

【原著・臨床】

 β -ラクタマーゼ陰性, ampicillin 耐性インフルエンザ菌 (type b) による
化膿性髄膜炎および β -ラクタム薬に対する薬剤感受性森 川 嘉 郎・宍 田 紀 夫¹⁾

淀川キリスト教病院小児科*

¹⁾ 現: 大阪市立総合医療センター小児科

(平成9年12月8日受付・平成10年2月3日受理)

β -lactamase-negative (B-L-N), ampicillin (ABPC) resistant (MIC: 3.13 μ g/ml), *Haemophilus influenzae* type b による4か月男児の髄膜炎症例を報告した。ABPCでは髄液所見は改善したが subdural effusion を合併し、最終的に chloramphenicol により治癒させることができた。本院において分離されたインフルエンザ菌の1993年(前期)59株と1996年(後期)61株での β -lactamase-positive (B-L-P) 率は前期22%, 後期10%, B-L-NでABPCにMIC 1.56 μ g/ml以上の耐性菌は前期15%, 後期29%であった。B-L-P株を β -ラクタマーゼ阻害薬によって β -lactamase を失活させても感受性を復活しない菌株がみられた。B-L-N, ABPC耐性菌が約15~30%あり, しかも disk 法ではこれを検出することが困難である以上, インフルエンザ菌性髄膜炎の治療には ABPC は不適で, 今のところ耐性菌のない cefotaxime が望ましいと考えられる。

Key words: β -ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性インフルエンザ菌, 化膿性髄膜炎, ディスク感受性テスト

本邦の化膿性髄膜炎の主要原因菌は生後3か月までは大腸菌とB群溶連菌, 6か月から6歳未満は肺炎球菌とインフルエンザ菌, 3から6か月未満は4者が混在し, 6歳以上は圧倒的に肺炎球菌が多い¹⁻³⁾。本症の治療には, cefotaxime (CTX) と ampicillin (ABPC) が用いられることが多い。しかし, 近年各種抗菌薬に対して耐性を示す肺炎球菌⁴⁾, インフルエンザ菌^{5,6)}の増加傾向があるため, 常に臨床症状の経過観察と原因菌の感受性に注意することが必要である。

ペニシリン耐性肺炎球菌性髄膜炎では meropenem⁷⁾ (本邦では小児への使用は認められていない), あるいは vancomycin⁸⁾ への変更が必要である。また, インフルエンザ菌性髄膜炎については β -lactamase (B-L) 非産生で ABPC に感受性なら CTX を中止し, ABPC 単独で治療することが勧められている^{9,10)}。

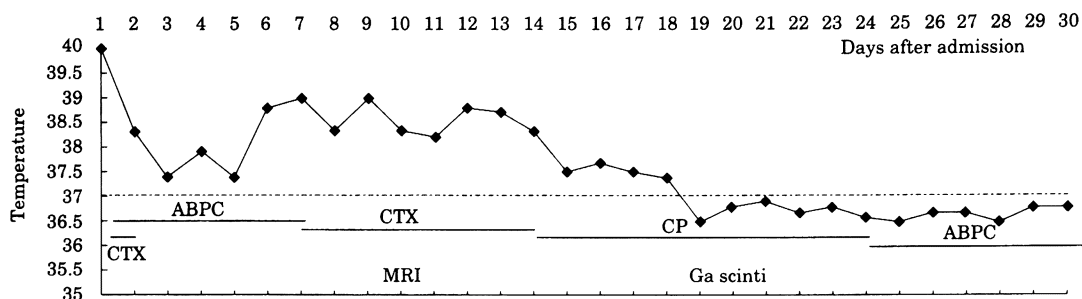
今回我々は disk 感受性テスト (昭和ディスク・昭和薬品化工) で ABPC に感受性, B-L 非産生と判定されたインフルエンザ菌性髄膜炎において ABPC を使用し治癒させることができなかった症例を経験したので報告し, あわせて本院におけるインフルエンザ菌の β -lactam 薬に対する感受性を報告する。

I. 症 例

Fig. 1 に経過を示す。患者は4か月の男児で, 1992年1月1日朝から哺乳力不良, 発熱, 夕方には顔色不良, 意識混濁し, 救急外来受診。受診時, 39.8℃, 痛

