

当院における臨床分離緑膿菌のカルバペネム系抗菌薬に対する 薬剤感受性の比較

掛屋 弘^{1,2)}・山田康一^{1,2)}・中家清隆^{2,3)}・滝沢恵津子³⁾・岡田恵代²⁾・
藤田明子²⁾・中村安孝²⁾・安部順子²⁾・広瀬朝生⁴⁾・
金子幸弘⁵⁾・日野雅之^{1,4)}

¹⁾ 大阪市立大学大学院医学研究科臨床感染制御学

²⁾ 大阪市立大学医学部附属病院感染制御部

³⁾ 大阪市立大学医学部附属病院中央臨床検査部

⁴⁾ 大阪市立大学大学院医学研究科血液腫瘍制御学

⁵⁾ 大阪市立大学大学院医学研究科細菌学

(2014年3月25日受付)

大阪市立大学医学部附属病院において2013年7月から同年10月に分離された緑膿菌400株(呼吸器系194株, 尿61株, 消化器系38株, 膿36株, 皮膚21株, 血液9株, 上気道・口腔8株, その他33株)について3種類のカルバペネム系抗菌薬(doripenem: DRPM, meropenem: MEPM, imipenem: IPM)に対する薬剤感受性を測定し, 2012年1月に改訂されたCLSIのブレイクポイント(M100-S22)の提唱に従って, 感性: $\leq 2\mu\text{g/mL}$, 中間: $4\mu\text{g/mL}$, 耐性: $\geq 8\mu\text{g/mL}$ に分類した。

その結果, 感受性株の割合はDRPM 78.3%, MEPM 74.3%, IPM 64.8%でIPMが最も低かった。耐性菌の割合は, DRPMが12.5%, MEPMが22.8%, およびIPMが28.5%であり, DRPM耐性率はMEPM, IPM耐性率より有意に低かった(それぞれ $p < 0.001$)。DRPMとMEPMの抗緑膿菌活性の比較では, 全体の19.8%の株はDRPMのMICがMEPMに比べて低かった。また, DRPMとIPMの活性の比較では, 全体の41.8%の株はDRPMのMICがIPMより低く, MEPMとIPMの活性の比較では, 全体の33.0%の株はMEPMのMICがIPMより低かった。MEPM耐性株の7.7%, IPM耐性株の23.7%はDRPMに感受性を示した。IPM耐性株の9.6%はMEPMに感受性であった。一方で, MEPMに耐性でIPMに感受性を示す株やDRPMに耐性で, MEPMやIPMに感受性を示す株は一株もなかった。

カルバペネム系抗菌薬3薬剤の中でDRPMはMEPMやIPMより優れた抗緑膿菌活性を有することが示された。

緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)はグラム陰性のブドウ糖非発酵菌であり, 人工呼吸器関連肺炎(Ventilator-associated pneumonia: VAP)や静脈

カテーテル関連菌血症, カテーテル関連尿路感染症や術後感染症などの医療関連感染の原因となる。緑膿菌による医療関連感染は, 主に免疫力が

低下した宿主に発症しやすいため、日常生活動作 (Activities of daily living: ADL) の低下のみならず、その予後を左右する。

緑膿菌感染症の治療には、カルバペネム系抗菌薬 (doripenem: DRPM), meropenem: MEPM, imipenem: IPM など) やペニシリン系薬, セフェム系薬, ニューキノロン系薬, アミノグリコシド系薬, モノバクタム系薬などの抗菌薬が用いられる。一方、近年抗緑膿菌作用を有するこれらの抗菌薬に対する様々な耐性機構 (不活化酵素の産生, 作用標的の変化, 排出ポンプ機能の亢進, 透過孔 (ポーリン) の減少など) を獲得した緑膿菌が検出され、その治療は一層難渋するものとなっている。特に多剤耐性緑膿菌 (Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) のアウトブレイクは院内感染対策上重要な原因菌として注目されている。

ブレイクポイントは、*in vitro* の薬剤感受性結果から抗菌薬の治療効果を予測するために使用する基準値である。米国の Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹⁾、欧州の European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)²⁾、我が国の日本化学療法学会が提唱する呼吸器感染症および尿路感染症に対する抗菌薬ブレイクポイント^{3~6)}がある。いずれのブレイクポイントにも優れた点があるが、日本の感染症の現場では、一般に米国 CLSI のブレイクポイントが用いられている。

