

## 【原著・基礎】

臨床分離 *Haemophilus influenzae* の薬剤感受性に関する検討

渡邊 信介・二木 芳人・玉田 貞雄・河端 聡  
吉田耕一郎・宮下 修行・中島 正光・松島 敏春  
川崎医科大学呼吸器内科\*

(平成 12 年 1 月 19 日受付・平成 12 年 3 月 30 日受理)

1996 年 1 月から 1998 年 4 月までに川崎医科大学附属病院中央検査部において各種臨床検体から分離された *Haemophilus influenzae* 178 株の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能、莢膜型、各種薬剤感受性、また各耐性株についてはその臨床的背景を検討した。全株中 24 株 (13.5%) が、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生 ( $\beta$ -lactamase positive: BLP) 株であった。莢膜型別では、8 株 (4.5%) が b 型であり、156 株 (87.6%) は non-typable であった。 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生 ( $\beta$ -lactamase negative: BLN) 株 154 株中 4 株 (2.6%; 全株中 2.2%) は、ampicillin (ABPC) に対して  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上を示す ABPC 耐性株 ( $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant: BLNAR) であり、また BLP 株 24 株中 2 株 (8.3%; 全株中 1.1%) は、clavulanic acid/amoxicillin (CVA/AMPC) に対して  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上を示す CVA/AMPC 耐性株 ( $\beta$ -lactamase positive amoxicillin/clavulanate resistant: BLPACR) であった。またキノロン系抗菌薬に対しては、ciprofloxacin (CPFX) あるいは levofloxacin (LVFX) に対して  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上を示すキノロン耐性株が、7 株 (3.9%) 存在した。各耐性株についてその臨床的背景を検討した結果、病原性を有した株においても治療難渋例は認めなかった。

**Key words:** *Haemophilus influenzae*,  $\beta$ -lactamase,  $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant,  $\beta$ -lactamase positive amoxicillin/clavulanate resistant, quinolone resistant

*Haemophilus influenzae* は、気道感染症の原因菌としては、*Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* などとならび重要であり、また乳幼児の化膿性髄膜炎においては、*S. pneumoniae* と共に頻度の高いものである。従来、*H. influenzae* 感染症には、ペニシリン系抗菌薬、あるいはセフェム系抗菌薬が、また成人症例においては、キノロン系抗菌薬も良好な治療効果を示していたが、1974 年に、薬剤不活化酵素、すなわち  $\beta$ -ラクタマーゼによる ampicillin (ABPC) 耐性 *H. influenzae* が報告され<sup>1-4</sup>、また 1980 年には、 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生 ABPC 耐性 *H. influenzae* ( $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant: BLNAR) が報告された<sup>5</sup>。1990 年代に入ると、キノロン耐性 *H. influenzae* も報告されはじめているが<sup>6,7</sup>、その頻度は現段階では低いと考えられる。そこで今回、当院における *H. influenzae* の薬剤耐性化状況を明らかにするために、臨床分離 *H. influenzae* の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能、莢膜型、各種薬剤感受性、さらに各種耐性菌についてはその臨床的背景について検討したので報告する。

## I. 材料と方法

## 1. 菌株

1996 年 1 月から、1998 年 4 月までに川崎医科大学附属病院中央検査部で分離された *H. influenzae* 233 株

のうち、同一症例からの同一感染エピソードにおける重複分離株、および臨床的背景が調査困難であった 55 株を除外した計 178 株を対象とした。

2.  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能

Benzylpenicillin (PCG) と cefazolin (CEZ) を基質とした acidimetry disc method ( $\beta$ -チェック<sup>®</sup>, 株式会社日本生物材料センター) と、nitrocefin を基質とした chromogenic disc method (セフィナーゼ<sup>®</sup>, Becton Dickinson Microbiology Systems) を用いた。

## 3. 莢膜型別

インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清 (デンカ生研株式会社) を用いて凝集反応により行った。

## 4. 薬剤感受性測定

日本化学療法学会標準法に準じ、微量液体希釈法で MIC を求めた。測定対象薬剤は、ABPC (明治製菓株式会社より分与)、clavulanic acid/amoxicillin (CVA/AMPC: スミスクライン・ビーチャム製薬株式会社より分与)、sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC: ファイザー製薬株式会社より分与)、ceftazidime (CZ: 塩野義製薬株式会社より分与)、cefditoren (CDTR: 明治製菓株式会社より分与)、cefazolin (CEZ: 藤沢薬品工業株式会社より分与)、cefotiam (CTM: 武田薬品工業株式会社