みに反応なし, 項部硬直 (+)。髄液検査は細胞数: 1,000/mm³, 蛋白量: 252 mg/dl, 糖量: 16 mg/dl, グラム染色: 陰性桿菌多数, 迅速診断 (ラテックス凝集反応 bioMerieux 社): *Haemophilus influenzae* type b 陽性。CRP: 28.7 mg/dl。インフルエンザ菌性髄膜炎と診断した。デキサメサゾン投与後, CTX 60 mg/kg \times 4, ABPC 60 mg/kg \times 4/day 開始, 第2病日, 初日の髄液検体から培養でインフルエンザ菌陽性, B-L 非産生を確認, CTX を2回投与後中止, ABPC 単独とした。デキサメサゾンは4日間投与した。第5病日 CRP は 7.4 mg/dl, 第7病日意識状態良好, 笑顔あり, 髄液は細胞数 56/mm³ まで減少していた。しかし, CRP は 23.2 mg/dl, 38.5~39.0℃ と再び高熱になった。ABPC 無効と判断し, CTX 48 mg/kg \times 4/day に変更。第10病日頭部 MRI 検査で前額部に硬膜下腔の軽度の拡大あり, 第14病日髄液細胞数が増加し (208/mm³), 発熱持続, 顔表情, 全身状態の改善が思わしくないため chloramphenicol (CP) 24 mg/kg \times 4/day に変更。第19病日に解熱, 第20病日¹¹⁾ GA シンチで前頭部に活動性病変がみられたが¹¹⁾, 第22病日の髄液細胞数は 30/mm³, 第24病日 CRP 1.0 mg/dl となり, CP を中止した。

11か月時頭部 CT 検査異常なし。1歳4か月の DQ は 94, 3歳の IQ は 100 で, 発育発達は順調である。原因菌の ABPC に対する MIC は 3.13 μ g/ml, CTX には 0.05 μ g/ml, CP には 1.56 μ g/ml で, 第22病日の



Days after admission	1	3	5	7	11	14	18	22	24	27	31
CSF											
cells (mm ³)	1,000	800		56		208		30			
poly: mono	68 : 32	92 : 8		81 : 19		42 : 58		25 : 75			
protein (mg/dl)	252	88.6		67		148		32.5			
sugar (mg/dl)	16	51		48		46		43			
culture	+	-		-		-		-			
Blood											
WBC (mm ³)	3,900		10,900	20,700	10,900	17,700	10,800	6,000	6,200	8,100	4,100
CRP (mg/dl)	28.7		7.4	23.2	10.6	16.1	8.6	2.3	1.0	0.2	0

ABPC: ampicillin, CTX: cefotaxime, CP: chloramphenicol, CRP: c-reactive protein

Fig. 1. Clinical course of β -lactamase-negative, and ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b meningitis.

CP 投与後 1 時間の髄液中濃度は 11.2 μ g/ml, 血中濃度は 27.0 μ g/ml であった。

II. インフルエンザ菌の薬剤感受性

1. 対象および方法

インフルエンザ菌株は臨床細菌検査室で 1993 年 1 月から 7 月の 7 か月間 (前期) と 1996 年 8 月から 97 年 3 月の 8 か月間 (後期) に分離された各々 59 株と 61 株を対象とした。前, 後期とも検体は喀痰, 咽頭粘液で前期では耳漏 3 検体, 後期では耳漏 2 検体, 鼻汁 2 検体を含んでいる。薬剤感受性試験に供した抗菌薬は ABPC, CTX, ticarcillin (TIPC), TIPC/clavulanate (CVA) の合剤 (TIPC 15 mg 力価: CVA 1 mg 力価の割合), ABPC/sulbactam (SBT) の合剤 (ABPC 2 mg 力価: SBT 1 mg 力価の割合) で, MIC 測定は日本化学療法学会標準法 (微量液体希釈法) に準じて行った。

ディスク感受性試験には昭和ディスク (1 濃度ディスク 30 μ g/disk) を用いた。B-L 産生能試験は症例の原因菌では cefinase Discs (BBL) でスクリーニングした。保存菌株についてはニトロセフィン (Oxoid) を用いた Broth method を用いた。