2012年1月に CLSI より緑膿菌に対するカルバペネム系抗菌薬 (DRPM, MEPM, IPM) の新しいブレイクポイント (M100-S22) (感性 (Susceptible (S)): $\leq 2\mu\text{g/mL}$, 中間 (Intermediate (I)): $4\mu\text{g/mL}$, 耐性 (Resistant (R)): $\geq 8\mu\text{g/mL}$)¹⁾ が提唱された。旧ブレイクポイント CLSI M100-S20⁷⁾ (S: $\leq 4\mu\text{g/mL}$, I: $8\mu\text{g/mL}$, R: $\geq 16\mu\text{g/mL}$) に比較して、SIR の基準が1管ずつ低い濃度に設定された。また、新たに DRPM のブレイクポイントが示された。

今回我々は、大阪市立大学医学部附属病院で検出された臨床検体由来の緑膿菌について3種類のカルバペネム系抗菌薬のブレイクポイント変更に伴う感受性率の変化を検討し、さらに最新のブレイクポイント基準における3種類のカルバペネム系薬の薬剤感受性を比較検討した。

I. 方法

1. 菌株

大阪市立大学医学部附属病院において2013年7月から同年10月にのべ152症例より分離された種々の臨床材料 (呼吸器検体194株 (喀痰108株, 気管内採痰81株), 泌尿器検体61株 (カテーテル採尿35株, 尿21株), 消化器検体38株 (便35株), 膿性材料36株 (創部浸出液14株, 開放膿12株), 皮膚21株, 血液9株, 上気道・口腔検体8株, その他33株) から得られた緑膿菌400株について検討した。また、緑膿菌400株の中から同一患者の検体材料が異なる株および同一患者から経過中に出現した感受性が異なる株 (247株), さらに同一患者の同一材料由来の初回分離株 (218株) をも対象として検討を行った。

2. 薬剤感受性検査およびブレイクポイント

MIC は、MicroScan WalkAway 96・SI (Siemens, 東京) を用いて測定した。本法は、CLSI に準拠した微量液体希釈法である⁸⁾。薬剤パネルは MicroScan Neg NF Combo 1J を用いた。

得られた各種抗菌薬の MIC データからカルバペネム系薬3薬剤 (DRPM, MEPM, IPM) に関して緑膿菌の感受性率を比較した。また、新しいブレイクポイント¹⁾ (S: $\leq 2\mu\text{g/mL}$, I: $4\mu\text{g/mL}$, R: $\geq 8\mu\text{g/mL}$) では、旧ブレイクポイント⁷⁾ (S: $\leq 4\mu\text{g/mL}$, I: $8\mu\text{g/mL}$, R: $\geq 16\mu\text{g/mL}$) に比較して SIR の基準が1管ずつ低い濃度に設定されたため、その影響を調べる目的で、新旧のブレイクポイントで

の緑膿菌の感受性率を比較した。

3. メタロ- β -ラクタマーゼ測定

メタロ- β -ラクタマーゼの産生は、メルカプト酢酸を用いた Double disk synergy test (DDST) にて検討した。

4. 有意差検定

全株数に対する耐性株数や感受性株数の割合を Fisher's exact test にて統計学的検定を行った。

II. 結果

1. 緑膿菌のカルバペネム系抗菌薬に対する感受性

大阪市立大学医学部附属病院にて臨床検体由来の緑膿菌400株のカルバペネム系抗菌薬に対する感受性を測定した。

MIC₉₀値はDRPMが8 μ g/mL, MEPMとIPMは $\geq 16\mu$ g/mLでDRPMはMIC₉₀で比較してMEPMおよびIPMより1管以上抗菌力が優れていた(表1)。

