

## ●症 例

## β-lactamase 産生 amoxicillin/clavulanate 耐性インフルエンザ桿菌性肺炎の 1 例

矢野 量三 高柳 昇 鍵山 奈保 原沢 慶次 松下 文  
 米田 紘一郎 宮原 庸介 山口 昭三郎 徳永 大道 齊藤 大雄  
 倉島 一喜 生方 幹夫 柳沢 勉 杉田 裕

要旨：症例は 80 歳女性。発熱，咳嗽を主訴に入院。市中肺炎と診断して，Ampicillin/sulbactam (ABPC/SBT)，Clarithromycin (CAM) を投与した。喀痰のグラム染色所見と培養結果よりインフルエンザ桿菌が起病菌であると判定した。インフルエンザ桿菌は β-lactamase 陽性で，ABPC 耐性であったため，β-lactamase 産生 ABPC 耐性菌 (BLPAR) を疑った。しかし，ABPC/SBT，CAM が無効であった。β-lactamase 産生 amoxicillin/clavulanate 耐性菌 (BLPACR) の可能性を考え，検査を追加した。その結果，ABPC の MIC は 128μg/ml，ABPC/SBT の MIC は 8μg/ml，AMPC/CVA の MIC が 4μg/ml であった。さらに，インフルエンザ桿菌の遺伝子検査を施行し，BLPACR-I と診断した。本例は臨床像から BLPACR による肺炎の可能性を考え，検査を追加することにより BLPACR であると判明した。インフルエンザ桿菌が培養された市中肺炎例の菌が，βラクタマーゼ陽性と判明した場合でも，ABPC/SBT や AMPC/CVA が無効な BLPACR の可能性があることに注意する必要がある。

キーワード：市中肺炎，インフルエンザ桿菌，β-lactamase 産生 ABPC 耐性菌 (BLPAR)，  
 β-lactamase 産生 amoxicillin/clavulanate 耐性菌 (BLPACR)  
 Community-acquired pneumonia, *Haemophilus influenzae*,  
 β-lactamase-positive ampicillin-resistant (BLPAR) strains,  
 β-lactamase-positive amoxicillin/clavulanate resistant (BLPACR) strains

## 緒 言

インフルエンザ桿菌は市中肺炎の原因微生物として比較的頻度の高いものであり，当院でも，全体の 5.9% を占め，第 4 位の起病菌であった<sup>1)</sup>。生方らは 1998 年から 2000 年の 3 年間に 187 施設より送られたインフルエンザ桿菌 1,408 株の耐性パターンを PCR 解析し，6 タイプに識別した<sup>2)</sup>。その 6 つは，①いずれの耐性遺伝子をもたない β-lactamase 非産生 Ampicillin (ABPC) 感性菌 (BLNAS)，② TEM-1 type β-lactamase 産生 ABPC 耐性菌 (BLPAR)，③ *fts I* 遺伝子に Lys-526 変異をもつ β-lactamase 非産生低レベル ABPC 耐性菌 (Low-BLNAR)，④ Lys-526 とさらに保存性アミノ酸配列の Ser-Ser-Asn 周囲に 3 つのアミノ酸変異をもつ β-lactamase 非産生 ABPC 耐性菌 (BLNAR)，⑤ TEM-1 と Low-BLNAR 耐性遺伝子を保持する β-lactamase 産生 amoxicillin / clavulanate (AMPC / CVA) 耐性菌

(BLPACR-I)，⑥ TEM-1 と BLNAR の耐性遺伝子を保持する β-lactamase 産生 AMPC/CVA 耐性菌 (BLPACR-II) である。

当院のインフルエンザ桿菌市中肺炎の大多数は ampicillin/sulbactam (ABPC/SBT) が有効であった。今回提示する症例は喀痰グラム染色でインフルエンザ桿菌が起病菌であると想定し ABPC/SBT を投与した。翌日インフルエンザ桿菌が純培養された。βラクタマーゼ陽性，ABPC の MIC 8μg/ml 以上の結果が得られたため BLPAR を疑った。ABPC/SBT が有効であると予想したが，臨床的に無効であった。BLPACR の可能性を考えさらなる検査を追加し，BLPACR-I と判明した。集積したインフルエンザ桿菌に占める BLPACR の頻度の検討はいくつかなされているが，臨床像から BLPACR を疑い，確定した症例は少ないため文献的考察を加え報告する。