より分与), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ: ファイザー製薬株式会社より分与), cefotaxime (CTX: ヘキスト・マリオン・ルセル株式会社より分与), ceftriaxone (CTRX: 日本ロッシュ株式会社より分与), cefoselis (CFSL: 藤沢薬品工業株式会社より分与), imipenem (IPM: 萬有製薬株式会社より分与), meropenem (MEPM: 住友製薬株式会社より分与), panipenem (PAPM: 三共株式会社より分与), minocycline (MINO: 日本レダリー株式会社より分与), clarithromycin (CAM: 大正製薬株式会社より分与), ciprofloxacin (CPFX: バイエル薬品株式会社より分与), levofloxacin (LVFX: 第一製薬株式会社より分与), sparfloxacin (SPFX: 大日本製薬株式会社より分与), tosufloxacin (TFLX: 富山化学工業株式会社より分与) の 20 薬剤とした。なお, CVA/AMPC は力価比 1: 2, SBT/ABPC は力価比 1: 2, SBT/CPZ は力価比 1: 1 にそれぞれ配合して使用した。薬剤感受性分類は, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) の基準にしたがった<sup>8)</sup>。

### 5. 背景因子

検討対象 178 株中 NCCLS の基準を満たす各種耐性菌 13 株 (すべて喀痰由来) について, その背景因子および病原性を検討した。病原性の有無は, 感染病巣を反映すると考えられる適切な検体から分離された *H. influenzae* の菌量が, 定量培養で  $1 \times 10^7$  CFU/mL 以上である場合, また菌量が  $1 \times 10^7$  CFU/mL 未満であったり複数菌種が分離された場合, 診療記録を Retro-spective に検討し, 適正な抗菌薬療法の結果臨床症状などの改善とともに, *H. influenzae* が消失するか, あるいは菌量の減少をみた場合に病原性ありと判断した。なお, 無菌部位である血液から分離された場合は菌量にかかわらず病原性ありとした。

Table 1. *Haemophilus influenzae* isolates and  $\beta$ -lactamase production by source

Specimen	Number of isolates (%)			Total (%)
	1996	1997	1998	
Sputum	49 (75.4)	44 (66.7)	22 (46.8)	115 (64.6)
Nasopharynx	13 (20.0)	20 (30.3)	24 (51.1)	57 (32.0)
Otorrhea	1	1		2 (1.1)
Blood	1	1	1	3 (1.7)
BALF <sup>a</sup>	1			1 (0.6)
Total	65	66	47	178
Number of				
$\beta$ -lactamase positive strains (%)	8 (12.3)	7 (10.6)	9 (19.1)	24 (13.5)

<sup>a</sup>BALF: bronchoalveolar lavage fluid

## II. 結 果

### 1. 分離状況と $\beta$ -ラクタマーゼ産生能

Table 1 に今回対象とした 178 株の年次ごとの分離材料別比率を示した。各年とも喀痰, 鼻咽腔などの呼吸器系病巣由来株が大多数を占めた。

また  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能は, 1996 年は  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 ( $\beta$ -lactamase positive: BLP) 株は 8 株 (12.3%), 1997 年は 7 株 (10.6%), 1998 年は 9 株 (19.1%) であった。なお, BLP 株 24 株はすべて acidimetry disc method と chromogenic disc method の双方に陽性であった。

### 2. 莢膜型別

検討対象 178 株の莢膜型別は, type b が 8 株 (4.5%), type c が 1 株 (0.6%), type d が 13 株 (7.3%), non-typable が 156 株 (87.6%) であった。type a, e, f は検出されなかった (Table 2)。8 株の type b 株の由来は, 血液由来が 2 株, 耳漏由来が 1 株, 喀痰由来が 5 株であった。また type b 株では 8 株中 2 株が, non-typable 株では 156 株中 21 株 (13.5%) が  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 (BLP) 株であった。

### 3. 薬剤感受性

今回対象した 20 薬剤に対する *H. influenzae* の感受性分布を,  $\beta$ -ラクタマーゼ非産生 ( $\beta$ -lactamase negative: BLN) 株,  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 (BLP) 株別に示した (Table 3)。BLN 株 154 株中, ABPC 感受性株は 97.4% であり 4 株 (2.6%) は ABPC に対して  $2 \mu\text{g/mL}$  以上を示す耐性株 (BLNAR) であった。キノロン系抗菌薬に対しては 95.5% が感受性を示したが, 4 株 (4.5%) は CPFX, LVFX に対して  $2 \mu\text{g/mL}$  以上と耐性を示した。BLP 株 24 株では, CVA/AMPC に対して 91.7% が感受性であったが 2 株 8.3% が  $8 \mu\text{g/mL}$  以上を示す CVA/AMPC 耐性株 ( $\beta$ -lactamase positive amoxicillin/clavulanate resistant: BLPACR) であった。BLNAR, BLPACR, キノロン耐性株についてはその各種抗菌薬に対する感受性を別途示した (Tables 4, 5)。BLNAR 4 株の ABPC に対する MIC は  $2 \mu\text{g/mL}$

