

## 【短報】

## 呼吸器由来臨床分離株に対するβ-ラクタム系薬の抗菌活性の比較

寺久保繁美・金光 敬二・竹村 弘・岡村 二郎  
 國島 広之・池島 秀明・山本 啓之・嶋田甚五郎

聖マリアンナ医科大学微生物学教室\*

(平成13年1月9日受付・平成13年2月13日受理)

1998年8月より1999年11月までに呼吸器系臨床検体から分離された菌株より methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: MSSA 32株, methicillin-resistant *S. aureus*: MRSA 30株, penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae*: PSSP 30株, penicillin-intermediate *S. pneumoniae*: PISP 16株, penicillin-resistant *S. pneumoniae*: PRSP 20株, *Streptococcus pyogenes* 30株, *Streptococcus agalactiae* 30株, β-lactamase negative ampicillin susceptible *Haemophilus influenzae* 23株, β-lactamase positive *H. influenzae*: 17株, β-lactamase negative ampicillin resistant *H. influenzae*: BLNAR 16株, *Klebsiella pneumoniae* 30株の274株を選択して, 呼吸器感染症に汎用されているβ-ラクタム系薬 (ampicillin: ABPC, cefazolin: CEZ, cefotiam: CTM, ceftriaxone: CTRX, meropenem: MEPM) に対する感受性を検討した。MRSA に対しては, すべての試験薬のMIC<sub>90</sub>が64 μg/mL以上であったが, MSSA に対してMEPMはMIC<sub>90</sub>が≤0.06 μg/mLともしっかりとよい値を示した。*S. pyogenes*, *S. agalactiae* に対しては, すべての試験薬でMIC<sub>90</sub>が0.5 μg/mL以下を示した。PRSPを含めた*S. pneumoniae* に対するCTRXとMEPMのMIC rangeはそれぞれ≤0.06-1, ≤0.06-0.5 μg/mLと優れた抗菌活性を示した。*H. influenzae* に対してはABPC感性, 耐性にかかわらずMEPM, CTRXは優れた抗菌力を示した。

**Key words:** β-ラクタム系薬, BLNAR, PRSP, 抗菌薬感受性試験

呼吸器感染症患者から分離される主要な起炎菌として, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* などがある<sup>1)</sup>。これらの起炎菌を想定した場合, 市井感染症の empiric therapy を行うにあたり, 経口薬ではグラム陽性球菌にも良好な感受性を示すキノロン系薬, azithromycin などの選択もあるが, 注射薬ではβ-ラクタム系薬が第一選択であることに変わりはない<sup>2)</sup>。しかし近年, これらの起炎菌はβ-ラクタム系薬に対し耐性化の傾向にある<sup>3)</sup>。

元来, *S. pneumoniae* は penicillin G に感受性であり臨床的にペニシリン系薬が汎用されてきた。しかし, 1967年にオーストラリアではじめて penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) が報告<sup>4)</sup>されて以来, 世界各国で耐性菌の分離頻度は上昇している。本邦でも耐性菌 (PISP+PRSP) の分離率は40~50%とされており<sup>5-8)</sup>, 遺伝子変異が認められるものは80%を越えていると報告されている<sup>9)</sup>。PRSPのβ-ラクタム薬に対する耐性機序は, β-ラクタム系薬の作用点であるペニシリン結合蛋白 penicillin binding protein (PBP) に対する親和性の低下であり<sup>10)</sup>, この変異によりペニシリン系薬だけでなくセフェム系薬にも耐性となるため抗菌薬の選択には注意を要する。

*H. influenzae* については, β-ラクタマーゼ産生菌のほかに, PBPの親和性低下により耐性化するβ-ラクタマーゼ非産生 ampicillin (ABPC) 耐性 *H. influenzae* (BLNAR) が報告されて以来<sup>11)</sup>, 本邦において増加傾向にあり注目されている<sup>8, 9)</sup>。

