

市中肺炎患者より分離された肺炎球菌におけるマクロライド耐性遺伝子 (*erm* AM 及び *mef* E) の保有状況

Prevalence of *mef* E and *erm* AM a macrolide resistance gene in *Streptococcus pneumoniae*
isolated from patients with community-acquired pneumonia

遠藤 菊太郎* 塚田 由紀** 伊藤 三佳***

Kikutarou Endou*, Yuki Tsukada** and Mika Itoh***

Abstract

Community-acquired pneumonia (CAP) is often caused by *Streptococcus pneumoniae*. The first defense against fighting CAP is by prescribing β -lactam antibiotics. However, in some occasions patients show some drug-resistant. The ketolide (belonging to the 14-membered ring macrolide) has been developed as an alternative treatment in fighting these infectious diseases of drug-resistant *S. pneumoniae*. Telithromycin (belonging to the ketolide), has been used for the treatment of CAP from 2003 to 2012. Many of pneumococci are known to be cross-resistant to macrolide-lincosamide-streptogramin type B antibiotics (MLS_B). In this study, we are investigating the variation of the susceptibility and the drug-resistant gene of pneumococcal for ketolide and MLS_B. The CAP patients, in Hokkaido Japan, were clinically isolated and used in this study.

We focused in on two specific gene phenotypes, *erm* AM and *mef* E gene, which cause the drug-resistant of MLS_B in *S. pneumoniae*. The *erm* AM gene encodes a methyltransferase that catalyzes the methylation of specific adenine residues in the 23S rRNA of the 50S subunit. *Mef* E gene encodes a cell membrane protein that acts as erythromycin efflux pump, which reduces the concentration of antibiotics in bacteria.

The results from the clinical isolated of *S. pneumoniae* in 2000 (107 strains) and 2005 (103 strains) were used to assess the experiment for susceptibility and of the drug-resistant gene: The MIC₉₀ of the MLS_B for all strains in 2000 was 128 μ g/mL. The MIC₉₀ of rokitamycin was 64 μ g/mL, mikamycin B was 16 μ g/mL. The MIC value of MLS_B, and mikamycin B were both 128 μ g/mL for all strains in 2005. MIC values of ketolides for all pneumococcal strains was less than 0.4 μ g/mL. Further, MIC₉₀ of cethromycin was no more than 0.05 μ g/mL. The strains with *erm* AM gene alone decreased from 52.3% to 41.8%, oppositely, the strains with *mef* E gene alone increased from 26.2% to 30.4%. However, adding the combined strain with both *erm* AM and *mef* E gene to *erm* AM gene alone increased from 54.2% to 55.9%. In 2005, a strain containing both *erm* AM and *mef* E gene increased by 6.9%, due to the spread of the distribution of the overlapping genes. Since telithromycin and cethromycin never share patterns of cross-resistance with MLS_B. The results suggested that they act effectively against pneumococcal with MLS_B drug-resistance gene.

1. 目的

肺炎による死亡は年少者と高齢者で多く、近年高齢化による高齢者の人口増加の影響を受けて、死亡率は増加傾向にある⁽¹⁾。その原因の多くは肺炎球菌であり、細菌性と診断された場合にはペニシリン系抗菌薬、非定型性の場合には、マクロライド系抗菌薬(Mac)が選択される⁽²⁾。本邦においてMacが第一選択薬とならない理由は、Mac耐性肺炎球菌が非常に多い事に他ならない。実際に肺炎球菌のMac耐性率の低いアメリカにおいて、肺炎治療は細菌性あるいは非定型性かの微生物

検査を行わず、エンペリック治療により抗菌薬が選択され、主にMacが使用されている^(3,4)。

肺炎球菌におけるMac耐性は主に*erm*遺伝子と*mef*遺伝子の獲得による。*erm*遺伝子は23S rRNAをジメチル化するメチラーゼをコードしており、細菌リボソームの50Sサブユニットが質的变化を起こし、抗菌薬のリボソームへの結合を阻害する。*mef*遺伝子は能動的排出ポンプをコードしており、細菌内の抗菌薬濃度を低下させる^(5,6)。