Table 2. Serotype of *Haemophilus influenzae* isolates

Serotype	Number of isolates (%)			Total (%)
	1996	1997	1998	
a	0	0	0	0
b	3	3	2	8 (4.5)
c	0	1	0	1 (0.6)
d	3	6	4	13 (7.3)
e	0	0	0	0
f	0	0	0	0
not typeable	59 (90.8)	56 (84.8)	41 (87.2)	156 (87.6)
Total	65	66	47	178

Table 3. Antimicrobial susceptibility of 154  $\beta$ -lactamase-negative and 24  $\beta$ -lactamase-positive *Haemophilus influenzae* isolates

Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )							
	$\beta$ -lactamase-negative isolates (n = 154)				$\beta$ -lactamase-positive isolates (n = 24)			
	50% <sup>a</sup>	90% <sup>b</sup>	range	%susceptible <sup>b</sup>	50% <sup>a</sup>	90% <sup>a</sup>	range	%susceptible <sup>b</sup>
ABPC	0.25	1	0.032-8	97.4	32	256	1->256	4.2
CVA/AMPC	0.5	4	0.125-32	87.7	1	4	0.5-16	91.7
SBT/ABPC	0.25	1	0.032-4	97.4	0.5	2	0.125-4	91.7
CCL	2	16	0.125-64	85.1	1	16	0.125-32	87.5
CDTR	0.016	0.063	0.016-0.25		0.016	0.016	0.016-0.032	
CEZ	8	64	0.25-256		8	64	1-256	
CTM	1	8	0.125-32		0.5	4	0.125-8	
SBT/CPZ	0.032	0.125	0.016-0.5		0.032	0.25	0.016-0.5	
CTX	0.016	0.063	0.016-0.25	100	0.016	0.016	0.016-0.032	100
CTRX	0.016	0.032	0.016-0.125	100	0.016	0.016	0.016-0.032	100
CFSL	0.032	0.25	0.016-1		0.032	0.063	0.016-0.125	
IPM	0.5	4	0.016-16	94.2	0.5	4	0.016-16	91.7
MEPM	0.032	0.125	0.016-0.5		0.032	0.125	0.016-0.125	
PAPM	0.25	2	0.016-8		0.25	1	0.063-8	
MINO	0.032	0.25	0.016-32		0.25	0.5	0.016-16	
CAM	8	16	0.125-32	80.5	8	16	1-32	83.3
CPFX	0.016	0.032	0.016-4	95.5	0.016	0.016	0.016	100
LVFX	0.016	0.063	0.016-4	95.5	0.016	0.016	0.016	100
SPFX	0.016	0.063	0.016-2		0.016	0.016	0.016	
TFLX	0.016	0.5	0.016-16		0.016	0.016	0.016-0.032	

<sup>a</sup>50% and 90%: MICs for 50% and 90% of isolates tested, respectively.

<sup>b</sup>Breakpoints are those advocated by the NCCLS for use in MIC determinations with *H. influenzae* (8).

ABPC: ampicillin, CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, SBT/ABPC: sulbactam/ampicillin, CCL: cefaclor, CDTR: cefditoren, CEZ: cefazolin, CTM; cefotiam, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone, CTX: cefotaxime, CTRX: ceftriaxone, CFSL: cefoselis, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, PAPM: panipenem, MINO: minocycline, CAM: clarithromycin, CPFX: ciprofloxacin, LVFX: levofloxacin, SPFX: sparfloxacin, TFLX: tosufloxacin

と  $8\mu\text{g}/\text{mL}$  であり、また BLPACR の CVA/AMPC に対する MIC は  $8\mu\text{g}/\text{mL}$  と  $16\mu\text{g}/\text{mL}$  であった (Table 4)。キノロン耐性株 7 株の CPFX, LVFX に対する MIC はいずれも  $2\sim 4\mu\text{g}/\text{mL}$  であった (Table 5)。