これら呼吸器主要起炎菌のβ-ラクタム系薬に対する感受性について比較検討を試みた。

1998年8月から1999年11月に呼吸器系検体より分離された274株を用いた。うち203株は聖マリアンナ医科大学病院における分離株である。その他 *H. influenzae* 56株, *Streptococcus pyogenes* 15株は「1999年ファロム錠耐性菌特別調査」で全国の一次医療機関における分離株をサントリーより分与された。検体は喀痰, 気管支肺胞洗浄液, 鼻汁, 咽頭スワブ, 扁桃スワブ, 気管内挿管チューブなどであった。同一患者から同一菌種が複数回検出された場合は, そのうちの1株だけを用いた。菌種の内訳は, *Staphylococcus aureus* 62株, *S. pyogenes* 30株, *Streptococcus agalactiae* 30株, *K. pneumoniae* 30株, *S. pneumoniae* 66株, *H. influenzae* 56株である。

使用抗菌薬はβ-ラクタム系薬の cefotiam (CTM: 武田薬品), ceftriaxone (CTR: 日本ロシユ), meropenem

(MEPM: 住友製薬) は原末を, ABPC (和光純薬), cefazolin (CEZ: SIGMA), penicillin G (PCG: 和光純薬) は市販のものを用いた。

最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) の測定は米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) の微量液体希釈法 (M 7-A 4, M 100-S 9)<sup>12, 13)</sup> に準じた。

精度管理用菌株として *S. aureus* ATCC 29212 および *Escherichia coli* ATCC 25922 を用いた。菌液の接種は, AUTO INOCULATOR MDS 1300 (大日本精機) を用いた。

*S. pneumoniae* 66 株に対し PCG の MIC を測定し,  $\leq 0.06 \mu\text{g}/\text{mL}$  を PSSP,  $0.12\text{--}1 \mu\text{g}/\text{mL}$  を PISP,

Table 1. Antibacterial activity of 5  $\beta$ -lactams against gram-positive clinical isolates

Strain (n = number of strain)	Antimicrobial agents	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	range
Methicillin-susceptible <i>S. aureus</i> : MSSA (n = 32)	ABPC	2	32	$\leq 0.06\text{--}32$
	CEZ	0.5	1	0.25-1
	CTM	0.5	1	0.5-1
	CTRX	4	4	2-4
	MEPM	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06\text{--}0.125$
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> : MRSA (n = 30)	ABPC	32	64	4- >128
	CEZ	>128	>128	128- >128
	CTM	>128	>128	64- >128
	CTRX	>128	>128	128- >128
	MEPM	32	64	2-128
<i>S. pyogenes</i> (n = 30)	ABPC	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	CEZ	0.125	0.125	$\leq 0.06\text{--}0.25$
	CTM	$\leq 0.06$	0.125	$\leq 0.06\text{--}0.125$
	CTRX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	MEPM	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
<i>S. agalactiae</i> (n = 30)	ABPC	$\leq 0.06$	0.125	$\leq 0.06\text{--}0.125$
	CEZ	0.125	0.125	0.125-0.5
	CTM	0.5	0.5	0.25-2
	CTRX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06\text{--}0.25$
	MEPM	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$

ABPC: ampicillin, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, CTRX: ceftriaxone, MEPM: meropenem

Table 2. Antibacterial activity of 6  $\beta$ -lactams against 66 strains of *Streptococcus pneumoniae*

Strain (n = number of strain)	Antimicrobial agents	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	range
Penicillin-susceptible <i>S. pneumoniae</i> : PSSP (n = 30)	PCG	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	ABPC	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	CEZ	$\leq 0.06$	0.125	$\leq 0.06\text{--}0.5$
	CTM	0.125	0.25	$\leq 0.06\text{--}0.5$
	CTRX	$\leq 0.06$	0.25	$\leq 0.06\text{--}0.25$
	MEPM	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06\text{--}0.25$
Penicillin-intermediate <i>S. pneumoniae</i> : PISP (n = 16)	PCG	0.125	1	0.125-1
	ABPC	0.125	1	$\leq 0.06\text{--}1$
	CEZ	0.5	2	$\leq 0.06\text{--}2$
	CTM	1	2	0.125-2
	CTRX	0.25	1	$\leq 0.06\text{--}1$
	MEPM	$\leq 0.06$	0.25	$\leq 0.06\text{--}0.25$
Penicillin-resistant <i>S. pneumoniae</i> : PRSP (n = 20)	PCG	2	4	2-4
	ABPC	2	2	1-2
	CEZ	4	4	2-4
	CTM	4	4	2-8
	CTRX	0.5	1	0.5-1
	MEPM	0.25	0.5	0.25-0.5