近年では、ペニシリン耐性の肺炎球菌も問題となっ

*北海道科学大学保健医療学部理学療法学科

**自治医科大学付属病院 薬剤部

***北海道科学大学保健医療学部看護学科

ている⁽⁷⁾。基礎疾患、危険因子がない市中肺炎患者において、ペニシリン耐性肺炎球菌の感染が疑われる場合、ケトライド系抗菌薬であるテリスロマイシンの使用が推奨されている⁽²⁾。テリスロマイシンは 14 員環 Mac の誘導体で、14 員環ラク톤の 3 位がケトンに置換された構造を持ち、ペニシリン耐性、Mac 耐性肺炎球菌にも抗菌活性を示す^(8,9)。テリスロマイシンは 2001 年 10 月にドイツで初めて発売され、日本では 2003 年 12 月に使用が認証された。しかし、抗菌薬の使用と共にテリスロマイシン耐性菌が出現することは過去の事例からも予想される^(10,11)。

そこで、北海道の市中肺炎患者から分離された肺炎球菌を使用してテリスロマイシンを含むケトライド系抗菌薬、マクロライド・リンコサマイド・ストレプトグラミン B (MLS_B) に対する感受性、耐性遺伝子保有状況の変動を検討することにより、肺炎球菌による重篤な感染症の予防や、治療に寄与できると考える。

2. 実験方法と材料

2.1 使用菌株

北大病院に来院した市中肺炎患者より 2000 年に分離された *Streptococcus pneumoniae*、107 株 (HP00-024~HP00-130 株) と、2005 年に分離された 103 株 (HP05-001~HP05-103 株 (HP05-026 は欠損)) を使用した。対照株として、Mac 系薬剤感受性株である *S. pneumoniae* ATCC49619 及び *Staphylococcus aureus* ATCC29213 を使用した。

2.2 培地

菌体発育用として 5% 羊血液添加 Trypticase Soy Ager 平板 (TSA 5%SB) は BD 製を用いた。薬剤感受性測定用培地は、CaCl₂ と MgCl₂ を Ca²⁺ 50 mg/L、Mg²⁺ 25 mg/L となる様に添加した Muller-Hinton broth (MHB) 60 mL にストレプト・ヘモサプリメント ‘栄研’ 1 mL を加えたものを使用した。

2.3 試薬

CaCl₂、MgCl₂ は特級を使用した。ストレプト・ヘモサプリメント ‘栄研’ は栄研化学株式会社製を用いた。Tris hydroxymethyl aminomethane (Tris) は生化学用を使用した。dNTP Mix (dATP, dCTP, dGTP, dTTP 各 10 mM)、Go Taq® Flexi DNA Polymerase (Go Taq® DNA polymerase、5× Green Go Taq® Flexi Buffer) は Promega 製を使用した。電気泳動用アガロースはナカライテス

ク株式会社製を使用した。Ethidium bromide (EtBr) は和光製薬株式会社製を使用した。DNA マーカーは Fermentas 製の GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus を使用した。

2.4 使用薬剤

ケトライドである Cethromycin (ABT773) はアボットジャパン株式会社、Telithromycin (TEL) は旧アベンティスファーマ株式会社、14 員環マクロライドの Erythromycin (EM) はシグマアドルリッチジャパン株式会社、Clarithromycin (CAM)、15 員環マクロライドの Azithromycin (AZM) はファイザー製薬株式会社、16 員環マクロライドの Rokitamycin (RKM) は旭化成株式会社、リンコマイシン系の Clindamycin (CLDM) は日本アップジョン、ストレプトグラミン B に属する Mikamycin B (MKM-B) は萬有製薬株式会社より分与された MKM 混合物から高速液体クロマトグラフィーにより MKM-B を分離・精製したものを使用した。