#### 4. 各種耐性菌の背景因子と病原性

Tables 4, 5 で示した BLNAR 4 株, BLPACR 2 株, キノロン耐性株 7 株について診療記録からその背景因子ならびに病原性を検討した。

BLNAR 4 株はいずれもディスク感受性試験では感受性を示していた。また病原性ありと判断した 3 株 (BLN 1-3) では、キノロン系抗菌薬、マクロライド系抗菌薬の投与でいずれも軽快した (Table 6)。BLPACR 2 株については、いずれも病原性を認めなかった (Table 7)。キノロン耐性 7 株については、病原性ありと判断した 6 株 (QR 2-7) は同一症例からの分離株である。本症例においてははじめて耐性株 (QR 2) が分離される以前に頻回な TFLX の断続的投与が行われていた (Table 8)。BLNAR, BLPACR, キノロン耐性株いずれにおいても、病原性を有した株で治療に難渋した症例は認めなかった。

### III. 考 察

*H. influenzae* の薬剤耐性の歴史は、1974 年の ABPC 耐性 *H. influenzae* 感染症の報告<sup>1-4)</sup>に端を発する。これは、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生による薬剤不活化による耐性化で<sup>4)</sup>、その耐性率は最近の本邦での報告では  $10\sim 25\%$  である<sup>9,10)</sup>。今回のわれわれの検討でも、178 株中 24 株 (13.5%) が  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株であり、全国成績と類似していた。また欧米においては、非莢膜株 (non-typable) に比し莢膜保有株 (主として type b) において  $\beta$ -ラクタマーゼ産生率が高いとする報告がある<sup>11)</sup>。われわれの検討では non-typable での  $\beta$ -ラクタマーゼ産生率は 13.5%、type b では 8 株中 2 株が  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 (BLP) 株であったが株数が少ないため莢膜保有株での  $\beta$ -ラクタマーゼ産生率についての言及はさけない。

莢膜型では莢膜保有株、特に type b が重篤な全身感染症を引き起こす頻度が高いと言われている。今回の検討では、敗血症症例から分離された血液由来株 3 株中 2 株が type b であった。

*H. influenzae* の薬剤耐性化の第 2 段階として 1980 年に、 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生 ABPC 耐性 *H. influenzae*

Table 4. MICs of various antimicrobial agents against 4  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) and 2  $\beta$ -lactamase-positive amoxicillin/clavulanate-resistant *H. influenzae* (BLPACR)

Strain no.	$\beta$ L	MIC ( $\mu$ g/mL)																			
		ABPC	CVA/AMPC	SBT/ABPC	CCL	CDTR	CEZ	CTM	SBT/CPZ	CTX	CTR	CFSL	IPM	MEPM	PAPM	MINO	CAM	CPFX	LVFX	SPFX	TFLX
BLN 1 <sup>a</sup>	-	2	4	1	8	0.032	2	2	0.063	0.032	0.016	0.125	1	0.125	1	0.063	8	0.016	0.016	0.016	0.016
BLN 2	-	2	4	2	4	0.016	128	8	0.032	0.032	0.016	0.063	4	0.25	2	0.063	8	0.016	0.016	0.016	0.016
BLN 3	-	2	16	1	2	0.016	128	4	0.032	0.032	0.016	0.125	16	0.125	4	0.016	4	0.016	0.016	0.016	0.016
BLN 4	-	8	32	4	32	0.063	8	16	0.5	0.063	0.016	0.125	1	0.5	0.25	0.063	4	0.016	0.016	0.016	0.032
BLP 1 <sup>b</sup>	+	>256	8	2	16	0.016	128	8	0.25	0.016	0.016	0.063	8	0.063	1	0.125	8	0.016	0.016	0.016	0.016
BLP 2	+	>256	16	4	32	0.032	256	8	0.125	0.016	0.016	0.063	16	0.125	8	0.25	8	0.016	0.016	0.016	0.016

<sup>a</sup>BLN:  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant strain

<sup>b</sup>BLP:  $\beta$ -lactamase-positive amoxicillin/clavulanate-resistant strain

ABPC: ampicillin, CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, SBT/ABPC: sulbactam/ampicillin, CCL: cefaclor, CDTR: cefditoren, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone, CTX: cefotaxime, CTRX: ceftriaxone, CFSL: cefoselis, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, PAPM: panipenem, MINO: minocycline, CAM: clarithromycin, CPFX: ciprofloxacin, LVFX: levofloxacin, SPFX: sparfloroxacin, TFLX: tosufloxacin

Table 5. MICs of various antimicrobial agents against 7 fluoroquinolone-resistant *Haemophilus influenzae*