PCG: penicillin G, ABPC: ampicillin, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, CTRX: ceftriaxone, MEPM: meropenem

≥2 μg/mL を PRSP とした。

*S. pneumoniae* と *H. influenzae* の培地は Mueller-Hinton broth (DIFCO) にストレプト・ヘモサプリメント (栄研化学) を添加したものをを用いた。

*H. influenzae* の β-ラクタマーゼ産生性はニトロセフィン法<sup>14)</sup>によるセフィナーゼ (Becton Dickinson) をを用いた。

各薬剤の *S. aureus* (MSSA, MRSA), *S. pyogenes*, *S. agalactiae* に対するそれぞれの MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, MIC range を Table 1 に示した。MRSA に対する各薬剤の MIC はいずれも高値を示した。*S. pyogenes* および *S. agalactiae* に対する各薬剤の抗菌力は良好であった。

*S. pneumoniae* 66 株に対し PCG の MIC を測定した結果, PSSP 30 株, PISP 16 株, PRSP 20 株であった。*S. pneumoniae* に対する各薬剤の MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, MIC

range を Table 2 に示した。PSSP, PISP, PRSP に対する ABPC の MIC は PCG の MIC に比べて同じか 1 管低い値を示した。CEZ, CTM の MIC 分布は Fig. 1 で示すように明らかな二峰性分布を示した。CTR, MEPM は他の薬剤と比較すると緩徐ではあるがやはり二峰性分布の傾向が認められた。

*H. influenzae* 56 株のうち β-ラクタマーゼ産生株 17 株, 非産生株 39 株であった。β-ラクタマーゼ非産生の *H. influenzae* 39 株中 23 株は ABPC 感受性菌 (MIC < 1 μg/mL) であり, 残りの 16 株が BLNAR であった。*H. influenzae* に対する各薬剤の MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, MIC range を Table 3 に示した。

ABPC 感受性菌では, CEZ, CTM の MIC は広範囲に分布した。この傾向は β-ラクタマーゼ産生菌, BLNAR に対しても同様であった。MEPM の MIC<sub>90</sub> は ABPC 感