## 症例呈示

症例：80 歳，女性。

主訴：発熱，咳嗽。

既往歴：1954 年 肺結核にて胸郭形成術 (3 回)，1996

Table 1 Laboratory data on admission

WBC	15,500/ $\mu$ l	<i>M.pneumoniae</i> Ab	< $\times$ 40
Hb	11.2 g/dl	<i>Ch.pneumoniae</i> Ab IgG/IgA	2.07/1.26
Plt	$33.7 \times 10^4$ / $\mu$ l	<i>Ch.psittaci</i> Ab IgM/IgG	< $\times$ 10 / < $\times$ 10
LDH	180 U/l	<i>Ch.psittaci</i> Ab(CF)	< $\times$ 4
AST	17 IU/l	<i>Legionella</i> Ab	512titer
ALT	7 IU/l	Influenza A Ab H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> /H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	40 $\times$ / 40 $\times$
ESR	93 mm/hr	Influenza B Ab	80 $\times$
CRP	35.2 mg/dl	Influenza rapid diagnostic test	
Arterial blood gas analysis (room air)		Flu A	( - )
pH	7.450	Flu B	( - )
PaCO <sub>2</sub>	46.8 torr		
PaO <sub>2</sub>	63.3 torr		
Urinary <i>Legionella</i> Ag	( - )		
Urinary <i>S.pneumoniae</i> Ag	( - )		

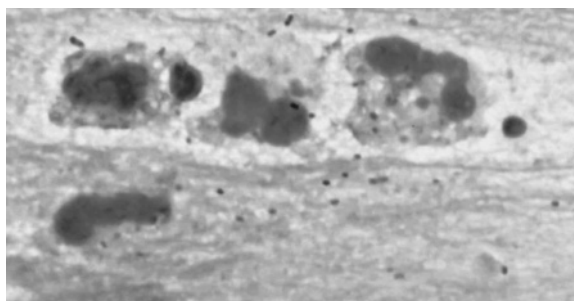


Fig. 1 Gram stain of sputum shows neutrophils phagocytosing gram-negative rods like *H. influenzae*.

年 肺炎に罹患し Cefozopran で改善, 1999 年から 2003 年 1 月 非結核性抗酸菌症にて Rifampicin, Levofloxacin, Ethambutol の治療歴あり.

家族歴: 特記事項なし.

喫煙歴: なし.

現病歴: 肺結核後遺症, 非結核性抗酸菌症にて 1999 年 5 月より当院呼吸器内科で経過観察中であった. 2003 年 8 月 29 日より咳嗽, 黄色痰を認めた. 8 月 31 日, 40°C の発熱を認め, 9 月 1 日当院を受診した. 胸部 X 線写真で右中下肺野, 左下肺野に新たに浸潤影を認め, 肺炎の診断で緊急入院した.

入院時現症: 身長 152cm, 体重 33.9kg, 体温 37.6°C, 脈拍 112/分 整, 血圧 155/63mmHg, 結膜に貧血・黄疸なし. 表在リンパ節触知せず. 心雑音聴取せず. 右下肺野の呼吸音減弱を認めた. 腹部所見に特記すべき所見なし. チアノーゼなし, ばち指なし.

入院時検査所見 (Table 1): 入院時血液ガスは室内気吸入下で pH 7.45, PaCO<sub>2</sub> 46.8Torr, PaO<sub>2</sub> 63.3Torr であり, 準呼吸不全を認めた. 末梢血液中白血球数は 15,500/ $\mu$ l と上昇を認めた. 炎症反応は CRP 35.2mg/dl, 赤沈 1 時間値 93mm と亢進していた. インフルエンザウイル

ス A, B 抗原は陰性, 肺炎球菌尿中抗原陰性, レジオネラ尿中抗原陰性であった. 各種感染症の抗体価は経過中有意な上昇を認めなかった. 喀痰の品質評価は Miller & Johns 分類で P3, Geckler 分類では 5 群であった. グラム染色では, 白血球貪食像を認めるグラム陰性の短桿菌を認めた (Fig. 1).

入院時胸部 X 線写真 (Fig. 2): 右胸郭形成術後の変形を認め, 右中下肺野, 左下肺野に新たな浸潤影を認めた.

入院時胸部 CT (Fig. 2): 右下葉に気管支透亮像を伴うコンソリデーションを認め, 左下葉には, 小葉中心性小粒状影とそれが融合した陰影を認めた.