Strain no.	$\beta$ L <sup>a</sup>	MIC ( $\mu$ g/mL)																			
		CPFX	LVFX	SPFX	TFLX	ABPC	CVA/AMPC	SBT/ABPC	CCL	CDTR	CEZ	CTM	SBT/CPZ	CTX	CTR	CFSL	IPM	MEPM	PAPM	MINO	CAM
QR 1	-	2	2	0.5	2	1	8	0.25	1	0.125	1	1	0.016	0.125	0.032	0.25	0.125	0.032	0.063	0.016	0.125
QR 2	-	2	2	0.5	2	0.25	0.5	0.25	1	0.032	2	2	0.016	0.25	0.032	0.5	0.125	0.032	0.063	0.016	1
QR 3	-	4	4	1	8	0.25	0.5	0.5	2	0.032	32	4	0.063	0.25	0.125	0.5	0.25	0.032	0.25	0.032	2
QR 4	-	2	4	1	2	0.5	2	0.5	64	0.25	2	2	0.032	0.25	0.063	1	0.125	0.032	0.063	0.016	4
QR 5	-	2	2	1	4	0.5	4	1	4	0.125	16	4	0.063	0.25	0.125	1	0.25	0.032	0.25	0.016	4
QR 6	-	2	4	0.5	16	1	2	0.5	2	0.25	8	2	0.063	0.25	0.063	0.5	0.125	0.063	0.25	0.016	1
QR 7	-	2	4	2	4	0.25	0.5	0.5	2	0.125	2	4	0.125	0.25	0.125	1	0.125	0.032	0.125	0.032	4

<sup>a</sup>BL:  $\beta$ -lactamase production negative or positive

CPFX: ciprofloxacin, LVFX: levofloxacin, SPFX: sparfloroxacin, TFLX: tosufloxacin, ABPC: ampicillin, CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, SBT/ABPC: sulbactam/ampicillin, CCL: cefaclor, CDTR: cefditoren, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone, CTX: cefotaxime, CTRX: ceftriaxone, CFSL: cefoselis, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, PAPM: panipenem, MINO: minocycline, CAM: clarithromycin

Table 6. Cases of  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) isolated

Strain no.	Case	Diagnosis	Underlying disease	Serotype <sup>a</sup>	MIC of ampicillin ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Disc susceptibility <sup>b</sup> (ampicillin)	Preceding antibiotics <sup>c</sup>	Treatment	Clinical outcome	Pathogenicity
BLN 1	55 F	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	2	S	RXM	SPFX	cure	+
BLN 2	67 M	Acute bronchitis	Pulmonary emphysema	NT	2	S	EM	AS 924 <sup>d</sup>	cure	+
BLN 3	59 M	Acute bronchitis	-	NT	2	S	-	RXM	cure	+
BLN 4	4 M	Atypical pneumonia	-	NT	8	S	CFDN	MINO	cure	-

<sup>a</sup>NT: not typeable<sup>b</sup>Disc susceptibility was tested by Sensi-Disc<sup>®</sup> (Becton Dickinson Microbiology Systems)<sup>c</sup>RXM: roxithromycin, EM: erythromycin, CFDN: cefdinir<sup>d</sup>AS 924: ceftizoximeTable 7. Cases of  $\beta$ -lactamase-positive amoxicillin/clavulanate-resistant *Haemophilus influenzae* (BLPACR) isolated

Strain no.	Case	Diagnosis	Underlying disease	Serotype <sup>a</sup>	MIC of clavulanic acid amoxicillin ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	MIC of ampicillin ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Preceding antibiotics	Treatment	Clinical outcomes	Pathogenicity
BLP 1	52 F	Drug-induced pneumonia	Bronchial asthma	NT	8	>256	-	PS <sup>b</sup>	cure	-
BLP 2	72 M	Malignant lymphoma	Hypertension Diabetes mellitus	NT	16	>256	-	-	death	-

<sup>a</sup>NT: not typeable<sup>b</sup>PSL: prednisoloneTable 8. Cases of fluoroquinolone-resistant *Haemophilus influenzae* isolated