III. 結 果

前期の菌株の感受性を Table 1 に示した。59 株中 β -lactamase-positive (B-L-P) 株は 13 株, β -lactamase-negative (B-L-N) 株は 46 株で B-L-P 株が 22% を占めた。B-L-P 株は ABPC に対してほとんど耐性, CTX には感受性, TIPC には MIC₅₀ が 1.56 μ g/ml で中等度耐性であった。B-L-N 株について ABPC, TIPC, TIPC/CVA の MIC₅₀ は各々 0.39 μ g/ml, 0.2 μ g/ml, 0.2 μ g/ml, MIC₉₀ は 3 剤とも 1.56 μ g/ml で同じ値であった。Fig. 2 に ABPC に対する MIC 分布を示し

Table 1. MICs of four β -lactam agents against β -lactamase-positive and -negative strains of *Haemophilus influenzae* recovered during January through July 1993

Antimicrobial agent	β -lactamase (No. of strains)	Range	MIC (μ g/ml) ^{a)}	
			50%	90%
Ampicillin	positive (13)	0.78 - 100	12.5	50
	negative (46)	0.1 - 25	0.39	1.56
Cefotaxime	positive (13)	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	negative (46)	$\leq 0.025 - 0.1$	≤ 0.025	≤ 0.025
Ticarcillin	positive (13)	$\leq 0.025 - 6.25$	1.56	6.25
	negative (46)	$\leq 0.025 - < 100$	0.2	1.56
Ticarcillin-clavulanate ^{b)}	positive (13)	$\leq 0.025 - 1.56$	0.39	1.56
	negative (46)	$\leq 0.025 - < 100$	0.2	1.56

^{a)} 50% and 90%, MICs for 50 and 90% of isolates tested, respectively.

^{b)} The combination was tested at a constant ratio of 15 parts of ticarcillin to 1 part of clavulanic acid.

た。1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す β -L-N, ampicillin resistant *H. influenzae* (B-L-N-AR *H. i.*) は 7 株 (15%) であった。CTX について β -L-N 株の Range (≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ ~0.1 $\mu\text{g/ml}$) は B-L-P 株 (≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$) に比べ広く, β -L-N 株 46 株のうち ≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示す株は 42 株 (91%) で, 0.05 $\mu\text{g/ml}$ が 3 株, 0.1 $\mu\text{g/ml}$ が 1 株見られた。B-L-P 株における TIPC の

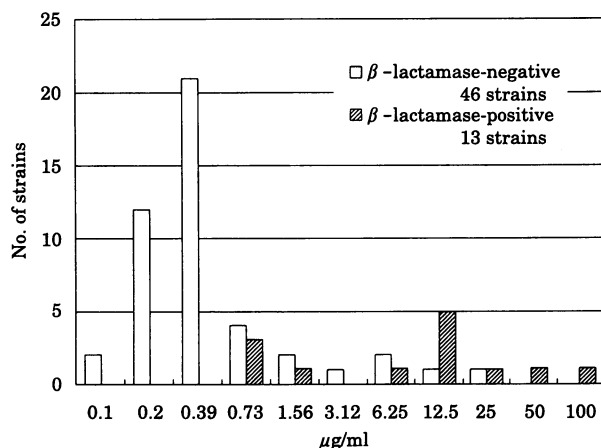


Fig. 2. Distribution of MICs of ampicillin against *Haemophilus influenzae* recovered during January through July 1993.

Range (≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ ~6.25 $\mu\text{g/ml}$) は CVA 添加により ≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ ~1.56 $\mu\text{g/ml}$ と狭くなった。1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す菌株は CVA 添加で 1~3 管の MIC 低下がみられたが, TIPC に感受性の菌株 (0.2 $\mu\text{g/ml}$ 以下) では MIC は変化しなかった。

Table 2 に後期分離菌の感受性を示した。B-L-P 株は 6 株 (10 %) で前期株と比べて少ない傾向が見られた。B-L-N 株 (55 株) の ABPC, CTX に対する感受性は前期株と同じで MIC₅₀ は各々 0.39 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 0.05 $\mu\text{g/ml}$ であった。CTX に対しては 51 株 (93%) の MIC が ≤ 0.05 $\mu\text{g/ml}$ であったが, Range は前期株より広くなり, MIC が 0.1 $\mu\text{g/ml}$ が 1 株, 0.2 $\mu\text{g/ml}$ が 3 株と高い MIC を示す株の増加傾向が見られた。B-L-P 株 6 株では SBT 添加によって ABPC に対する MIC₅₀ は 100 $\mu\text{g/ml}$ から 6.25 $\mu\text{g/ml}$ まで 4 管の低下が見られたが, ABPC/SBT に対する Range は 1.56~25 $\mu\text{g/ml}$ で B-L-N 株の ABPC に対する Range (0.39 $\mu\text{g/ml}$ ~6.25 $\mu\text{g/ml}$) よりかなり高い値を示した。B-L-N-AR (MIC 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以上) は 55 株中 16 株 (29 %) で前期より増加傾向が見られた (Fig. 3)。