入院後経過 (Fig. 3): 発熱, 咳嗽, 痰などの症状を認め, 胸部 X 線写真上新たな浸潤影を認めたことより肺炎と診断した. 喀痰グラム染色の所見よりインフルエンザ桿菌が起炎菌であると推定し, ABPC/SBT 6g/2 $\times$  の投与を開始し, 呼吸器学会市中肺炎ガイドラインより重症と判定し Clarithromycin (CAM) 400mg/2 $\times$  の併用を開始した. 抗菌薬投与にもかかわらず, 発熱は 38.5 度以上を継続し, 第 3 病日の採血検査では白血球 17,200/ $\mu$ l, CRP 30.9mg/dl と依然として炎症反応高値を認めたため, 第 4 病日より ABPC/SBT を中止し, Biapenem (BIPM) 0.6g/2 $\times$  に変更した. 以後, 発熱, 炎症反応は速やかに鎮静化し, 第 20 病日に退院した.

喀痰検査: 抗菌薬投与前の喀痰よりインフルエンザ桿菌が純培養された. インフルエンザ桿菌に対する院内での検査結果を Table 2 に示した. BLPAR と考えたが ABPC/SBT 無効より BLPACR の可能性を考え検査を追加した. その結果, ABPC の MIC は 128 $\mu$ g/ml, ABPC/SBT の MIC は 8 $\mu$ g/ml, AMPC/CVA の MIC が 4 $\mu$ g/ml であった (Table 3). さらに, インフルエンザ桿菌の遺伝子検査を施行した (Fig. 4). P6 増幅があ

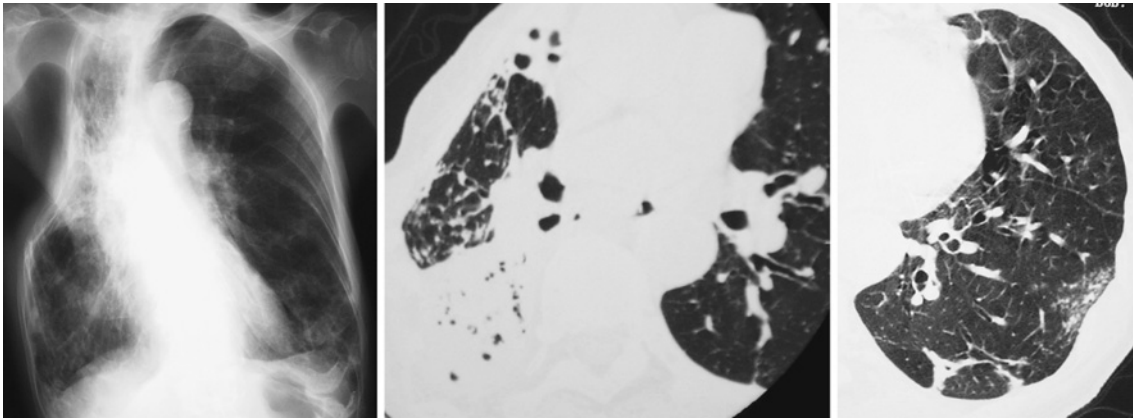


Fig. 2 Chest X-ray and CT findings on admission show new consolidation in the right lower lobe, and patchy and centrilobular opacities in the left lower lobe.