Strain no.	Case	Diagnosis	Underlying disease	Serotype <sup>a</sup>	MIC of ciprofloxacin ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	MIC of levofloxacin ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Preceding antibiotics <sup>b</sup>	Treatment <sup>b</sup>	Clinical outcomes <sup>c</sup>	Pathogenicity
QR 1	81 M	Acute myocardial infarction	Congestive heart failure	NT	2	2	unknown	-	cure	-
QR 2	79 M	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	2	2	RXM, TFLX	AM-1155	cure	+
QR 3	79 M	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	4	4	RXM AM-1155 CVA/AMPC	-	N. C.	+
QR 4	79 M	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	2	4	RXM, CDTR	-	N. C.	+
QR 5	79 M	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	2	2	RXM, CDTR	-	N. C.	+
QR 6	79 M	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	2	4	CAM, CDTR	-	N. C.	+
QR 7	79 M	Acute exacerbation	Chronic bronchitis	NT	2	4	CAM, CDTR	-	N. C.	+

<sup>a</sup>NT: not typeable<sup>b</sup>RXM: roxithromycin, TFLX: tosufloxacin, CVA/AMPC: clavulanic acid/amoxicillin, CDTR: cefditoren, CAM: clarithromycin<sup>c</sup>N. C.: no change

zae (BLNAR) による髄膜炎症例が報告された<sup>5)</sup>。これは、*H. influenzae* の7つのペニシリン結合タンパク (1 a, 1 b, 2, 3 a, 3 b, 4, 5) の中で特に3 a, 3 bの薬剤親和性が低下することによる耐性化であるといわれて

いる<sup>12)</sup>。このBLNARの頻度は諸外国ではおおむね1~3%であるが<sup>13)</sup>、わが国ではその頻度はきわめて低いと考えられていた。しかし、1998年に森川らがわが国ではじめてBLNARによる化膿性髄膜炎症例を報告し、

同時に保存菌株の検討から BLNAR の頻度は、1993 年分離株が 15%、1996 年分離株が 29% であったと報告している<sup>9</sup>。われわれの検討では、 $\beta$ -ラクタマーゼ非産生株 154 株中 4 株 (2.6%; 全株中 2.2%) が BLNAR であった。これはさきの報告に比べると低いものであるが、諸外国の報告とは一致している。おそらく施設間での抗菌薬使用状況の差や、対象患者集団の差などが現時点では大きく影響しているのではないかと考えられる。BLNAR における耐性基準については、その遺伝子解析の結果にもとずき ABPC に対して  $1\mu\text{g}/\text{mL}$  以上を BLNAR とするという考え方もあるようである。いずれにしてもわが国だけでなく欧米とも共通した基準の設定が必要であろう。BLNAR における ABPC の MIC は、現段階ではそれほど高くない。したがって呼吸器感染症例では、病巣内における ABPC 濃度が、通常の使用量で耐性株の MIC よりも十分になるため治療不成功例が少ないこと、また髄膜炎症例においても、empiric therapy として ABPC と CTX, CTRX との併用療法、あるいは症例によってはカルバペネム系薬が使用され、良好な結果が得られることなどから、わが国においては BLNAR の臨床での認識が低いものと考えられる。また BLNAR は、従来のディスク感受性試験では検出困難なことも臨床の場において注目されなかった理由の 1 つと考えられる。当院における BLNAR 4 株はいずれも ABPC  $10\mu\text{g}/\text{mL}$  含有ディスクを用いた感受性試験で感受性を示していた。しかしながら、さきの BLNAR による治療不成功例の報告もみられるので<sup>9</sup>、BLNAR の存在と今後の動向を無視することはできないと思われる。

さて、細菌の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生による耐性化に対しては、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤配合抗菌薬が使用され、現時点での有効性は、特に呼吸器感染症などでは高いものと評価されている。しかし、1997 年に Doern らがはじめて、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生株でありながら CVA/AMPC に対して、 $8\mu\text{g}/\text{mL}$  以上と耐性を示す株、BLPACR が  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株中 3% に存在することを報告した<sup>19</sup>。わが国でも、1998 年にはじめて Ishiwada らが *H. influenzae* 1,246 株中 8 株 (0.6%) が BLPACR であったと報告している<sup>10</sup>。これは、*H. influenzae* が産生する Class A 型  $\beta$ -ラクタマーゼ (TEM-1, ROB-1) の産生過剰、あるいはこれらに変異した  $\beta$ -ラクタマーゼ、またはまったく新しい  $\beta$ -ラクタマーゼ、すなわち extended spectram  $\beta$ -lactamase (ESBL) による耐性化、さらには BLNAR 同様ペニシリン結合タンパクの薬剤親和性の低下による耐性化の可能性が示唆されている<sup>19</sup>。

今回のわれわれの検討では、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生株 24 株中 2 株 (8.3%; 全株中 1.1%) が BLPACR であった。これら 2 株の ABPC に対する MIC はいずれも 256

