、2010 年 659 件、2011 年 747 件と 2009 年に前年の倍に件数が増加していた。2009 年には培養件数が 2008 年の倍近くに増えたことで同材料からの *H. influenzae* 全分離数も 79 株から 135 株と倍以上に増加した。

BLNAR 検出数の特に多かった上咽頭粘液と喀痰についてさらに検討を行った。図 4 の年次推移では、統

図 3 BLNAR 材料別検出状況年次推移

1) 上咽頭粘液

2) 喀痰

図4 耐性菌年次推移(上)および年齢別分離数(下)

計解析にて有意差 ($p < 0.05$) があった群のみ解析結果を、年齢別分離数グラフについては各年齢層の BLNAR 検出率 (%) のみ表示する。上咽頭粘液では 2010 年以降その 50% 強を BLNAR が占めていた。そこで、BLNAR と BLNAS の検出率が逆転した 2009 年と 2010 年を境にして 2 群に分け、年齢別に比較を実施した。両群とも *H. influenzae* の年齢別分離数は 1 歳にピークを認めた。BLNAR 検出率は、2008～2009 年が 29.1～42.1% に対し 2010～2011 年では 46.9～65.2% と、どの年齢層でも増大していた。

喀痰についても、BLNAR の検出率は 2009 年から 2010 年にかけて大きく変化した。上咽頭粘液と同様に 2009 年と 2010 年を境として 2 群に分け、年齢別に比較を行った。両群とも 20 歳以上の成人患者については 71 歳以上に分離数のピークを認めた。特に 61～70 歳の年齢層については、2010～2011 年で *H. influenzae* 分離数が 2008～2009 年の 1.9 倍に増加した。BLNAR 検出率は、成人患者の全年齢層で上咽頭粘液と同様に 2008～2009 年の 17.9～40.0% に対し、2010～2011 年では 36.5～80.0% に増大していた。

4. 薬剤感受性結果

BLNAS, BLNAR, BLPAR に分類した *H. influenzae* の各抗菌薬の感受性比率の年次推移について表 1 に示す。

1) BLNAS

CTX, CTRX, CDTR-PI, SBT/ABPC, LVFX について良好な感受性成績を示した。また、CTM で 7.9～14.2%, CZOP では 17.2～34.8% 低感受性株が存在した。

2) BLNAR

CTM の低感受性株は 49.2% から 84.0%, SBT/ABPC では 43.9% から 73.6% と年々増加傾向を示した。また CZOP は 87.3～96.0% と耐性率が高かった。一方で CTX, CDTR-PI, LVFX, CTRX, MEPM は良好な感受性成績を示した。

3) BLPAR

BLNAS, BLNAR と同様に CTX, CTRX, CDTR-PI, LVFX について良好な感受性成績を示した

て調査を行った。BLNAR の検出率は 2009 年と 2010 年を境にして 25.6% も増加し、急速に耐性化が進んだことがわかった。*H. influenzae* 全分離数の 80% を占める上咽頭粘液と喀痰からの BLNAS と BLNAR 検出率が、ともに同 2 年間で境にして逆転した。免疫的に未熟な乳幼児では、保育園や幼稚園などでの集団生活により耐性菌が容易に伝播されやすく、増加の要因となっていると報告されている^{1,7)}。今回の調査でも、耐性化が進んだ 2010 年以降の上咽頭粘液からの分離数を年齢別でみた場合、3 歳以下の乳幼児は、全体の 79.1% を占めていた。分離数のピークである 1 歳では BLNAR 検出率が 58.5% であり、3 歳以下でも 55.6% が BLNAR と、低年齢層での耐性菌増加は明らかであった。喀痰でも全年齢層において、2010 年以降の BLNAR 検出数の増加を認めた。特に 61～70 歳において顕著であったが、*H. influenzae* 分離数のピークである 71 歳以上では BLNAR 検出率が 36.6% と、全年齢層において最も低かった。また、60 歳以下では *H. influenzae* 分離数自体は少ないが、BLNAR の占める割合は高かった。今回の調査からもわかるように喀痰からの *H. influenzae* 分離数は、特に免疫力の低下した高齢者に多い。今後高齢社会を迎えるにあたり、デイサービスや養護老人ホームといった老人福祉施設での集団生活により乳幼児の場合のように耐性菌が広がることも懸念され、今後もその動向に注意が必要である。

H. influenzae の β -ラクタム系抗菌薬に対する耐性機序は、 β -ラクタマーゼ産生やペニシリン結合蛋白 (PBPs) の変異による β -ラクタム系抗菌薬に対する親和性の低下に起因する^{2,5)}。PBP は PBP 1～7 まで存在し、PBP への親和性が β -ラクタム系抗菌薬間での感受性の差に大きく影響しているといわれており、BLNAR はセフェム系抗菌薬が特に親和性を有する PBP 3 をコードする *fts I* 遺伝子上にアミノ酸変異が生じたため、ペニシリン系抗菌薬だけでなく、セフェム系薬の感受性も低下させると報告されている^{2,5)}。わが国における BLNAR の増加の背景として、経口セフェム薬の汎用が挙げられており、当院でも、特に小児科領域や成人の市中感染症例に対し、セフェム系抗菌薬が高頻度に使用されており、BLNAR 増加の一因となったと考えられた。今回の調査で、BLNAR の薬剤感受性率は、CTM や CZOP といった