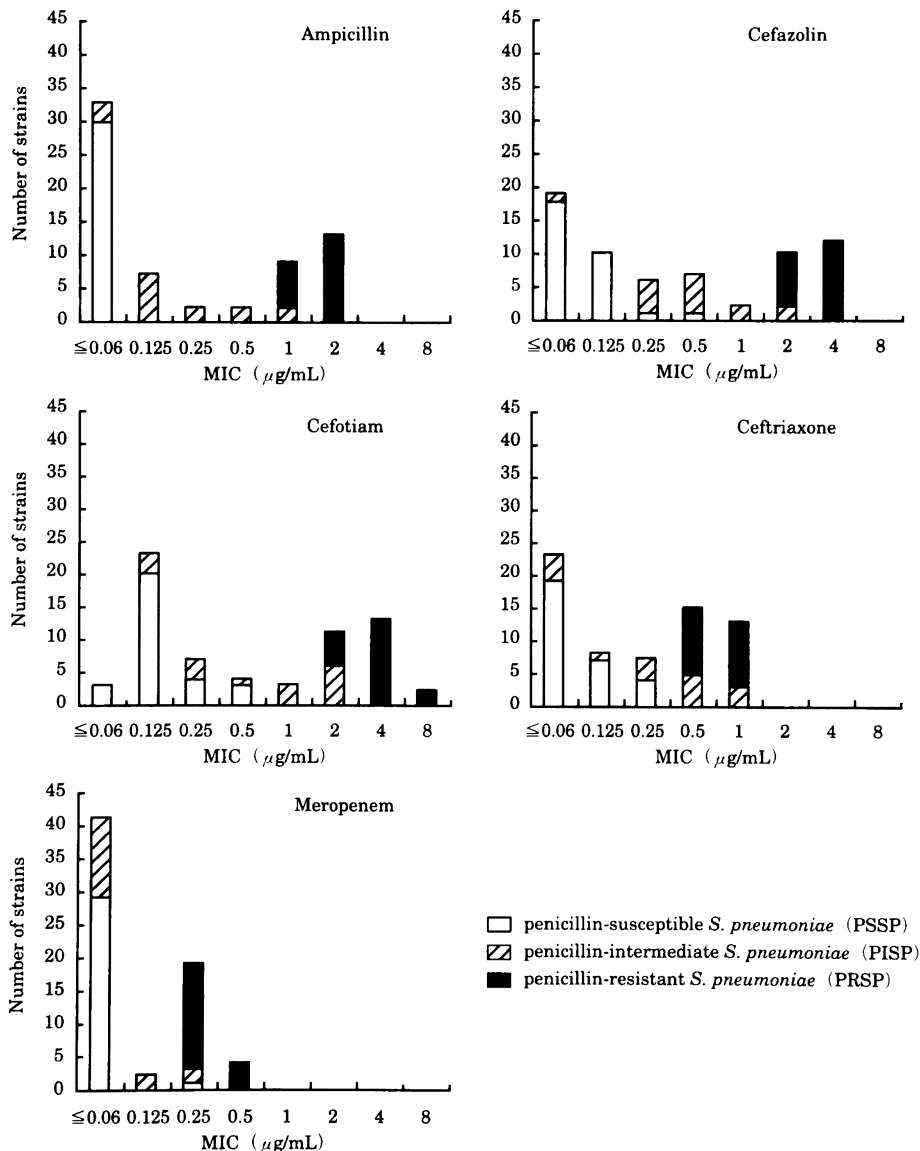


Fig. 1. MICs of 5 β-lactams for *Streptococcus pneumoniae*.

Table 3. Antibacterial activity of 5  $\beta$ -lactams against *Haemophilus influenzae* and *Klebsiella pneumoniae* strains

Strain (n = number of strain)	Antimicrobial agents	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )		
		MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	range
$\beta$ -lactamase negative	ABPC	0.25	0.5	0.125-1
ABPC susceptible	CEZ	1	8	0.25-128
<i>H. influenzae</i> (n = 23)	CTM	0.5	2	0.25-32
	CTRX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	MEPM	$\leq 0.06$	0.125	$\leq 0.06$ -0.25
$\beta$ -lactamase positive <i>H. influenzae</i> (n = 17)	ABPC	64	>128	32->128
	CEZ	16	128	2->128
	CTM	4	32	0.5-64
	CTRX	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$
	MEPM	$\leq 0.06$	0.25	$\leq 0.06$ -1
$\beta$ -lactamase negative ABPC resistant <i>H. influenzae</i> (BLNAR) (n = 16)	ABPC	2	8	2-8
	CEZ	128	>128	2->128
	CTM	32	128	2-128
	CTRX	$\leq 0.06$	0.125	$\leq 0.06$ -0.25
	MEPM	0.25	1	0.125-2
<i>K. pneumoniae</i> (n = 30)	ABPC	64	128	1->128
	CEZ	2	2	1->128
	CTM	0.25	0.5	0.125-128
	CTRX	$\leq 0.06$	0.125	$\leq 0.06$ -16
	MEPM	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$ -0.5

ABPC: ampicillin, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, CTRX: ceftriaxone, MEPM: meropenem

性、耐性菌にかかわらず  $1 \mu\text{g/mL}$  以下で概して良好であった。しかし、CTRX の MIC<sub>90</sub> は ABPC 感性菌、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌に対し  $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$  であった。また、BLNAR に対しても CTRX の MIC<sub>90</sub> は  $0.125 \mu\text{g/mL}$  であり MEPM よりも明らかに優れた抗菌力を示した。

*K. pneumoniae* に対して ABPC と CEZ の MIC<sub>50</sub> はそれぞれ 64,  $2 \mu\text{g/mL}$  と不良であった。その他の薬剤の MIC<sub>50</sub> は  $0.25 \mu\text{g/mL}$  以下とおおむね良好であり、特に、CTRX と MEPM の MIC<sub>50</sub> は  $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$  と優れていた。しかし CTM, CTRX の MIC がそれぞれ 128,  $16 \mu\text{g/mL}$  と耐性を示す株が 1 株存在した。本菌に対する MEPM の MIC は  $0.5 \mu\text{g/mL}$  であった。