2.5 薬剤感受性試験

薬剤感受性は、日本化学療法学会の微量液体希釈による最小発育阻止濃度測定法 (MIC 測定法) に準じて行った⁽¹²⁾。-80℃保存菌株を TSA 5%SB で 37℃、一夜インキュベートし、発育した菌体を滅菌生理食塩水に MacFarland 0.5 標準液となるよう懸濁した。懸濁液を滅菌生理食塩水でさらに 10 倍希釈して接種用菌液 (約 10⁷ CFU/mL) とした。薬剤は薬剤感受性測定用培地で、128 μg/mL から 0.125 μg/mL まで 2 倍希釈系列を作成した。ABT773、TEL は 12.8 μg/mL から 0.0125 μg/mL までの 2 倍希釈系列を作成した。U 字型 96 穴マイクロプレートに薬剤感受性測定用培地を 100 μL/well ずつ分注し、接種用菌液を 5 μL/well ずつ接種した。37℃、24 時間インキュベート後、菌体が発育していない最小の薬剤希釈濃度を MIC 値とした。

2.6 菌体からの DNA 抽出

-80℃保存の *S. pneumoniae* を 10 μL 用プラスチックループを用いて TSA 5% SB に塗抹し、37℃、一夜インキュベートした。さらに TSA 5%SB に植菌し、37℃、一夜インキュベートした菌体を以下に使用した。1.5 mL チューブに、10 mM Tris-HCl (pH 8.5) 300 μL を加え被検菌株を 1 μL 用プラスチックループで 1 ループ量を懸濁させた。アルミヒートバス (IWAKI CHILL HEAT CHT-101HT) で 95℃、10 分間加熱後、CT13R 遠心機により 13,000 rpm、4℃、5 分間遠心した。上清 270 μL を採

取し、PCR 用のテンプレート DNA 溶液とした^(13, 14, 15)。

2.7 *erm* AM 及び *mef* E 遺伝子の検出

erm AM、*mef* E 遺伝子の検出は PCR 法を用いた。プライマーは Table 1 に示す *erm* AM^(16, 17)、*mef* E^(18, 19) をそれぞれ検出する配列として用いた。0.2 mL チューブに超純水 24 μ L、25 mM MgCl₂ 10 μ L、5 \times Green Go Taq® Flexi Buffer 10 μ L、dNTP Mix 1 μ L、5 pmol/ μ L プライマーそれぞれ 1 μ L ずつ、1U/ μ L の Go Taq® DNA polymerase 1 μ L、テンプレート DNA 2 μ L を加え、全量を 50 μ L とした。PCR 反応には Gene Amp® PCR system 2400 を用いた。

a) *erm* AM を増幅するプライマーを用いた場合、最初の変性反応に 95°C、1 分間、次の 25 サイクルは変性反応に 95°C、1 分間、アニーリングに 54°C、2 分間、伸長反応に 72°C、2 分間、最後の伸長反応は 72°C、8 分間で行った。

b) *mef* E を増幅するプライマーを用いた場合、アニーリングの温度を 56°C に設定した以外は *erm* AM を増幅するプライマーを用いた場合と同様に行った。

PCR 増幅産物は 1.7% アガロースゲル電気泳動を行った。PCR を行う際に毎回ネガティブ・コントロールとして *S. aureus* ATCC29213、*S. pneumoniae* ATCC49619 からの DNA 抽出試料を加えた。また *erm* AM のプライマーを用いるときのポジティブ・コントロールとして HP99-019、*mef* E のプライマーを用いるときには HP00-041 を用いた⁽²⁰⁾。電気泳動を行う際にもこれらコントロールを同時に泳動した。電気泳動後、0.5 μ g/mL EtBr 溶液でゲルを 15 分間染色、精製水中で 30 分間脱色後、ゲル UV 照射により PCR 産物を確認した。

Table 1. DNA sequence of the primer used for the detection of *erm* AM and *mef* E genes using the PCR method.