2. 新旧CLSIブレイクポイントによる緑膿菌のカルバペネム系抗菌薬に対する感受性比較

旧ブレイクポイントではMEPMとIPMは同じブレイクポイントの基準が採用されていた。一方

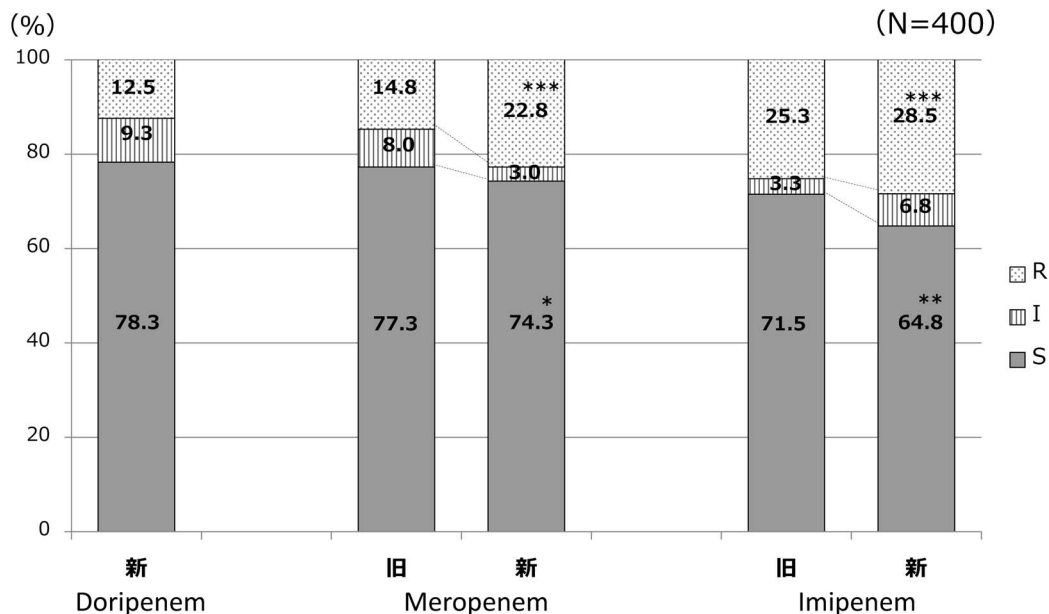
で, DRPMのブレイクポイントは示されていなかった。旧ブレイクポイントでは感受性株の割合は, MEPM 77.3%, IPM 71.5%であった。新ブレイクポイントでは, MEPM 74.3%, IPM 64.8%で, 基準値変更の影響を受けて感受性と評価される株数の割合が減少した。DRPMの感受性株は, 78.3%と最も高かった。DRPMとMEPMの感受性株の割合は有意差がなかったものの ($p=0.2126$), IPM感受性株は, DRPMおよびMEPM感受性株より有意に少なかった (いずれも $p<0.001$) (図1)。一方, 耐性株の割合は, 旧ブレイクポイントでは, MEPM 14.8%, IPM 25.3%であったが, 新ブレイクポイントでは, MEPM 22.8%, IPM 28.5%と基準値変更の影響を受けて耐性と評価される株数の割合が増加した。また, DRPM耐性株の割合は12.5%で, MEPM ($p<0.001$) およびIPM ($p<0.001$) 耐性株と比較して有意に少なかった (図1)。また, 緑膿菌400株の中から同一患者の検体材料が異なる株および同一患者から経過中に出現した感受性が異なる株(247株)を対象とした新ブレイクポイントでの薬剤感受性の解析では, 感受性株はDRPM 83.0%, MEPM 78.9%, IPM 68.8%であり, DRPMとMEPMの感受性株の割合は有意差を認めなかった ($p=0.2517$) が, IPM感受性株はDRPMおよびMEPM感受性株より有意に少なかった ($p<0.005$)。一方, 耐性株はDRPM 8.5%, MEPM 17.8%, IPM 23.9%であり,

表1. 緑膿菌のカルバペネム系抗菌薬感受性分布

(N=400)

抗菌薬	MIC(μ g/mL)					MIC ₉₀ (μ g/mL)
	≤ 1	2	4	8	≥ 16	
Doripenem	287	26	37	23	27	8
Meropenem	276	21	12	32	59	≥ 16
Imipenem	204	55	27	13	101	≥ 16

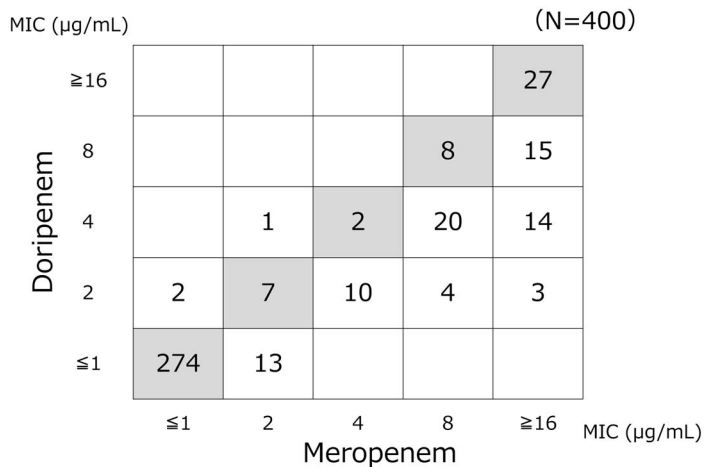
図1. CLSI新旧ブレイクポイントによる緑膿菌の感受性率



対 Doripenem新 * : $p=0.2126$, ** , *** : $p<0.001$

(旧 : CLSI M100-S20 新 : CLSI M100-S22)