今回用いた菌株は必ずしも起炎性が明らかではないが、すべて臨床検体から分離されたものである。

PRSP に対しては、今回検討した 5 薬剤の MIC<sub>90</sub> の値は  $0.5$ - $4 \mu\text{g/mL}$  で、PSSP と比較して明らかに感受性の低下が認められた。年々 PRSP の頻度は上昇しており、このことより重症肺炎など empiric therapy にこれらの薬剤を用いた場合、治療に難渋する可能性がある。

*H. influenzae* では、特に BLNAR の分離頻度が上昇しており問題になっている。今回検討した 5 薬剤とも ABPC 感性菌に比較して、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌、BLNAR で MIC の上昇が認められた。BLNAR に対し今回検討した  $\beta$ -ラクタム系薬の抗菌力を MIC<sub>90</sub> から比較すると CTRX < MEPM < CTM < CEZ の順であり、CTRX がもっとも優れた抗菌力を示した。CTRX が

MEPM よりも明らかに優れた抗菌力を示したことは特筆すべき結果であると考えられる。

BLNAR の耐性機序は *S. pneumoniae* と同様に PBP の変異であるが、*H. influenzae* の PBP は *E. coli* のそれと非常によく似ており、PBP 3 A, PBP 3 B の変異による薬剤親和性低下が関与するとされている<sup>10,15-17)</sup>。CTRX は PBP 3, 1 A, 1 B の順に親和性が高く<sup>18)</sup>、MEPM では PBP 3 に対する親和性ももつが PBP 2 に対する親和性が高い<sup>19)</sup>。CTRX はおもに PBP 3 に対する親和性が高いため CTRX がもっとも優れた抗菌力を示したものと考えられる。

*K. pneumoniae* に対しては CTM, CTRX は良好な感受性を示したが 1 株のみこれらの薬剤に耐性の株があった。この株に対する CTM, CTRX の MIC はそれぞれ 128,  $16 \mu\text{g/mL}$  であり、本菌が近年問題となっている extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) の産生による耐性が疑われた。ESBL 産生菌は、オキシイミノ系  $\beta$ -ラクタム薬を効率よく分解するが、セファマイシン系薬やカルバペネム系薬は分解できない。今回検討した抗菌薬にはセファマイシン系薬は含まれておらず、MEPM の MIC は  $0.5 \mu\text{g/mL}$  であった。本邦では、ESBL 産生 *K. pneumoniae* は 1% 以下<sup>20)</sup> とその検出率は高くないが、今後増加するものと懸念され院内における耐性菌の蔓延を防止するために簡便な ESBL 産生菌を検出するスクリーニング法が求められる。