Genes primer	DNA sequence of the primer	Amplicon size (bp)
<i>erm</i> AM (F*)	5'-TCAACCAATAATAAACAA-3'	339
<i>erm</i> AM (R**)	5'-AATCCTTCTTCAACAATCAG-3'	
<i>mef</i> E (F*)	5'-AGTATCATTAACTAGTGC-3'	346
<i>mef</i> E (R**)	5'-TCCTCCTGGTACTAAAAGTGG-3'	

*:Forward, **:Reverse

3. 結果

3.1 ケトライド系抗菌薬の感受性

2000 年に分離された肺炎球菌の ABT773 に対する MIC

値は Table 2 に示すように、0.0063 μ g/mL から 0.4 μ g/mL の範囲であった。2005 年では Table 2 に示すように 0.0063 μ g/mL から 0.1 μ g/mL の範囲であった。TEL に対する MIC 値は、両年共に 0.0063 μ g/mL から 0.4 μ g/mL の範囲であった。全ての分離株は 0.4 μ g/mL 以下の MIC 値であった。ABT773 の MIC₉₀ は、2000 年、2005 年とも 0.05 μ g/mL を超えるものは得られなかった。TEL の MIC₉₀ は 0.2 μ g/mL となった。

3.2 14 員環マクロライド系薬の感受性

2000 年に分離された肺炎球菌の EM に対する MIC 値は、Table 3 に示すように、0.5 μ g/mL 以下が 23 株、1 μ g/mL 以上が 84 株であった。CAM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 25 株、1 μ g/mL 以上が 82 株であった。AZM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 23 株、1 μ g/mL 以上が 84 株であった。RKM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 58 株、1 μ g/mL 以上が 49 株であった。CLDM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 55 株、1 μ g/mL 以上が 52 株であった。MKM-B に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 25 株、1 μ g/mL 以上が 82 株であった。2000 年分離株の MLS_B に対する MIC₉₀ は全て 128 μ g/mL であった。

Table 3 に示すように 2005 年に分離された肺炎球菌の EM に対する MIC 値は、0.5 μ g/mL 以下が 28 株、1 μ g/mL 以上が 74 株であった。CAM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 36 株、1 μ g/mL 以上が 66 株であった。AZM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 24 株、1 μ g/mL 以上が 78 株であった。RKM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 53 株、1 μ g/mL 以上が 49 株であった。CLDM に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 48 株、1 μ g/mL 以上が 54 株であった。MKM-B に対しては 0.5 μ g/mL 以下が 18 株、1 μ g/mL 以上が 84 株であった。2005 年分離株では RKM の MIC₉₀ が 64 μ g/mL、MKM-B では 16 μ g/mL であった。

3.3 PCR 法による *erm* AM 及び *mef* E の検出率

プライマー *erm* AM を使用して PCR を行ったプロダクトを電気泳動した結果の例を Fig. 1 (A) に示した。339bp 付近にバンドが検出された株は *erm* AM 遺伝子が存在し、検出されない株には存在しないと判断した。同様に、プライマー *mef* E を使用した PCR の結果の例を Fig. 1 (B) に示した。346bp 付近にフラグメントが検出された株には *mef* E 遺伝子が存在し、検出されなければ存在しないと判断した。

Table 2 Susceptibility distribution of ketolides against clinical isolated *Streptococcus pneumoniae* strains in 2000 and 2005

Ketolides	year	The number of strains in each MIC ($\mu\text{g/mL}$)												MIC ₉₀ * ($\mu\text{g/mL}$)
		≤ 0.0063	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.4	>12.8	
ABT773	2000	29	19	35	18	5	0	1	0	0	0	0	0	0.05
	2005	44	45	6	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0.025
TEL	2000	8	22	26	18	18	13	2	0	0	0	0	0	0.2
	2005	29	33	18	9	4	5	5	0	0	0	0	0	0.2

*: Minimum inhibitory concentration required to inhibit the growth of 90% (MIC₉₀) of microorganism.

Abbreviation: ABT773, Cethromycin; TEL, Telithromycin

Table 3 Susceptibility distribution of macrolide, lincosamide, and streptogramin type B compounds against clinical isolated *Streptococcus pneumoniae* strains in 2000 and 2005