III 考 察

今回、当院における *H. influenzae* の分離状況につい

表1 *H. influenzae* 薬剤感受性推移

1) BLNAS

	CTM				CTX				CZOP				LVFX			
年	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011
S	92.1	90.9	85.7	85.7	98.3	100.0	100.0	100.0	65.2	69.4	75.5	82.8	100.0	100.0	100.0	100.0
I	1.8	3.3	7.1	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
R	6.1	5.8	7.1	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	34.8	30.6	24.5	17.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	SBT/ABPC				MEPM				CDTR-PI				CTR-X			
年	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011
S	100.0	99.2	99.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
R	0.0	0.8	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

2) BLNAR

	CTM				CTX				CZOP				LVFX			
年	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011
S	50.9	41.8	32.6	16.0	96.5	100.0	97.0	98.4	7.0	12.7	4.5	4.5	100.0	100.0	100.0	100.0
I	19.3	10.9	5.3	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
R	29.9	47.3	62.1	82.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	3.5	0.0	3.0	1.6	93.0	87.3	95.5	96.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	SBT/ABPC				MEPM				CDTR-PI				CTR-X			
年	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011
S	56.1	54.5	39.4	26.4	93.0	90.9	85.6	80.0	100.0	100.0	99.2	98.4	100.0	100.0	100.0	100.0
I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
R	43.9	45.5	60.6	73.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	7.0	9.1	14.4	20.0	0.0	0.0	0.8	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0

3) BLPAR

	CTM				CTX				CZOP				LVFX			
年	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011
S	60.0	35.0	53.3	73.3	100.0	100.0	100.0	100.0	40.0	30.0	31.3	60.0	100.0	100.0	100.0	100.0
I	0.0	25.0	13.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
R	40.0	40.0	33.3	26.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	60.0	70.0	68.8	40.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	SBT/ABPC				MEPM				CDTR-PI				CTR-X			
年	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011	2008	2009	2010	2011
S	40.0	40.0	75.0	66.7	60.0	100.0	87.5	80.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
I	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
R	60.0	60.0	25.0	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	40.0	0.0	12.5	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

一部のセフェム系薬では大きな感受性の低下を示していたが、BLNAS と判定した菌の一部でも同様に CTM と CZOP 低感受性株が認められた。このことから、当院で BLNAS と報告した菌群に PBP 変異を有する株が含まれている可能性が示唆され、ABPC の MIC が低い場合でもセフェム系抗菌薬の薬剤感受性試験結果から BLNAR の可能性を検討すべきと考

えられた¹⁾。また近年、LVFX 耐性株が報告されているが、今回の調査では LVFX 耐性株は認められなかった。SBT/ABPC については、2011 年に BLNAR と判定された菌株の 73.6% が耐性であった。

当院では 2009 年から 2010 年に、急激に BLNAR が増加していた。菌に対する薬剤感受性には、施設間差、地域による差があるといわれており、今回の

当院の *H. influenzae* の薬剤感受性推移でみられた傾向に地域性があるのか、または当院のみの特徴であるのかについては今後も注視し、検討すべき課題である。

IV 結 語

2008～2011 年の 4 年間に当院で分離された *H. influenzae* の薬剤耐性推移について調査を行った。2009 年と 2010 年を境として、BLNAR の検出率が BLNAS の検出率を上回った。この傾向は、小児のみならず成人から提出された検体材料にも認められた。成人では、特に 61 歳以上の年齢層において *H. influenzae* が多く分離されており、今後の動向に注意が必要である。

■文献

- 1) 生方公子ほか：本邦において 1998 年から 2000 年の間に分離された *Haemophilus influenzae* の分子疫学解析，日本化学療法学会誌 2002；50：794-804.
- 2) Ubukata K *et al.*：Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*, Antimicrob Agents Chemother 2001；45：1693-1699.
- 3) 荻原恵理ほか：成人呼吸器感染症患者から分離されたインフルエンザ菌の薬剤耐性と耐性遺伝子変異の経年的検討，感染症学雑誌 2009；83：355-362.
- 4) 阿部 隆ほか：北海道の市中 6 施設における *Haemophilus influenzae* の検出状況と各種抗菌薬に対する薬剤感受性について，医学検査 2008；57：100-105.
- 5) 中村茂樹ほか：下気道由来検体から分離された β -lactamase non-producing ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) の分離頻度と薬剤感受性，日本化学療法学会誌 2009；57：32-36.
- 6) 星野 直ほか：小児臨床検体由来 *Haemophilus influenzae* の抗菌薬感受性に関する検討，感染症学雑誌 2004；78：943-951.
- 7) 松本歩美ほか：小児の上咽頭から分離された *Streptococcus pneumoniae* 及び *Haemophilus influenzae* の薬剤耐性化の現況，感染症学雑誌 2004；78：482-489.
- 8) 松本歩美ほか：小児の上咽頭から分離された *Haemophilus influenzae* の薬剤耐性化の動向，感染症学雑誌 2010；84：171-175.
- 9) 栗田 泉ほか：当院における β -ラクタマーゼ非産生・アンピシリン耐性 *Haemophilus influenzae* (BLNAR) の現状，医学検査 2003；52：829-833.
- 10) 西川宏一ほか：肺炎球菌とインフルエンザ菌の薬剤耐性における経年的検討(2005～2010 年)，医学検査 2012；61：534-540.