図2-A. DoripenemとMeropenemに対する緑膿菌の感受性相関



DRPM耐性株の割合は、MEPM ($p<0.005$)、IPM ($p<0.0001$) より有意に少なかった。同一患者の同一材料由来の初回分離株 (218株) を対象として検討しても同様の結果が得られた。

3. カルバペネム系抗菌薬における抗緑膿菌活性の比較

3種類のカルバペネム系抗菌薬の緑膿菌臨床分離株に対する抗菌活性を比較するために、これらの抗菌薬が発育を阻止した株数をMICごとに図

図2-B. Doripenem と Imipenem に対する緑膿菌の感受性相関

(N=400)

MIC (μg/mL)						
Doripenem	≥16					27
	8				1	22
	4				2	35
	2	1	1	7	1	16
	≤1	203	54	20	9	1
		≤1	2	4	8	≥16
		Imipenem				
		MIC (μg/mL)				

図2-C. Meropenem と Imipenem に対する緑膿菌の感受性相関

(N=400)

MIC (μg/mL)						
Meropenem	≥16				1	58
	8				1	31
	4				2	10
	2	6	4	8	2	1
	≤1	198	51	19	7	1
		≤1	2	4	8	≥16
		Imipenem				
		MIC (μg/mL)				

示して解析した。

DRPMとMEPMの活性を比較した結果、400株中79株(19.8%)はDRPMのMICがMEPMに比べて低かった。MEPMのMICがDRPMより低値であった株は3株(0.8%)のみであった(図2-A)。一方、DRPMとIPMの活性の比較では、400株中167株(41.8%)はDRPMのMICがIPMより低く、IPMのMICがDRPMより低値であった株は1株(0.3%)のみであった(図2-B)。MEPMとIPMの活性の比較では、400株中132株(33.0%)は、MEPMのMICがIPMより低かった。IPMのMIC

がMEPMより低値であった株は7株(1.8%)のみであった(図2-C)。

MEPMに耐性を示した91株中の7株(7.7%)(図2-A)、IPMに耐性を示した114株中の27株(23.7%)(図2-B)はDRPMに感受性であった。IPMに耐性を示した114株中11株(9.6%)(図2-C)は、MEPMに感受性であった。MEPMに耐性でIPMに感受性を示す株は一株もなかった。またDRPMに耐性で、MEPMやIPMに感受性を示す株も一株もなかった。

カルバペネム系抗菌薬のいずれかのMICが≥

8 μ g/mLを示した株に対しては、同一の方法にて再測定を行い値に変化がないことを確認した。メタロ- β -ラクタマーゼ産生株は検出されなかった。MDRPの定義を満たす株は3株（2症例）、2剤耐性緑膿菌（IPMおよびciprofloxacinに耐性）は42株（9症例）分離された。

III. 考察

今回我々は、2012年のCLSIのブレイクポイントの変更を受け、新旧のブレイクポイントの基準に基づき当院の臨床検体由来緑膿菌に対するカルバペネム系抗菌薬3薬剤（DRPM, MEPM, IPM）の薬剤感受性を比較検討した。その結果、ブレイクポイントの変更によってMEPMおよびIPMの感受性株はそれぞれ、3.0%, 6.7%減少し、耐性株は8.0%, 3.2%増加した。最新のブレイクポイントでの測定では、DRPM感受性株の割合はMEPM感受性株と同程度で、IPM感受性株より多かった。一方、DRPM耐性株の割合はMEPMやIPMの耐性株より有意に少なかった。カルバペネム系抗菌薬間の感受性比較では、MEPM耐性株やIPM耐性株の中にDRPM感性株が認められたこと、一方でDRPM耐性株の中にはMEPMやIPMに感受性を示す株は一株も認められなかった点からも、検討したカルバペネム系抗菌薬3種類の中でDRPMはMEPMやIPMより優れた抗緑膿菌活性を有することが示された。三和⁹⁾やFUJIMURA¹⁰⁾らの報告においてもカルバペネム系抗菌薬の中でDRPMの抗緑膿菌活性が他のカルバペネム系薬より優れていることが報告されている。