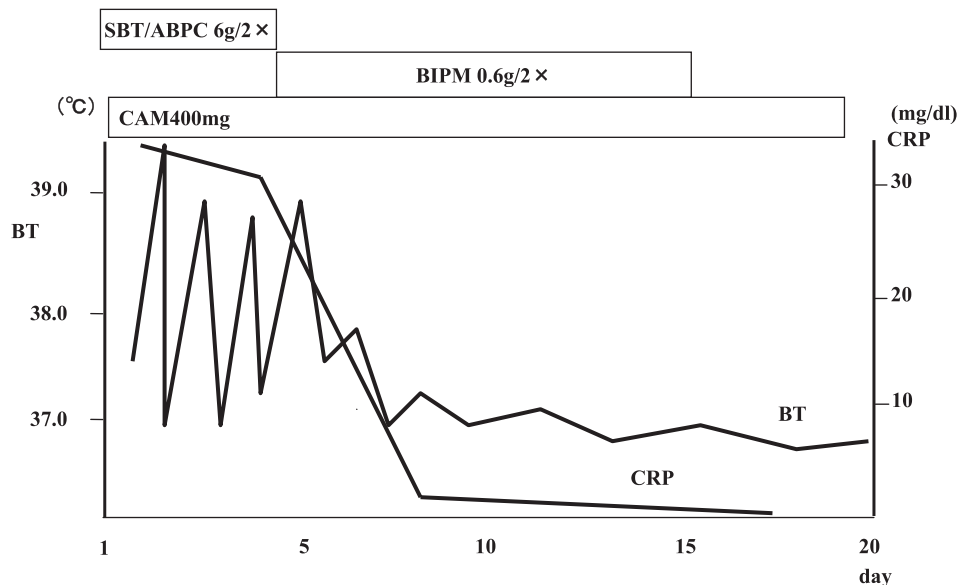


Fig. 3 Clinical course

りインフルエンザ桿菌であると確認され、TEM型βラクタマーゼをもつこと、正常のpenicillin-binding protein (pbp) 3-1がなく、異常なpbp3-2がないことよりBLPACR-Iと診断した。

### 考 察

本例はABPC/SBTが臨床的に無効であったインフルエンザ桿菌市中肺炎例である。ABPC/SBT 6g/日の効果不十分の原因として、①ABPC/SBTの抗菌活性を示さない他の一般細菌との混合感染の可能性、②非定型肺炎との混合感染の可能性、③培養で得られたインフルエンザ桿菌がABPC/SBTに対し耐性を獲得している可能性の3項目が考えられた。①に関しては、入院時の喀痰の肉眼的品質評価、顕微鏡的評価、グラム染色像よりイ

ンフルエンザ桿菌が起原因菌と十分に推定でき、純培養でインフルエンザ桿菌が得られたことより可能性は低いと考えた。②に関しては、入院時よりCAMの内服を併用していること、ペア血清でレジオネラ抗体も含め非定型肺炎の抗体価の上昇のないことより、否定的と考えた。臨床経過から③、すなわち、ABPC/SBT耐性を獲得したインフルエンザ桿菌である可能性を考え、更なる検査を行なった。

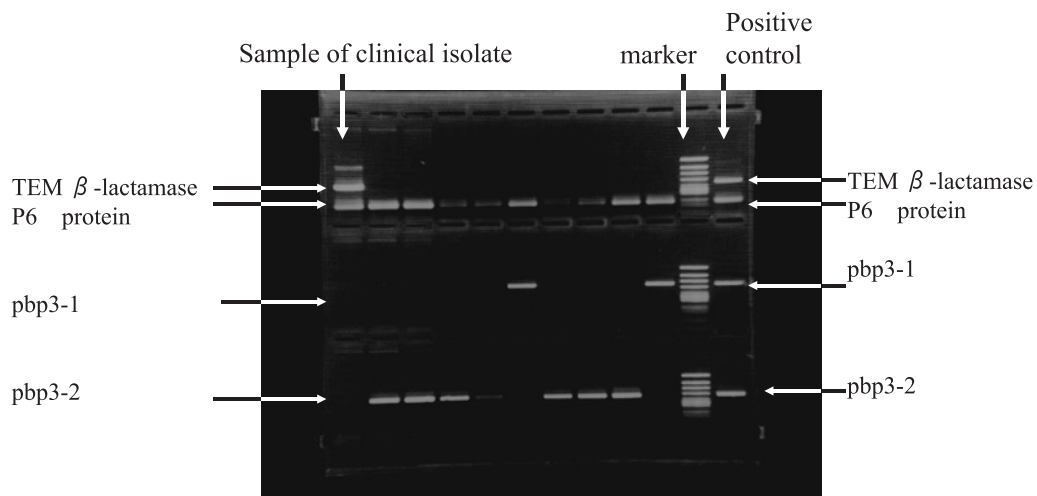
インフルエンザ桿菌のβラクタマーゼは、TEM-1型不活化酵素産生菌と頻度の低いROB-1型不活化酵素産生菌がある。本例ではTEM-1遺伝子の増幅を認める事から、TEM-1型βラクタマーゼであると確認された。ペニシリン結合蛋白であるpbp3-1は正常遺伝子で、この遺伝子の増幅を認めるとβラクタム系薬の感受性を

**Table 2** Sputum culture results, production of  $\beta$ -lactamase from clinical isolates, and MICs of 12 antimicrobial agents