MLS _B	year	The number of strains in each MIC ($\mu\text{g/mL}$)												MIC ₉₀ * ($\mu\text{g/mL}$)
		≤ 0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>128	
EM	2000	18	5	0	0	1	7	9	12	6	4	1	44	128
	2005	16	4	5	3	7	9	3	4	3	6	6	36	128
CAM	2000	20	3	2	0	6	4	20	6	2	0	1	43	128
	2005	15	10	7	4	12	5	5	4	3	3	5	29	128
AZM	2000	1	1	12	9	0	1	3	12	6	9	1	52	128
	2005	12	3	5	4	6	7	9	1	1	1	1	52	128
RKM	2000	6	16	31	5	5	6	1	2	8	3	0	24	128
	2005	11	28	13	1	5	12	4	2	4	7	6	9	64
CLDM	2000	36	14	5	0	1	0	2	1	0	1	2	45	128
	2005	12	35	0	1	0	0	0	3	3	4	10	34	128
MKM-B	2000	3	0	2	20	31	15	15	6	1	2	0	12	128
	2005	0	1	3	14	33	13	9	14	8	4	2	1	16

*: Minimum inhibitory concentration required to inhibit the growth of 90% (MIC₉₀) of microorganism.

Abbreviation: MLS_B: macrolide, lincosamide, and streptogramin type B, EM, Erythromycin; CAM, Clarithromycin; AZM, Azithromycin; RKM, Rokitamycin; CLDM, Clindamycin; MKM-B, Mikamycin B

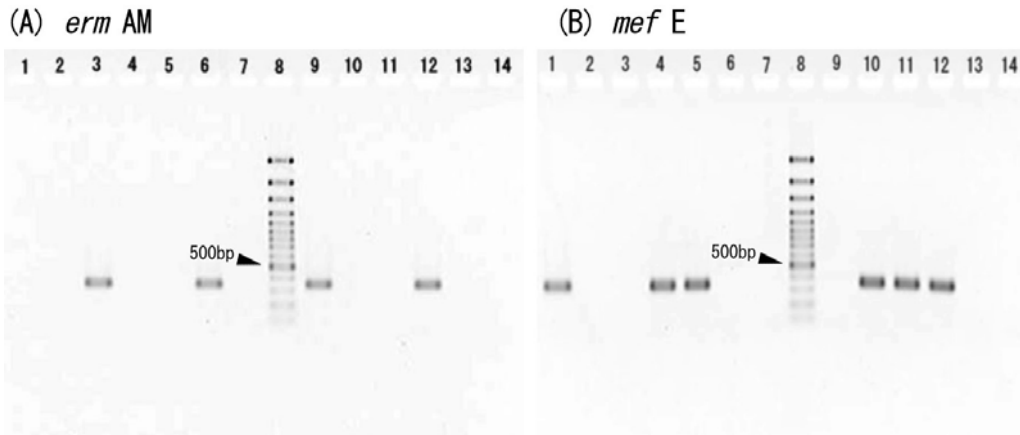


Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of PCR assays for the identification of (A) *erm AM* gene, and (B) *mef E* gene

Lane 1~7: HP00-121~HP00-127, Lane 8: DNA size maker, Lane 9: HP99-019 (*erm AM* positive), Lane 10: HP00-041 (*mef E* positive), Lane 11~12: HP00-128~HP00-129, Lane13: *S. aureus* ATCC 29213 (Negative), Lane14: *S. pneumoniae* ATCC49619 (Negative)

3.4 *erm* AM 及び *mef* E と薬剤感受性との相関

Fig. 2 に示すとおり、*erm* AM 遺伝子保有株は 2000 年では 56 株で 52.3%、2005 年では 48 株で 47.1%であった。*mef* E 遺伝子保有株は 2000 年では 28 株で 26.2%、2005 年では 31 株で 30.4%であった。*erm* AM、*mef* E 両方の遺伝子を保有する株は 2000 年では 2 株で 1.9%、2005 年では 9 株で 8.8%であった。耐性遺伝子を保有しない株は 2000 年では 21 株で 19.6%、2005 年では 14 株で 13.7%であった。