院内感染対策サーベイランス（JANIS）のデータ（2013年7月～9月四半期報）では、緑膿菌のIPM耐性は17.1%、MEPM耐性は10.9%と報告されているが¹¹⁾、これらの結果は、旧ブレイクポイント（CLSI 2007 (M100-S17)）による測定である。当院の臨床検体由来緑膿菌は、旧ブレイクポ

イントで測定したIPMやMEPMの耐性菌の割合はJANISのデータと比較して高かった。全国の種々の医療機関を対象としたJANISのデータと比較して、緑膿菌のカルバペネム耐性化が進行している可能性が考えられた。

CLSIのブレイクポイントは、カルバペネム系抗菌薬の用法・用量として、MEPMとIPM/cilastatin (CS) は1回1.0g、1日3回の点滴静注投与を前提として設定されている（本邦のIPM/CS用法・用量では1日2gまで）。一方、DRPMは1回0.5g、1日3回での設定であり、MEPMやIPMの投与量の半量である。それはCLSIの緑膿菌に対するブレイクポイントが米国で承認されている標準的投与量により設定されている背景がある。近年、薬物動態学（Pharmacokinetics: PK）および薬力学（Pharmacodynamics: PD）（PK-PD）理論に基づいた抗菌薬の投与法の考えが普及し、我が国においても抗菌薬の投与量が見直され、成人の重症・難治性感染症に対してはDRPMとMEPMは1回1.0g、1日3回の投与が承認されている。そのため、CLSIがブレイクポイント設定に前提としたDRPMの投与量の倍量（1回1.0g、1日3回）を使用する場合には、更に強い抗緑膿菌作用が期待される。

臨床試験の成績では、呼吸器感染症（DRPM vs MEPM）¹²⁾、およびVAPを含む院内肺炎（DRPM vs IPM/CS）¹³⁾、複雑性腹腔内感染症（DRPM vs MEPM）¹⁴⁾、複雑性尿路感染症（DRPM vs MEPM）¹⁵⁾を対象としたいずれの比較試験においても、DRPMは対象の他のカルバペネム系薬に比較して非劣性が報告されている。一方で各試験における緑膿菌の分離症例数は限られていたため、緑膿菌感染症に対する臨床的効果の優劣は明らかではない。また、これらの比較試験ではDRPMの使用量が1回0.25～0.5g、1日2～3回であった。現在、DRPMの我が国で承認されている成人の重症・難治性感染症に対する1回1g、1日3回投与

の臨床研究も実施されており、今後のデータ集積が期待される。

利益相反自己申告

掛屋 弘は、MSD、アステラス製薬株式会社、第一三共株式会社より講演料を受けている。他の著者は、申告すべきものなし。

文献

- 1) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. Vol. 32, M100-S22, CLSI, Wayne, PA, USA, 2012
- 2) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0. Munich and Basel: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2012
- 3) SAITO, A.: Clinical breakpoints for antimicrobial agents in pulmonary infections and sepsis: report of the Committee for Japanese Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing for Bacteria. J. Infect. Chemother. 1: 83~88, 1995
- 4) SAITO, A.; T. INAMATSU, J. OKADA, *et al.*: Clinical breakpoints in pulmonary infections and sepsis: new antimicrobial agents and supplemental information for some agents already released. J. Infect. Chemother. 5: 223~226, 1995
- 5) 日本化学療法学会抗菌薬ブレイクポイント委員会: 呼吸器感染症、敗血症および尿路感染症におけるブレイクポイント: 新規抗菌薬の追加 (2009年)。日本化学療法学会雑誌 57: 343~345, 2009
- 6) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定・臨床評価委員会: 呼吸器感染症および敗血症におけるブレイクポイント: 新規抗菌薬の追加 (2005年)。日本化学療法学会雑誌 53: 557~559, 2005
- 7) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. Vol. 30, M100-S20, CLSI, Wayne, PA, USA, 2010
- 8) マイクロスキャン Neg シリーズ。添付文書 (2013年4月改訂 (第6版) シーメンス・ダイアグノスティックス, 東京
- 9) 三和秀明, 木村美司, 地主 豊, 他: Doripenem の緑膿菌活性。日本化学療法学会雑誌 53 (S-1): 80~91, 2005
- 10) FUJIMURA, T.; N. ANAN, G. SUGIMORI, *et al.*: Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan to doripenem and other antipseudomonal agents. Intern. J. Antimicrob. Agents 34: 523~528, 2009
- 11) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS): 2013年7月~9月四半期報, 院内感染対策サーベイランス検査部門データ (<http://www.nih-janis.jp/report/kensa.html>)
- 12) 斎藤 厚, 渡辺 彰, 中田絃一郎, 他: 呼吸器感染症に対する meropenem を対照とした doripenem の第III相二重盲検比較試験。日本化学療法学会雑誌 53 (S-1): 185~204, 2005
- 13) CHASTRE, J.; R. WUNDERINK, P. PROKOCIMER, *et al.*: Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: A multicenter, randomized study. Crit. Care Med. 36: 1089~1096, 2008
- 14) LUCASTI, C.; A. JASOVICH, O. UMEH, *et al.*: Efficacy and tolerability of IV doripenem versus meropenem in adults with complicated intra-abdominal infection: A phase III, prospective, multicenter, randomized, double-blinded, noninferiority study. Clin. Therapeutics 30: 868~883, 2008
- 15) 守殿貞夫, 荒川創一, 廣瀬崇興, 他: 複雑性尿路感染症を対象とした doripenem と meropenem の薬効比較試験。日本化学療法学会雑誌 53 (S-1): 244~259, 2005