#### 文 献

- 1) 池本英雄, 渡辺一功, 森 健, 他: 呼吸器感染症患

- 者分離菌の薬剤感受性について (1997年)。Jpn. J. Antibiotics 52: 353~397, 1999
- 2) 竹村 弘, 原 隆志, 嶋田甚五郎: EBM (Evidence Based Medicine) と抗菌化学療法。治療 82: 603~610, 2000
  - 3) 嶋田甚五郎, 中塩哲士: 一次医療機関における呼吸器感染症由来分離菌の薬剤感受性。日治療会誌 42: 1103~1113, 1994
  - 4) Hansman D, Bullen M M: A resistant pneumococcus. Lancet 2: 264~265, 1967
  - 5) ペニシリン耐性肺炎球菌研究会 (代表者) 紺野昌俊: 全国各地で分離された肺炎球菌の疫学的研究。感染症学雑誌 68: 1338~1351, 1994
  - 6) 松本久美, 白石恒明, 力丸 徹, 他: 成人呼吸器感染症由来の肺炎球菌の耐性化の現状。感染症学雑誌 73: 1187~1193, 1999
  - 7) 小栗豊子, 三澤成毅, 中村文子, 他: 日常検査における耐性菌の検出法; ペニシリン耐性肺炎球菌の検査法とその疫学。臨床病理 (特) 111: 48~55, 2000
  - 8) 青野昭男: *Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* の分離状況と汎用経口薬に対する感受性。日本臨床微生物学雑誌 10: 67~74, 2000
  - 9) 生方公子: 各研究会員より送られてきた検体からの検出菌と薬剤感受性について。Jap. J. Antibiotics 52: 48~56, 1999
  - 10) 生方公子: 話題の耐性菌とその耐性機構; PRSP と BLNAR。臨床病理 (特) 111: 17~25, 2000
  - 11) Sheldon M M: Isolation of an Ampicillin-Resistant, Non- $\beta$ -Lactamase Producing Strain of *Haemophilus influenzae*. Antimicrob. Agents Chemother. 17: 80~83, 1980
  - 12) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Approved standard M 7-A 4, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically-4 th ed.2 1997
  - 13) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Ninth Informational Supplement M 100-S 9, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 1999
  - 14) Swenson J M, Hindler J A, Peterson L R: Special Tests for Detecting Antibacterial Resistance. Manual of Clinical Microbiology, 6 th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1356~1367, 1995
  - 15) 生方公子, 千葉菜穂子, 中山信子, 他: 薬剤耐性機構からみた $\beta$ -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌 (BLNAR) の特徴。日本臨床微生物学雑誌 9: 22~29, 1999
  - 16) Clairoux N, Picard M, Brochu A, et al.: Molecular basis of the non- $\beta$ -lactamase-mediated resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics in strains of *Haemophilus influenzae* isolated in Canada. Antimicrob. Agents Chemother. 25: 747~753, 1984
  - 17) Thomas R P Jr, 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
  - 18) 横田 健, 関口玲子, 鈴木映子: Ceftriaxone (Ro 13-9904) の $\beta$ -lactamase に対する安定性, ペニシリン結合タンパク質に対する親和性, および補体ならびにマクロファージとの協力的殺菌作用。Chemotherapy 32: 16~21, 1984
  - 19) 岡本了一, 井上松久: カルバペネム系抗生剤-panipenem/betamipron, meropenem-抗菌力。臨床と微生物 19: 761~766, 1992
  - 20) 井上松久: 話題の耐性菌とその耐性機構; ESBL。臨床病理 (特) 111: 36~39, 2000

Antimicrobial activity of various  $\beta$ -lactams against 274 strains isolated from respiratory samples in Japan

Shigemi Terakubo, Keiji Kanemitsu, Hiromu Takemura, Nino Okamura,  
Hiroyuki Kunishima, Hideaki Ikejima, Hiroyuki Yamamoto,  
and Jingoro Shimada

Department of Microbiology, St. Marianna University School of Medicine, 2-16-1 Sugao, Miyamae-ku,  
Kawasaki, 216-8511, Japan

Two-hundred and seventy-four strains belonging to 6 species (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*) were clinically obtained from sputum, bronchoalveolar lavage fluid, nasal discharge and miscellaneous samples at St. Marianna University Hospital between August 1998 and December 1999. These species represent the main causative organisms of respiratory tract infections (RTI). The antimicrobial activity of 5  $\beta$ -lactams, ampicillin (ABPC), cefazolin (CEZ), cefotiam (CTM), ceftriaxone (CTRX) and meropenem (MEPM) against these strains were evaluated using microdilution methods to assess the recent incidence of resistant strains. All strains of *S. pyogenes*, *S. agalactiae* and *K. pneumoniae* were susceptible to CTM, CTRX, and MEPM, except for one strain of *K. pneumoniae* that was resistant to CTRX but susceptible to MEPM. MEPM was the most active of the 5 tested agents against *S. pneumoniae*, including penicillin resistant *S. pneumoniae* (PRSP). However, the activity of CTRX was almost the same as that of MEPM. CTRX was the most active agent against *H. influenzae*, including  $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant *H. influenzae* (BLNAR). The MIC<sub>50</sub>s of CTRX was 0.125  $\mu$ g/mL for BLNAR and  $\leq 0.06$   $\mu$ g/mL for other strains of *H. influenzae*.