$\mu\text{g}/\text{mL}$  以上であったが CVA/AMPC に対する MIC は  $8\mu\text{g}/\text{mL}$  と  $16\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。このことは、今回検出された BLPACR 2 株の耐性機序はペニシリン結合タンパクの薬剤親和性の低下によるものであることを示唆しているが今後の検討が必要である。

次に、キノロン耐性 *H. influenzae* についての報告は、本邦では 1991 年に西岡らが ofloxacin (OFLX) に  $1.56\mu\text{g}/\text{mL}$ 、CPFX に  $1.56\mu\text{g}/\text{mL}$  と耐性を示す株を報告したことにはじまる<sup>6</sup>。その後、散発的に基礎的、臨床的報告がみられている<sup>14-18</sup>、その頻度は現段階では数%程度と考えられる。また、諸外国でも 1993 年よりキノロン耐性 *H. influenzae* 感染症が報告されている<sup>7, 19-22</sup>。これは、キノロン系薬の標的酵素である DNA gyrase の Gyr A 蛋白、あるいは topoisomerase の Par C 蛋白の変異による耐性化といわれている<sup>22</sup>。今回の検討では、CPFX あるいは LVFX に対して  $2\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の MIC を示すキノロン耐性株は、7 株 (3.9%) であった。これら 7 株のキノロン耐性決定領域 (Quinolone Resistant Determining Region: QRDR) におけるアミノ酸変異の検討によれば、7 株すべてに DNA gyrase の Gyr A 蛋白の変異を認め、また一部の株では topoisomerase の Par C 蛋白にも変異を認めた。また LVFX で  $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ 、CPFX で  $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$  の MIC を示すキノロン感受性株にもアミノ酸変異を認めていた (未投稿データ)。したがって、MIC 上は感受性株であってもアミノ酸変異を伴い、今後耐性側にシフトしていく株も存在していることが考えられる。

今回その臨床的背景を検討した耐性株の病原性はいずれも治療に抵抗するほど強いものではなかった。現段階ではこれら耐性 *H. influenzae* の MIC はそれほど高くないこと、各種薬剤感受性の結果からも、セフェム系抗菌薬の CDTR, CTX, CTRX, カルバペネム系抗菌薬の PAPM は各耐性菌に対しても良好な感受性を有していることから、これら薬剤の適切な選択により十分対応可能であると思われる。しかしながらペニシリン耐性肺炎球菌同様<sup>23</sup>、宿主状態が不良の場合、あるいは敗血症、髄膜炎といった重篤な感染症例では治療に抵抗を示すことも考えられるため、十分な注意が必要である。

抗菌薬が濫用されているわが国において、今回報告した各種耐性 *H. influenzae* が今後増加していく可能性が十分に考えられることから、継続的な耐性化の動向に注意を払うと共に、適正な抗菌薬の選択や使用が肝要と思われる。

本研究は川崎医科大学 (岡山県倉敷市) プロジェクト研究 9-501, 10-506 から補助を受けて行われたものである。

#### 文 献

- 1) Thomas W J, McReynolds J W, Mock C R, et al.: Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* men-

