

2012年臨床分離グラム陰性菌株のカルバペネム系薬に対する感受性の経年変化

阿南直美・山城秀仁・吉田 立・佐藤剛章・内藤 陽・山野佳則

塩野義製薬株式会社創薬疾患研究所

(2017年9月27日受付)

2012年に全国17医療施設で分離された *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., Enterobacteriaceae のカルバペネム系薬に対する感受性を比較した。*P. aeruginosa* 123株の meropenem, doripenem, imipenem に対する感性率はそれぞれ 79.7, 83.7, 72.4%, Enterobacteriaceae 968株のそれぞれに対する感性率は 99.6, 99.5, 75.4% であり, imipenem の感性率は他の2剤と比べて低かった。一方, *Acinetobacter* spp. 91株の感性率はいずれも 97.8% であった。過去21年間におけるカルバペネム耐性 *P. aeruginosa* 分離率は, imipenem 耐性または meropenem 耐性の分離率が2002年と2010年に, doripenem 耐性の分離率が2010年に一過的に増加していたが, 2012年には2002年, 2010年以外と同水準を示した。また, カルバペネム系薬3剤において, 耐性株分離率は doripenem が常に低かった。2002年から2012年の多剤耐性 *P. aeruginosa* の分離率は 1.1 ~ 5.8%, カルバペネム耐性 Enterobacteriaceae は 0.0 ~ 0.7% であり, 2002年から2012年の間に増加傾向は認められなかった。多剤耐性 *P. aeruginosa* からは *bla*_{IMP} や *bla*_{VIM} が検出された。多剤耐性 *Acinetobacter* spp. は2010年のみで分離 (4.7%) され, *bla*_{OXA-58} が検出された。

近年, 種々の抗菌薬が有効性を示さない多剤耐性菌が世界的に増加し, これらの耐性菌の発生や伝播の機序の研究, 新たな予防・診断・治療法の研究開発が十分でないことが国際社会での大きな課題となっている。2015年5月の第68回世界保健機関総会で採択された薬剤耐性 (AMR) に関するグローバル・アクション・プランにおいては, 世界保健機構 (WHO) が加盟各国に対し2年以内に薬剤耐性に関する国家行動計画を策定することを求めた¹⁾。これを踏まえ, 本邦では国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議のもと, 薬剤耐性に関する検討調整会議が設置され, ワンヘルス・アプローチの視野に立ち, 協働して集中的に

取り組むべき対策が薬剤耐性対策アクションプランとして報告されている²⁾。このアクションプランの対策の一つに「動向調査・監視」として「薬剤耐性及び抗微生物剤の使用量を継続的に監視し, 薬剤耐性の変化や拡大の予兆を適確に把握」することが挙げられている。抗菌薬に対する臨床分離菌株の感受性状況を継続的に調査, 報告することは, 感染症の臨床現場における抗菌薬の適切な選択や適正な使用量を促すと考えられる。また, その結果として各種抗菌薬に対する耐性菌出現の抑制に繋がると考えられる。我々は1992年より隔年で全国から収集した臨床分離株を対象にした感受性調査を行い, その成績を報告してき

た³⁻¹¹⁾。本報告では、広域スペクトルを有するカルバペネム系注射用抗菌薬に焦点を当て、2012年に全国17か所の医療施設で分離された好気性グラム陰性菌のうち、*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., およびEnterobacteriaceae (8菌属種を含む) の合計1,182株を対象とした感受性成績について述べる。なお、本試験は、臨床分離株の収集、性状解析、保存作業などの基盤整備や、様々なクラスの抗菌薬に対するすべての収集株の感受性調査を並行して行っているために、解析が完了した2012年までの株について報告する。また、1992年から2012年までの21年間に亘るカルバペネム耐性*P. aeruginosa*の分離率や、2002年から2012年までの多剤耐性*P. aeruginosa*, 多剤耐性*Acinetobacter* spp. 及びカルバペネム耐性Enterobacteriaceaeの分離率の推移についても報告する。