IV. 考 察

本症例では原因菌の ABPC に対する MIC が 3.13

Table 2. MICs of three β -lactam agents against β -lactamase-positive and -negative strains of *Haemophilus influenzae* recovered during August 1996 through March 1997

Antimicrobial agent	β -lactamase (No. of strains)	Range	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a	
			50%	90%
Ampicillin	positive (6)	50 - <800	100	<800
	negative (55)	0.39 - 6.25	0.39	3.13
Ampicillin-sulbactam ^b	positive (6)	1.56 - 25	6.25	25
	negative (55)	0.39 - 6.25	0.39	3.13
Cefotaxime	positive (6)	≤ 0.05 - 0.2	≤ 0.05	0.2
	negative (55)	≤ 0.05 - 0.2	≤ 0.05	≤ 0.05

^a 50% and 90%, MICs for 50 and 90% of isolates tested, respectively.

^b The combination was tested at a constant ratio of 2 parts of ampicillin to 1 part of sulbactam.

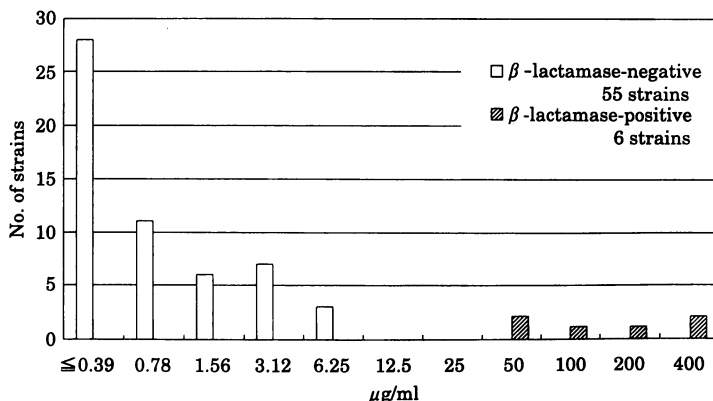


Fig. 3. Distribution of MICs of ampicillin against *Haemophilus influenzae* recovered during August 1996 through March 1997.

$\mu\text{g/ml}$ と高かったためか、髄液所見はかなり改善したが解熱しなかった。ABPC の次に使用した CTX の MIC は $0.05 \mu\text{g/ml}$ と低かったが、投与中に髄液所見は悪化し、CRP も高値になった。この理由は第 10 病日の頭部 MRI 検査で明らかになった硬膜下腔の軽度の拡大の中に菌がいたため、この部分に CTX が移行しにくかったのか、あるいは、髄液中濃度を測定していないので明確な判断はできないが、さきに使用された ABPC によりある程度髄膜の炎症が軽快し、CTX の髄液中移行が抑制されたのかもしれない。最終的に血液脳関門を通過しやすい CP (MIC は $1.56 \mu\text{g/ml}$) に変更して治癒させることができた。本症での抗菌薬選択は Textbook¹⁰⁾ にのっとった方法であったが失敗例となった。このような B-L-N-AR *H. i* による髄膜炎の報告は欧米では散見されるが¹²⁻¹⁴⁾ 本邦では見られない。その理由は本邦では B-L-N の ABPC 耐性菌はほとんどないと考えられ、本菌に対する認識が低かったためと思われる¹⁰⁾。

そこで本院におけるインフルエンザ菌の ABPC に対する薬剤感受性について検討した。インフルエンザ菌の耐性機構は B-L の産生¹⁵⁾、penicillin-binding-protein (PBP) の変化¹⁶⁾、細胞壁の Permeability の変化に分類される¹⁷⁾。B-L の産生の有無はニトロセフィン法、ヨード澱粉法、アシドメトリー法で判定できるが、PBP あるいは Permeability の変化によるであろう B-L-N で ABPC に耐性を示す菌株を従来の昭和ディスク感受性テストで見つけることはほとんど不可能である。昭和ディスクの判定表によれば 3+, 2+ に相当する MIC は各々約 $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以下と $6.25 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ となっている。このような判定基準では B-L-N 株で $1.56 \mu\text{g/ml}$ の耐性を示す菌であってもほとんどが 3+, 一部は 2+ の感受性と判定されることになる。実際、今回の実験の菌株について B-L-N の菌株はすべて感受性 (3+) と報告されていた。これらの耐性菌を disk 法で検出するには ABPC を $2 \mu\text{g}$ 含んだ disk¹⁸⁾、あるいは cloxacillin を $10 \mu\text{g}$ 含んだ disk を使用する¹⁹⁾ などの工夫が必要である。