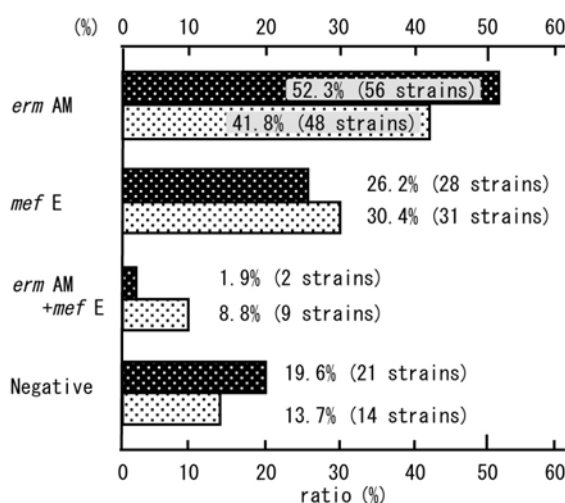


Fig. 2 The ratio of *erm* AM and *mef* E genes with clinical isolated *Streptococcus pneumoniae* in 2000 and 2005.

■: isolated in 2000, ▨: isolated in 2005

4. 考察

4.1 ケトライド及び MLS_B の薬剤感受性

ケトライド系薬は、2003 年の発売以降、市中肺炎における β -ラクタム系薬の耐性肺炎球菌に有効な経口薬として使用された。しかし、副作用発現の増加により 2012 年度までに使用量が減少したため、最も使用されていたと考えられる 2005 年までの臨床分離株を使用した。

今回検討した肺炎球菌はケトライドに対して 0.4 μ g/mL 以下の濃度で発育が阻害され、ケトライド耐性株は見出されなかった。ケトライドを除く MLS_B の MIC₉₀ は、16 μ g/mL から 128 μ g/mL で、多くが耐性を獲得していることが明らかとなった。EM における肺炎球菌の感受性のブレイクポイントとして、MIC が 0.25 μ g/mL 以下は感性、0.5 μ g/mL は中間、1 μ g/mL 以上は耐性とされている⁽²¹⁾。

ケトライド耐性株が現在まで見出されていない理由

として、臨床において使用される際に現れる重篤な副作用が考えられる⁽²²⁾。ケトライドの投与方法は、1 日 1 回の投与⁽²³⁾により、コンプライアンスが良くなった反面、1 回の投与量が増し、血中濃度や組織内濃度が有効領域を超え、副作用となって現れ、処方医の使用が控えられた結果、市中でのケトライド耐性菌が出現していないのではないだろうか。

4.2 *erm* AM 及び *mef* E の保有状況

Table 4 に示すように 2000 年に分離された菌株と比べ、2005 年では *mef* E 遺伝子を保有する菌株は 4.2% 増加していた。

Table 4 Effect of *erm* AM and *mef* E genes in clinical isolated *Streptococcus pneumoniae* against ketolide, macrolide, lincosamide, and streptogramin type B compounds

Compounds	year	MIC ₉₀ * (μ g/mL)			
		<i>erm</i> AM	<i>mef</i> E	both <i>erm</i> AM and <i>mef</i> E	negative
ABT773	2000	0.05	0.05	0.05	0.025
	2005	0.0125	0.0125	0.050	0.0063
TEL	2000	0.1	0.2	0.2	0.025
	2005	0.025	0.1	0.4	0.0125
EM	2000	>128	16	>128	0.125
	2005	>128	4	>128	0.125
CAM	2000	>128	8	>128	0.125
	2005	>128	2	>128	0.125
AZM	2000	>128	32	>128	0.5
	2005	>128	4	>128	0.25
RKM	2000	>128	0.25	16	0.25
	2005	>128	0.25	64	0.25
CLDM	2000	>128	0.125	>128	0.125
	2005	>128	0.125	>128	0.125
MKM-B	2000	>128	2	2	2
	2005	32	2	16	2

*: Minimum inhibitory concentration required to inhibit the growth of 90% (MIC₉₀) of microorganism.