材料と方法

1. 使用抗菌薬

カルバペネム系薬はmeropenem (MEPM),

doripenem (DRPM), imipenem (IPM) を用いた。Ciprofloxacin (CPFX) 及びamikacin (AMK) は多剤耐性の判定に用いた。これら抗菌薬含有のフローゼンプレート (栄研化学) をMIC測定に使用した。

2. 使用菌株

全国の17医療施設 (Table 1) を対象に、2012年4月から2012年12月の間に種々の臨床材料 (尿, 血液, 膿, 喀痰等) から分離され, かつ重複例を含まない好気性グラム陰性菌のうち, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., Enterobacteriaceae (8菌属種) の合計1,182株を対象とした。なお, 分与菌株は1施設あたり各菌種3~10株ずつ, 抗菌薬に対する感受性や採取部位を考慮せずに収集・分与を依頼した。収集株は, Manual of Clinical Microbiology 10th Edition¹²⁾, Clinical Microbiology Procedures Handbook 3rd Edition¹³⁾ に準じた方法で同定した。

3. 抗菌薬感受性試験

最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory

Table 1. 菌株収集施設 (17施設 順不同)

市立札幌病院
東北大学病院
山形大学医学部附属病院
新潟大学医歯学総合病院
公益財団法人 がん研究会有明病院
社会福祉法人 三井記念病院
国立大学法人 金沢大学附属病院
独立行政法人 地域医療機能推進機構中京病院
名古屋大学医学部附属病院
公益財団法人 天理よろづ相談所病院
大阪大学医学部附属病院
岡山大学病院
鳥取大学医学部附属病院
愛媛大学医学部附属病院
大分大学医学部附属病院
長崎大学病院
琉球大学医学部附属病院

Table 2. *Acinetobacter* spp. のβ-ラクタマーゼ遺伝子検出に使用したプライマー配列

Target	Forward primer (F)	Reverse primer (R)
<i>bla</i> _{OXA-23-like}	5'-GATCGGATTGGAGAACCAGA-3'	5'-ATTTCTGACCGCATTTCCAT-3'
<i>bla</i> _{OXA-24-like}	5'-GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA-3'	5'-AGTTGAGCGAAAAGGGGATT-3'
<i>bla</i> _{OXA-51-like}	5'-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3'	5'-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3'
<i>bla</i> _{OXA-58-like}	5'-AAGTATTGGGGCTTGTGCTG-3'	5'-CCCCTCTGCGCTCTACATAC-3'
<i>bla</i> _{VIM}	5'-GTTTGGTCGCATATCGCAAC-3'	5'-AATGCGCAGCACCAGGATAG-3'
<i>bla</i> _{IMP}	5'-GAATAGAATGGTTAACTCTC-3'	5'-CCAAACCACTAGGTTATC-3'
<i>bla</i> _{NDM}	5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTC-3'	5'-CGGAATGGCTCATCACGATC-3'
<i>ISAb</i> _{a-1}	5'-ATGCAGCGCTTCTTTGCAGG-3'	5'-AATGATTGGTGACAATGAAG-3'
<i>ISAb</i> _{a-4}	5'-ATTTGAACCCATCTATTGGC-3'	5'-ACTCTCATATTTTTTCTTGG-3'
<i>ISAb</i> _{a-125}	5'-GGGTAATGCTCGTATCGT-3'	5'-TAGACGTAGACGTGGTCA-3'

concentration : MIC) の測定は Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の微量液体希釈法に準じ¹⁴⁻²⁰⁾、精度管理菌株として *P. aeruginosa* ATCC 27853 および *Escherichia coli* ATCC 25922 を使用した。MIC 測定には各種抗菌薬含有のフローズンプレート (栄研化学) を使用した。培地はカチオン濃度を調整した Mueller-Hinton broth (CAMHB ; Difco) を使用した。感性及び耐性の分類は CLSI M100-S26 に準じた²⁰⁾。すなわち、*P. aeruginosa* 及び *Acinetobacter* spp. の感性は MIC $\leq 2\mu\text{g/mL}$, Enterobacteriaceae の感性は MIC $\leq 1\mu\text{g/mL}$ とした。なお、本報告における *P. aeruginosa* 耐性分離率の経年変化は、最新の耐性の基準を元に作成したため、1992 年から 2008 年分の分離率は過去の報告とは異なっている³⁻¹¹⁾。厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (Japan Nosocomial Infections Surveillance: JANIS) の薬剤耐性菌判定基準 ver.3.1 に従い²¹⁾、多剤耐性 *P. aeruginosa* (Multidrug resistant *P. aeruginosa*: MDRP) および多剤耐性 *Acinetobacter* spp. (Multidrug resistant *Acinetobacter* spp.: MDRA) は、IPM, AMK, CPMX の MIC 値がそれぞれ $\geq 16\mu\text{g/mL}$, $\geq 32\mu\text{g/mL}$, $\geq 4\mu\text{g/mL}$ の株とした。