A comparison of susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates to carbapenem antibiotics in our hospital

HIROSHI KAKEYA^{1,2)}, KOICHI YAMADA^{1,2)}, KIYOTAKA NAKAIE^{2,3)}, ETSUKO TAKIZAWA³⁾,
YASUYO OKADA²⁾, AKIKO FUJITA²⁾, YASUTAKA NAKAMURA²⁾, JUNKO ABE²⁾,
ASAO HIROSE⁴⁾, YUKIHIRO KANEKO⁵⁾ and MASAYUKI HINO⁴⁾

¹⁾ Infection Control Science, Graduate School of Medicine,
Osaka City University

²⁾ Department of Infection Control and Prevention,
Osaka City University Hospital

³⁾ Department of Laboratory Medicine, Osaka City University Hospital

⁴⁾ Hematology, Graduate School of Medicine, Osaka City University

⁵⁾ Department of Bacteriology, Graduate School of Medicine,
Osaka City University

We investigated the susceptibility of 400 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) clinical isolates to 3 antipseudomonal carbapenems, namely, doripenem (DRPM), meropenem (MEPM), and imipenem (IPM). The test strains were isolated from the following specimens: respiratory (n=194), urinary (n=61), digestive (n=38), pus (n=36), skin (n=21), blood (n=9), upper respiratory tract and oral cavity (n=8), and others (n=33) at Osaka City University Hospital from July to October 2013.

Test strains were categorized as susceptible, $\leq 2 \mu\text{g/mL}$; intermediate, $4 \mu\text{g/mL}$; and resistant, $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ according to Clinical and Laboratory Standards Institute criteria (M100-S22), updated on January 2012.

To compare the antimicrobial activities of these 3 carbapenems, the susceptibility rate for each agent was analyzed. Susceptibility to DRPM, MEPM, and IPM was 78.3%, 74.3%, and 64.8%, respectively, whereas resistance was 12.5%, 22.8%, and 28.5%, respectively. The frequency of strains resistant to DRPM was significantly lower than that for MEPM ($p < 0.001$) and IPM ($p < 0.001$).

To compare the activities of the 3 carbapenems against the *P. aeruginosa* clinical isolates, we plotted the numbers of strains against each minimum inhibitory concentration (MIC) level. The MICs of DRPM were lower than those of MEPM in 19.8% of strains, and lower than those of IPM in 41.8% of strains, and the MICs of MEPM were lower than those of IPM in 33.0% of strains.

Further, we found that 7.7% of the MEPM-resistant strains were susceptible to DRPM, 23.7% of the IPM-resistant strains were susceptible to DRPM, and 9.6% of the IPM-resistant strains were susceptible to MEPM; however, none of the MEPM-resistant strains was susceptible to IPM, and none of the DRPM-resistant strains was susceptible to MEPM or IPM.

In conclusion, the *in vitro* activity of DRPM against the *P. aeruginosa* clinical isolates was superior to those of MEPM and IPM.