Sputum culture: <i>H.influenzae</i> 3 + $\beta$ -lactamase ( + )	
Antimicrobial agents	MIC ( $\mu$ g/ml)
Ampicillin	> 8
Cefaclor	> 16
Cefditoren	< 0.12
Cefazolin	> 4
Cefotaxime	< 0.12
Cefotiam	> 4
Flomoxef	> 4
Imipenem/cilastain	1
Meropenem	0.25
Levofloxacin	< 0.25
Minocycline	< 0.25
Sulfamethoxazole trimethoprim	< 5

**Table 3** MICs of 4 antimicrobial agents for clinical isolates of *H.influenzae*

Antimicrobial agents	MIC ( $\mu$ g/ml)
Ampicillin	128
Amoxicillin/Clavulanate	4
Ampicillin/Sulbactam	8
Biapenem	2



Note: PBP=penicillin-binding protein

**Fig. 4** PCR assays used to identify drug resistance genes showed the *H. influenzae* from our patient to have P6 protein and TEM-1  $\beta$ -lactamase but not PBP3-1 or PBP3-2 proteins.

示すことになる。ペニシリン結合蛋白の遺伝子である *fts I* の Lys-526 に変異を持つ  $\beta$  ラクタマーゼ非産生性で低レベルの ABPC 耐性菌 (Low-BLNAR) では、*pbp3-1* は認めない。本例のインフルエンザ桿菌は *pbp3-1* の増幅を認めなかった。また、BLNAR はペニシリン結合蛋白

の遺伝子 *fts I* の Lys-526 と保存性アミノ酸配列の Ser-Ser-Asn 周囲に 3 つのアミノ酸変異を持ち、遺伝子解析では、耐性遺伝子 *pbp3-2* の増幅を認める。本症例ではこの *pbp3-2* の増幅は認めなかった。本例のインフルエンザ桿菌の遺伝子解析結果をまとめると、TEM-1 型  $\beta$

ラクタマーゼ産生を認め、Low-BLNARと同じ耐性遺伝子を獲得したインフルエンザ桿菌で、すなわちBLPACR-Iと確認された<sup>2)3)</sup>。

BLPACRは、1997年Doernらによりはじめて報告された。彼らは1994年から1995年に臨床分離されたインフルエンザ桿菌1,537株のうち560株がβラクタマーゼ産生菌であり、その3%にあたる17株がAMPC/CVA耐性であったと報告している<sup>4)</sup>。その頭文字をとってBLPACRと命名している。我が国でも、1998年にはじめてIshiwadaらが<sup>5)</sup>、インフルエンザ桿菌1,246株中8株(0.6%)がBLPACRであったと報告した<sup>5)</sup>。また、綿貫らは1998年に臨床分離されたインフルエンザ桿菌144株中12株(8.3%)がBLPACRであり<sup>6)</sup>、渡邊らは2000年に、インフルエンザ桿菌178株中の2株がBLPACRであったと報告している<sup>7)</sup>。また、Marcoらは2001年に、インフルエンザ桿菌1,730株中2株(0.1%)がBLPACRであり<sup>8)</sup>、Kimらは2007年に、インフルエンザ桿菌229株中19株(8.3%)がBLPACRと報告している<sup>9)</sup>。Hasegawaらは髄膜炎の起因菌となったインフルエンザ桿菌395株中36株(9.1%)がBLPACR-I、7株(1.8%)がBLPACR-II<sup>10)</sup>であり、年毎にその頻度が増加している一方、BLPARの頻度が次第に低下していると報告している。症例報告としては、石和田らが、肺炎例でABPC/SBTによる治療で症状の改善がなくCeftriaxoneにて治癒した3歳児例を報告している<sup>11)</sup>。BLPACRの感染した経緯は、病歴上LVFX、CAMのコンプライアンスが不良で、内服が断続的であったこと、それから家族構成が三世同居しており、小児との接触が頻繁であったことが考えられた。上記のようにBLPACRの報告の多くは、集積したインフルエンザ桿菌に占める頻度を検討したものであり、臨床像から疑ってBLPACRと判明したものは少ない。

本例は8カ月前まで非結核性抗酸症に対して長期間抗結核菌薬が投与されていた症例であった。今後BLPACRによる市中肺炎の臨床像、特に抗菌薬の投与歴との関係などの集積が望まれる。また、インフルエンザ桿菌が培養された市中肺炎例の菌が、βラクタマーゼ陽性と判明した場合でも、ABPC/SBTやAMPC/CVAが無効なBLPACRの可能性のあることを常に注意する必要があると考えた。

## 引用文献

1) 高柳 昇, 原健一郎, 徳永大道, 他. 市中肺炎入院症例の年齢別・重症度別原因微生物と予後. 日呼吸会誌 2006; 44: 906—915.