カルバペネム耐性 Enterobacteriaceae (CRE) については CLSI 判定基準²⁰⁾ すなわち MEPM の MIC 値が $\geq 4\mu\text{g/mL}$ の株とした。

4. カルバペネマーゼ遺伝子の検出

P. aeruginosa および Enterobacteriaceae については、シカジーニウス® カルバペネマーゼ遺伝子型検出キット (関東化学) を用い、マニュアルに準じて 5 種類のカルバペネマーゼ遺伝子 (*bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-48}) の検出を、Multiplex PCR 法により検出した。*Acinetobacter* spp. については、Table 2 のカルバペネマーゼ遺伝子検出用プライマーおよびプロモーター配列を含む挿入遺伝子領域 (*ISAb*_a) 検出用プライマーを用いて同様の PCR 条件で各遺伝子を検出した。OXA-51 型および OXA-58 型カルバペネマーゼが PCR 陽性であった場合、*ISAb*_a 検出用 F プライマーと該当の OXA 型遺伝子検出用 R プライマーを用いて、*ISAb*_a 配列が OXA 型遺伝子の上流に存在するかどうかを検討した²²⁾。

5. 統計解析

耐性菌分離率の数値について、各薬剤における

耐性菌株の分離率は、年を順序のないカテゴリー値とした説明変数とする、ロジスティック回帰解析を用い最尤推定値の分析を行った。特定の年の分離率の増減に関する、初年を基準とした有意差検定においては年を順序のないカテゴリー値として取扱った。有意水準両側5%を有意性の判定基準とした。

6. 倫理的配慮

本試験において使用した臨床分離株は、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」を厳守して収集された臨床分離株であり、患者に関する個人データ等は匿名化し倫理的に配慮した。臨床分離株の収集に際して倫理委員会の承認が必要な施設においては、それぞれ適切に承認を得たのちに菌株の提供を受けた。

結果

1. 2012年臨床分離株：カルバペネム系薬に対する感受性

P. aeruginosa, *Acinetobacter* spp. および *Enterobacteriaceae* のカルバペネム系薬3剤に対する感受性分布を Table 3 に示した。*P. aeruginosa* 123 株に対する MEPM, DRPM, IPM の MIC₉₀ 値はそれぞれ 8, 8, 16 µg/mL であり、感受率はそれぞれ 79.7, 83.7, 72.4% であった。*Acinetobacter* spp. 91 株に対する MEPM, DRPM, IPM の MIC₉₀ 値はそれぞれ 1, 0.5, 0.5 µg/mL であり、感受率はいずれも 97.8% であった。*Enterobacteriaceae* 968 株に対する MEPM, DRPM, IPM の MIC₉₀ 値はそれぞれ 0.125, 0.25, 2 µg/mL, 感受率はそれぞれ 99.6, 99.5, 75.4% であり、3 剤の中では IPM が最も低かった。*Enterobacteriaceae* の各菌種における IPM 感受率は、*Morganella morganii* が 7.4% と最も低く、次いで *Proteus* spp. が 32.0% であった。*E. coli*