B-L 阻害薬添加によって B-L 産生菌の ABPC, TIPC に対する MIC は低下したが、ABPC と SBT の組み合わせでは全株とも ABPC/STB に対してまだ $1.56 \mu\text{g/ml}$ 以上の耐性であり、B-L 陽性と判定された菌に ABPC/STB, TIPC/CVA を使用しても感受性にならないこともある。

前期、後期全体では約 30~35% が ABPC 耐性になっている。耐性菌出現状況は欧米より日本が多く、抗菌薬の使用法に問題があるのかも知れない^{5,20)}。このように耐性菌が多いにも関わらず臨床上注目されることが少なかったのは、ペニシリン耐性肺炎球菌と同様に²¹⁾ 呼吸器感染症では感染巣での ABPC の濃度が MIC よ

り十分高く、難治化しにくいこと、また、まだ CTX に耐性菌が見られないことが考えられる。しかし、本研究でも CTX に対する MIC の上昇傾向が見られ、文献上でも他の β -lactam 薬での耐性が報告されているので^{5,20)}、今後第 3 世代セフェムの感受性動向にも注意が必要である。

インフルエンザ菌性髄膜炎は米国ではワクチン導入により少なくなっているが²²⁾、本邦 (1991 年から 1994 年) では全髄膜炎の 63.8% を占め³⁾、今でも小児感染症での重要な疾患の 1 つである。本稿で述べたように耐性菌が多い状態では disk 感受性テストで感受性と判定された B-L-N でも ABPC で治療することは危険で、CTX を選択すべきであろう。しかし、わずかな MIC の上昇で治療失敗になることがあるので、常に臨床症状を観察し、MIC あるいは髄液中抗菌薬力価²³⁾ を測定して適正な抗菌薬を選択することが重要である。

なお本論文の症例は第 25 回日本小児感染症学会 (1993) で発表した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、論文の御校閲を賜りました神戸市立看護短期大学小林 裕名誉教授に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) 小林 裕, 春田恒和, 森川嘉郎, 他: 本邦における 1966 年以降 13 年間の小児化膿性髄膜炎の動向。127 施設におけるアンケート調査成績。Jap J Antibiot 32: 795~803, 1979
- 2) 藤井良知, 平岩幹男, 野中千鶴, 他: 本邦における 1979 年以降 6 年間の小児化膿性髄膜炎の動向。感染症誌 60: 592~601, 1986
- 3) 小林 裕, 春田恒和, 森川嘉郎, 他: 本邦 27 施設における 1981 年以降 14 年間の小児化膿性髄膜炎の起炎菌の動向。感染症誌 71: 1017~1024, 1997
- 4) Ubukata K, Asahi Y, Okuzumi K, et al.: Working Group for Penicillin-resistant *S. pneumoniae*: Incidence of penicillin-resistant *S. pneumoniae* in Japan, 1993-1995. J Infect Chemother 1: 177~184, 1996
- 5) Williams J D, Powell M, Fah Y S, et al.: In vitro susceptibility of *Haemophilus influenzae* to cefaclor, cefixime, cefetamet and loracarbef. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 11: 748~751, 1992
- 6) Mendelman P M, Henritzy L L, Chaffin D O, et al.: In vitro activities and targets of three cephem antibiotics against *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother 33: 1878~1882, 1989
- 7) Klugman K P, Dagan R, and The meropenem meningitis study group: Randomized comparison of meropenem with cefotaxime for treatment of bacterial meningitis. Antimicrob Agents Chemother 39: 1140~1146, 1995
- 8) Viladrich P F, Gudiol F, Linares J, et al.: Evaluation of vancomycin for therapy of adult pneumococcal meningitis. Antimicrob Agents