- ingitis. Lancet (i): 313, 1974
- 2) Gunn B A, Woodall J B, Jones J F, et al.: Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. Lancet (ii): 845, 1974
  - 3) Tomeh M O, Starr S E, McGowan J E, et al.: Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b infection. Journal of the American Medical Association 229: 295~297, 1974
  - 4) Khan W, Ross S, Rodriguez W, et al.: *Haemophilus influenzae* type b resistant to ampicillin. Journal of the American Medical Association 229: 298~301, 1974
  - 5) Markowitz S M: Isolation of an ampicillin-resistant, non- $\beta$ -lactamase-producing strain of *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother 17: 80~83, 1980
  - 6) 西岡きよ, 荻原央子, 丹野恭夫, 他: 近年の呼吸器感染症原因菌の動向と *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* および *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* の抗生剤感受性。1987-1989年の3年間の検討。Chemotherapy 39: 443~451, 1991
  - 7) Barriere S L, Hindler J A: Ciprofloxacin-resistant *Haemophilus influenzae* infection in a patient with chronic lung disease. Ann. Pharmacother 27: 309~310, 1993
  - 8) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for aerobically, 4th ed. M7-A4. NCCLS. Villanova, Pa, 1995
  - 9) 森川嘉郎, 宍田紀夫:  $\beta$ -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  $\beta$ -ラクタム薬に対する薬剤感受性。Chemotherapy 46: 156~160, 1998
  - 10) Ishiwada N, Kuroki H, Ishikawa N, et al.: Characteristics of  $\beta$ -lactamase-producing and amoxicillin-clavulanate-resistant strains of *Haemophilus influenzae* isolated from pediatric patients. J Infect Chemother 4: 112~115, 1998
  - 11) Kayser F H, Morenzoni G, Santanam P: The second european collaborative study on the frequency of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 9: 810~817, 1990
  - 12) Parr T R, Bryan L E: Mechanism of resistance of an ampicillin-resistant,  $\beta$ -lactamase-negative clinical isolate of *Haemophilus influenzae* type b to  $\beta$ -lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 25: 747~753, 1984
  - 13) Doern G V, Brueggemann A B, Pierce G, et al.: Antibiotic resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae* in the united states in 1994 and 1995 and detection of  $\beta$ -lactamase positive strains resistant to amoxicillin-clavulanate. Results of a national multicenter surveillance study. Antimicrob Agents Chemother 41: 292~297, 1997
  - 14) 西岡きよ, 丹野恭夫, 渡辺 彰, 他: 東北地方で分離された *Haemophilus influenzae* の抗生物質感受性に関する検討。化学療法領域 9: 97~102, 1993
  - 15) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 他: 新鮮臨床分離株に対する New Quinolones の抗菌活性。Jap J Antibiotics 47: 1379~1400, 1994
  - 16) 鈴木由美子, 古口昌美, 田中節子, 他: 臨床分離 New Quinolones 耐性インフルエンザ菌に関する検討。第一報。Jap J Antibiotics 48: 1026~1032, 1995
  - 17) 西岡きよ, 荻原央子, 大野 勲, 他: 呼吸器感染症起炎菌の動向と *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* および *Moraxella catarrhalis* の抗生剤感受性。1994-1995年の検討。Jap J Antibiotics 50: 768~775, 1997
  - 18) 二木芳人, 渡邊信介, 玉田貞雄, 他: ニューキノロン耐性 *Haemophilus influenzae* による感染増悪を呈した慢性気管支炎の一症例。Chemotherapy 45: 951~954, 1997
  - 19) Gould I M, Forbes K J, Gordon G S: Quinolone resistant *Haemophilus influenzae*. J Antimicrob Chemother 33: 187~188, 1994
  - 20) Corkill J E, Percival A, McDonald P, et al.: Detection of quinolone resistant *Haemophilus* spp. J Antimicrob Chemother 34: 841~843, 1994
  - 21) Compos J, Román F, Georgiou M, et al.: Long-term persistence of ciprofloxacin-resistant *Haemophilus influenzae* in patients with cystic fibrosis. J Infect Dis 174: 1345~1347, 1996
  - 22) Georgiou M, Muñoz R, Román F, et al.: Ciprofloxacin-resistant *Haemophilus influenzae* strains possess mutations in analogous positions of Gyr A and Par C. Antimicrob Agents Chemother 40: 1741~1744, 1996
  - 23) 渡邊信介, 二木芳人, 吉田耕一郎, 他: 肺炎球菌感染症の臨床的検討。Chemotherapy 47: 23~29, 1999

## Antimicrobial susceptibility of clinically isolated strains of *Haemophilus influenzae*

Shinsuke Watanabe, Yoshihito Niki, Sadao Tamada, Satoshi Kawabata,  
Koichiro Yoshida, Naoyuki Miyashita, Masamitsu Nakajima  
and Toshiharu Matsushima

Division of Respiratory Diseases, Department of Medicine, Kawasaki Medical School,  
577 Matsushima, Kurashiki, Okayama, Japan

We investigated the characteristics of 178 strains of *Haemophilus influenzae* clinically isolated between January 1996 and April 1998, with respect to  $\beta$ -lactamase production, serotype, and antimicrobial susceptibility. Of these, 4.5% were type-b strains and 87.6% were not typeable. Overall, 13.5% of the isolates produced  $\beta$ -lactamase. Of the 154  $\beta$ -lactamase-negative *H. influenzae*, 4 strains (2.6%) were resistant to ampicillin ( $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant; BLNAR). Two strains (8.3%) of the 24  $\beta$ -lactamase-positive *H. influenzae* were resistant to amoxicillin/clavulanate ( $\beta$ -lactamase-positive amoxicillin/clavulanate-resistant; BLPACR). The percentages of all tested isolates composed of BLNAR and BLPACR strains were 2.2% and 1.1%, respectively. Overall, 3.9% of the isolates were resistant to ciprofloxacin and levofloxacin. The clinical courses of the patients infected with these resistant strains were good, and no treatment failure have been found.