および *Klebsiella* spp. の IPM 感受率は 100 および 98.5% であり、MEPM や DRPM と同程度であった。

2. 2012年臨床分離株：MEPM耐性株のカルバペネマーゼ遺伝子

P. aeruginosa 123 株中 17 株が MEPM 耐性を示し、このうち 2 株からそれぞれ *bla*_{IMP} および *bla*_{VIM} が検出された。*Acinetobacter* spp. では 91 株中 2 株が MEPM 耐性を示し、その両株から *bla*_{OXA-58} が検出され、その一方の株の *bla*_{OXA-58} 遺伝子上流には *IS**Aba-1* が位置していた。*Enterobacteriaceae* では *Enterobacter* spp. 1 株と *Serratia marcescens* 2 株が MEPM 耐性を示し、このうち *Enterobacter* spp. から *bla*_{IMP} が検出された。いずれの株からも NDM, KPC や OXA-48 などのカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。

3. 経年変化：*P. aeruginosa* のカルバペネム系薬 3 剤に対する耐性菌分離率

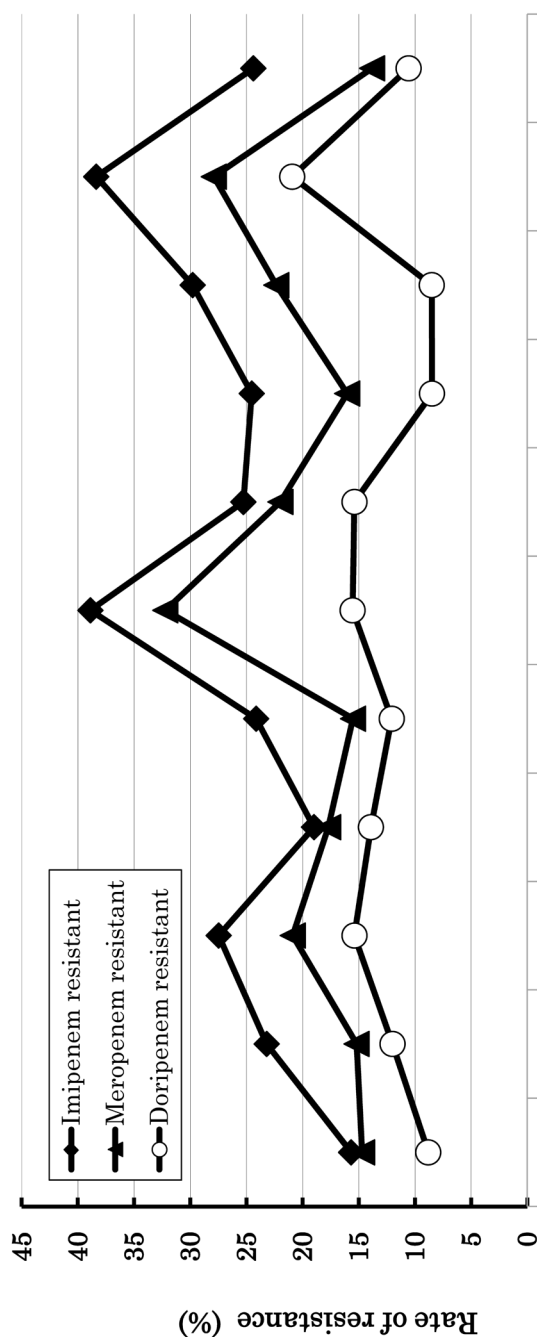
1992 年から 2012 年までの MEPM, DRPM, IPM に対する耐性菌の分離率の推移を Fig. 1 に示した。IPM 耐性率は 21 年を通して 15.7~38.9% で推移し、2002 年に 38.9%, 2010 年に 38.4% と一過的ながら 1992 年に比べて有意に高い値を示した (p 値：それぞれ 0.0039, 0.0066)。MEPM 耐性率は 14.7~32.2% で推移し、IPM 耐性と同様に 2002 年には 32.2%, 2010 年には 27.9% と、一過的に 1992 年に比べて有意に高い値を示した (p 値：それぞれ 0.0017, 0.0373)。DRPM 耐性率は 8.5~20.9% で推移し、2010 年には 20.9% と 1992 年に比べて有意に高かった (p 値：0.0157)。また、21 年間 (11 試験) の平均の耐性株分離率は、IPM 26.4%, MEPM 19.8%, DRPM 12.9% であった。

4. 経年変化：MDRP, MDRA, CRE の分離率

2002 年から 2012 年の *P. aeruginosa* と *Acinetobacter*

Table 3. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterobacteriaceae* 2012年株のカルバペネム薬に対する感受性分布