- Chemother 35: 2467~2472, 1991
- 9) Nelson W E, Behrman R E, Kliegman R M, et al.: Textbook of Pediatrics. 15th edition, p. 707~713, W. B. Saunders company, Philadelphia Pennsylvania, 1996
- 10) 上原すず子: インフルエンザ菌感染症。小児科診療増刊号 52: 175~178, 1989
- 11) 小林肇子, 山田哲也, 竹本正和, 他: ^{67}Ga シンチが有用であった細菌性髄膜炎の一例。核医学症例検討会症例集 14: 35~36, 1992
- 12) Jacobs R F, Wells T G, Steele R W, et al.: A prospective randomized comparison of cefotaxime vs ampicillin and chloramphenicol for bacterial meningitis. Pediatrics 107: 129~133, 1985
- 13) Rubin L G, Medeiros A A, Yolken R H, et al.: Ampicillin treatment failure of apparently β -lactamase-negative *Haemophilus influenzae* type b meningitis due to novel β -lactamase. Lancet 1981 Nov. 7: 1008~1010
- 14) Markowitz S M: Isolation of an ampicillin-resistant, non- β -lactamase-producing strain of *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother 17: 80~83, 1980
- 15) Smith A L: Antibiotic resistance in *Haemophilus influenzae*. Pediatr Infect Dis 2: 352~355, 1983
- 16) Mendelman P M, Chaffin D O, Krilov L R, et al.: Cefuroxime treatment failure of nontypable *Haemophilus influenzae* meningitis associated with alteration of penicillin-binding-proteins. J Infect Dis 162: 1118~1123, 1990
- 17) Mendelman P M: Chaffin D O, Stull T L, et al.: Characterization of non- β -lactamase-mediated ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother 26: 235~244, 1984
- 18) Mendelman P M, Chaffin D O, Clausen C, et al.: Failure to detect ampicillin-resistant, non- β -lactamase-producing *Haemophilus influenzae* by standard disk susceptibility testing. Antimicrob Agents Chemother 30: 274~280, 1986
- 19) Parr T R, Pai C H, Bryan L E: Simple screening method for β -lactamase positive and -negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates. J Clin Microbiol 20: 131~132, 1984
- 20) George M J, Kitch B, Henderson F W, et al.: In vitro activity of orally administered antimicrobial agents against *Haemophilus influenzae* recovered from children monitored longitudinally in a group day-care center. Antimicrob Agents Chemother 35: 1960~1964, 1991
- 21) 斎藤利雄, 森川嘉郎: 各種抗菌薬に対する肺炎球菌の感受性と臨床症状との関係。Chemotherapy 45: 746~749, 1997
- 22) Schuchat A, Robinson K, Wenger J D, et al.: Bacterial meningitis in the United States in 1995. N Engl J Med 337: 970~976, 1997
- 23) 森川嘉郎: 化膿性髄膜炎における髄液中抗菌薬力価の測定とその臨床的意義。Chemotherapy 45: 29~33, 1997

Failure of ampicillin treatment of β -lactamase-negative, ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* type b meningitis associated with sensitivity to β -lactam antibiotics

Yoshiro Morikawa and Norio Shishida

Department of Pediatrics, Yodogawa Christian Hospital, 2-9-26 Awaji,
Higashi-yodogawa-ku, Osaka 533-0032, Japan

Ampicillin (ABPC) treatment failed in a 4-month-old boy with *Haemophilus influenzae* type b meningitis. The isolate was β -lactamase-negative (B-L-N) and ABPC resistant. Subdural effusion which was one of the complications of meningitis was successfully treated by chloramphenicol. In our hospital 22% (13/59) of the *H. influenzae* strains were β -lactamase-positive (B-L-P) in 1993 and 10% (6/61) in 1996. The percentages of β -lactamase-negative, ABPC-resistant *H. influenzae* strains, of which the MICs were over $1.56\mu\text{g/ml}$, were about 15% in 1993 and 29% in 1996. After inhibition by β -lactamase, several strains of B-L-P, *H. influenzae* were resistant to ABPC. The standard disk containing $30\mu\text{g}$ of ABPC for sensitivity testing could not detect ABPC resistance in B-L-N strains. Because of the prevalence of ABPC resistant *H. influenzae*, ABPC should not be used in the treatment of *H. influenzae* meningitis. While a few strains resistant to cefotaxime were recovered, cefotaxime may be preferable for treating *H. influenzae* meningitis.