Abbreviation: ABT773, cethromycin; TEL, telithromycin; EM, Erythromycin; CAM, Clarithromycin; AZM, Azithromycin; RKM, Rokitamycin; CLDM, Clindamycin; MKM-B, Mikamycin B

erm AM、*mef* E 両方の遺伝子を保有する菌株は 6.9% 増加していた。*erm* AM 遺伝子単独で保有する菌株は 5.2% 減少していた。しかし *mef* E 遺伝子も併せ持つ菌株を加えると、54.2% から 55.9% に 1.7% 増加していた。これは *erm* AM 遺伝子と *mef* E 遺伝子の分布の広がりが重なったためであると考えられる。

肺炎球菌が起因菌とされる市中肺炎患者の第一選択薬はペニシリン系抗菌薬である。Mac 系薬剤は非定型性の肺炎、主にマイコプラズマ肺炎の感染が疑われる場合に選択される。肺炎球菌が起因菌と予想される

場合、マクロライド系薬剤はあまり使われない。しかし肺炎球菌は常在菌であり、変異の起きやすい菌種であるため、Mac 系抗菌薬の使用により耐性菌が増加しているのではないかと考えられる。

薬剤感受性の結果と耐性遺伝子保有の結果を合わせて考察すると、Table 4 に示すように *erm* AM、*mef* E 両方の遺伝子を保有する菌株は保有しない菌株と比較してケトライドに対して若干 MIC の上昇が認められた。しかし、いずれも低い値であり、2000 年、2005 年合わせた全 209 株はケトライドに対して感受性であった。ケトライド感受性株において *mef* E 遺伝子保有株は *erm* AM 遺伝子保有株よりもケトライドの MIC がわずかに高いという報告があり^(24, 25)、今回の結果も同様であった。*erm* AM 遺伝子保有菌株は、今回調査した範囲でケトライドを除く全ての MLS_B 薬剤に対して高度の耐性を示し、耐性獲得に関与していると考えられた。*mef* E 遺伝子保有菌株は EM、CAM、AZM、MKM-B に中程度の耐性を示した。しかし、MKM-B は、耐性遺伝子を保有しない菌株においても中程度の耐性を示した。*mef* E 遺伝子は 14 員環 Mac、15 員環 Mac に耐性を獲得させるが、MKM-B 感受性への関与の可能性は低いと考えられる。

5. 結論

今回の結果は、80%以上の肺炎球菌が Mac 耐性遺伝子を獲得し、Mac 耐性化していることを示している。また、ケトライド耐性株は *erm* 遺伝子を保有するという報告もある⁽¹⁰⁾。しかし、ケトライドの感受性は *erm* AM、*mef* E 遺伝子に若干影響されるかもしれないが、耐性獲得までには至らないと考えられた。細菌性肺炎の起因菌は肺炎球菌の頻度が最も多いため⁽³⁾、肺炎の治療において細菌性・非定型性の診断は非常に重要であると考えられる。

6. 謝辞

本研究に用いた肺炎球菌は、北海道大学付属病院細菌検査室において市中肺炎患者より分離された菌株を使用致しました。分与いただきました北海道大学付属病院細菌検査室、秋沢宏次先生に深謝申し上げます。

7. 参考文献

- (1) 厚生労働省統計表データベースシステム、「死亡率（人口 10 万対）、死因年次推移分類・性別」、

<http://www.dbtk.mhlw.go.jp/toukei/youran/data18k/1-29.xls>

- (2) 日本呼吸器学会呼吸器感染症に関するガイドライン作成委員会、「成人市中肺炎診療ガイドライン」、日本呼吸器学会、2007
- (3) 河野茂、「ガイドラインをふまえた成人市中肺炎診療の実際」、医学書院、2001
- (4) 市中肺炎と院内肺炎の米国の治療ガイドライン：<http://physician.pfizer.co.jp/member/infection/idreport/pdf/guide.pdf>
- (5) Amelia Tait-Kamradt, Joanna Clancy, Melissa Cronan, Fadia Dib-Hajj, Lillian Wondrack, Wei Yuan, and Joyce Sutcliffe. “*MefE* is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*.” *Antimicrob. Agents Chemother.* Vol. 41, 1997, pp. 2251–2255.
- (6) Kathryn Gay, and David S. Stephens. “Structure and Dissemination of a Chromosomal Insertion Element Encoding Macrolide Efflux in *Streptococcus pneumoniae*.” *J. Infect. Dis.* Vol. 184, 2001, pp. 56–65.
- (7) 紺野昌俊、生方公子、「改訂ペニシリン耐性肺炎球菌」、ペニシリン耐性肺炎球菌研究会、1999
- (8) 井上松久、賀来満夫、西野武志、平写洋一、河野茂、「新規ケトライド系抗菌薬の細菌学的検討—Telithromycin を中心に—」、日本化学療法学会雑誌、Vol. 51、2003、pp. 278–288.
- (9) Tamiko Hisanaga, Daryl J. Hoban, and George G. Zhanel. “Mechanisms of resistance to telithromycin in *Streptococcus pneumoniae*.” *J. Antimicrob. Chem.* Vol. 56, 2005, pp. 447–450
- (10) Abnan Al-Lahham, Peter C. Appelbaum, Mark van der Linden, and Ralf Rene Reinert. “Telithromycin-Nonsusceptible Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* from Europe.” *Antimicrob. Agents Chemother.* Vol. 50: 2006, pp. 3897–3900
- (11) M. Rantala, M. Haanpera-Heikkinen, M. Lindgren, H. Seppala, P. Huovinen, J. Jalava, and the Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. “*Streptococcus pneumoniae* isolates resistant to telithromycin.” *Antimicrob.*