2) 生方公子, 千葉菜穂子, 小林玲子, 他. 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. 日化療会誌 2002; 56: 794—804.

3) Vlatka M, Bulent B, Michael R, et al. Contribution of β-lactamase and PBP amino acid substitutions to amoxicillin/clavulanate resistance in β-lactamase-positive, *Haemophilus influenzae* amoxicillin/clavulanate-resistance. J Antimicrob Chemother 2003; 52: 1018—1021.

4) Doren GV, Brueggemann AB, Pierce G, et al. Antibiotic Resistance among Clinical Isolates of *Haemophilus influenzae* in the United States in 1994 and 1995 and Detection of β-Lactamase-Positive Strains Resistant to Amoxicillin-Clavulanate: Results of a National Multicenter Surveillance Study. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 292—297.

5) Ishiwada N, Kuroki H, Ishikawa N, et al. Characteristics of β-Lactamase-Producing and Amoxicillin-Clavulanate-Resistant Strains of *Haemophilus influenzae* Isolated from Pediatric Patients. J Infect Chemother 1998; 4: 112—115.

6) 綿貫祐司, 小田切繁樹, 高橋 宏, 他. 喀痰より分離されたインフルエンザ菌のβ-ラクタム系薬耐性化と患者背景との関係. 日化療会誌 2001; 49: 489—494.

7) 渡邊信介, 二木芳人, 玉田貞雄, 他. 臨床分離 *Haemophilus influenzae* の薬剤感受性に関する検討. 日化療会誌 2000; 48: 333—340.

8) Marco F, Garcia-de-Lomas J, Garcia-Rey C, et al. Antimicrobial Susceptibilities of 1730 *Haemophilus influenzae* Respiratory Tract Isolates in Spain in 1998-1999. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 3226—3228.

9) Kim IS, Kim CS, Kim S, et al. Diversity of Ampicillin Resistance Genes and Antimicrobial Susceptibility Patterns in *Haemophilus influenzae* Strains Isolated in Korea. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 453—460.

10) Hasegawa K, Chiba N, Kobayashi R, et al. Rapidly Increasing Prevalence of β-Lactamase-Nonproducing, Ampicillin-Resistant *Haemophilus influenzae* Type b in Patients with Meningitis. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 1059—1064.

11) 石和田稔彦, 中村 明. SBT/ABPC耐性βラクタマーゼ産生 *Haemophilus influenzae* 肺炎の一例. 小児感染免疫 1996; 8: 142.

## Abstract

**A case of pneumonia caused by  $\beta$ -lactamase-producing and amoxicillin/clavulanate resistant strains of *H. influenzae***

Ryozo Yano, Noboru Takayanagi, Naho Kagiya, Keiji Harasawa, Fumi Matusita, Kouichirou Yoneda, Yousuke Miyahara, Shouzaburo Yamaguchi, Daidou Tokunaga, Hiroo Saito, Kazuyoshi Kurashima, Mikio Ubukata, Tsutomu Yanagisawa and Yutaka Sugita  
Department of Respiratory Medicine, Saitama Cardiovascular and Respiratory Center

An 80-year-old woman presenting with fever and cough was given a diagnosis of community-acquired pneumonia. She was hospitalized and treated with ampicillin/sulbactam (ABPC/ST) and clarithromycin (CAM). Gram stain images and sputum culture results led us to believe that the causative agent was *Haemophilus influenzae*. Drug sensitivity testing indicated that the *H. influenzae* was a  $\beta$ -lactamase-positive, ABPC-resistant (BLPAR) strain. Treatment with ABPC/ST was not clinically effective. We considered the possibility of  $\beta$ -lactamase-positive amoxicillin/clavulanate-resistant (BLPACR) strains. Further testing revealed that the MIC of ABPC was 128 $\mu$ g/ml, that of ST/ABPC was 8 $\mu$ g/ml, and that of AMPC/CVA was 4 $\mu$ g/ml. Furthermore, genetic analysis indicated the *H. influenzae* to be a BLPACR-I strain. The poor clinical course eventually led to a diagnosis of BLPACR. When  $\beta$ -lactamase-producing *H. influenzae* is cultured, the possibility of a BLPACR strain resistant to ABPC/ST and AMPC/CVA must be considered.