- Agents Chemother. Vol. 50, 2006, pp.1855-1858
- (12) 日本化学療法学会、「抗菌薬感受性測定法検討委員会報告」、CHEMOTHERAPY、Vol. 38, 1989, pp. 102-105
- (13) Melissa M. Daly, Stella Doktor, Robert Flamm, and Dee Shortidge. "Characterization and prevalence of *Mef A*, *Mef E*, and the associated." J. Clin. Microbiol. Vol. 42, 2004, pp. 3570-3574.
- (14) K. P. Klugman, T. Capper, C. A. Widdowson, H. J. Koornhof, and W. Moser. "Increased activity of 16-membered lactone ring macrolides against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of South African isolates." J. Antimicrob. Chemother. Vol. 42, 1998, pp. 729-734.
- (15) D. J. Farrell, I. Morrissey, S. Bakker and D. Felmingham. "Detection of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* using multiplex rapid cycle PCR with microwell format probe hybridization." J. Antimicrob. Chem. Vol. 48, 2001, pp. 541-544
- (16) Shortridge DV, Flamm RK, Ramer N, Beyer J, Tanaka SK. "Novel mechanism of macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Diagn. Microbiol. Infect." Dis. Vol. 26, 1996, pp. 73-78.
- (17) GenBank accession no. AJ243540.
- (18) Aleksandra K. Wierzbowski, Dave Boyd, Michael Mulvey, Daryl J. Hoban, and George G. Zhanel. "Expression of the *mef(E)* gene encoding the macrolide efflux pump protein increases in *Streptococcus pneumoniae* with increasing resistance to macrolides." Antimicrob. Agents Chemother. Vol. 49, 2005, pp. 4635-4640.
- (19) GenBank accession no. AF274302.
- (20) K Endou, Y Nakajima, Y Endo, R Oyauchi, H Kawauchi, and T Akashi. "In vitro activity and mechanism of action of ABT-773, a novel ketolide." ICMAS・KO 6. ABT-773 Scientific Posters. Poster #2.03, 2002.
- (21) 小栗豊子、「臨床微生物検査ハンドブック 第3版」、三輪書店、2008、pp. 205
- (22) 厚生労働省ホームページ. 「医薬品・医療用具等安全性情報」、2004、<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2004/12/h1221-2.html>
- (23) 高久史磨ら、「治療薬マニュアル 2011」、医学書院、2011、pp. 1378-1379
- (24) Daryl J. Hoban, Aleksandra K. Wierzbowski, Kim Nichol, and George G. Zhanel. "Macrolide-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Canada during 1998-1999: Prevalence of *mef(A)* and *erm(B)* and susceptibilities to ketolides. Antimicrob. Agents Chemother." Vol. 45, 2001, pp. 2147-2150.
- (25) 井上松久, 兼子健一, 中野隆一, 佐藤義則, 新井進. 「マクロライド及びケトライド耐性肺炎球菌の分子解析による評価—Telithromycin の作用機序・耐性機序も含めて—」 THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 2004, pp. 425-437.