Species (No. of strains)	Drug	MIC (µg/mL)										Susceptibility (%)			
		≤0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>64	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (123)	Meropenem	8	18	31	24	9	8	8	7	7	4	2	0.5	8	79.7
	Doripenem	11	28	31	17	8	8	7	7	3	1	1	0.25	8	83.7
	Imipenem				11	68	10	4	3	15	8	1	3	1	16
<i>Acinetobacter</i> spp. (91)	Meropenem	3	13	42	20	8	3	3	1	1	1		0.25	1	97.8
	Doripenem	5	49	23	8	2	2	1	1	1	1		0.125	0.5	97.8
	Imipenem	4	17	55	11	1	1		1	1			0.25	0.5	97.8
Enterobacteriaceae (968)	Meropenem	835	113	12	3	1	1	2	1				≤0.063	0.125	99.6
	Doripenem	554	207	140	53	9	2	1	2				≤0.063	0.25	99.5
	Imipenem	2	139	171	198	220	197	38	3				0.5	2	75.4
<i>Escherichia coli</i> (173)	Meropenem	172	1										≤0.063	≤0.063	100
	Doripenem	170	3										≤0.063	≤0.063	100
	Imipenem	1	107	55	8	2							0.125	0.25	100
<i>Klebsiella</i> spp. (202)	Meropenem	197	3	1	1								≤0.063	≤0.063	100
	Doripenem	163	32	6	1								≤0.063	0.125	100
	Imipenem	1	31	88	71	8	3						0.25	0.5	98.5
<i>Citrobacter</i> spp. (79)	Meropenem	77	1				1						≤0.063	≤0.063	98.7
	Doripenem	77	1					1					≤0.063	≤0.063	98.7
	Imipenem			8	24	36	9	1					1	2	87.3
<i>Enterobacter</i> spp. (146)	Meropenem	132	10	2		1		1					≤0.063	≤0.063	99.3
	Doripenem	119	20	5		1			1				≤0.063	0.125	99.3
	Imipenem			15	46	48	36	1					1	2	74.7
<i>Serratia marcescens</i> (103)	Meropenem	94	7					1	1				≤0.063	≤0.063	98.1
	Doripenem	7	74	20			1		1				0.125	0.25	98.1
	Imipenem			2	32	62	6		1				1	1	93.2
<i>Proteus</i> spp. (153)	Meropenem	103	44	5	1								≤0.063	0.125	100
	Doripenem	13	39	57	35	8	1						0.25	0.5	99.3
	Imipenem		3	3	5	41	92	10	2				2	2	32.0
<i>Morganella morganii</i> (68)	Meropenem	31	34	2	1								0.125	0.125	100
	Doripenem	3	15	37	13								0.25	0.5	100
	Imipenem			1		4	39	24					2	4	7.4
<i>Providencia</i> spp. (44)	Meropenem	29	13	2									≤0.063	0.125	100
	Doripenem	2	23	15	4								0.125	0.25	100
	Imipenem			11	19	12	2						1	2	68.2

Fig. 1. 1992年から2012年に分離された臨床分離 *P. aeruginosa* の各種カルバペネム系薬に対する耐性株分離率の推移

耐性の基準は各薬剤ともにMIC $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ 。初年 (1992年) と各年の耐性率については、年を順序のないカテゴリ一値とした説明変数とするロジスティック回帰解析を行った。p値が0.05未満を示した数値には下線を付した。

Table 4. 2002年から2012年の多剤耐性 *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP), 多剤耐性 *Acinetobacter* spp. (MDRA), カルバペネム耐性 Enterobacteriaceae (CRE) 分離率

Year	MDRP		MDRA		CRE	
	Rate (No. of strains)	characteristics (No. of strains)	Rate (No. of strains)	characteristics (No. of strains)	Rate (No. of strains)	characteristics (No. of strains)
2002	4.4% (4/90)	<i>bla_{IMP}</i> (3)	0% (0/43)	-	0.0% (0/735)	-
2004	1.1% (1/91)	<i>bla_{IMP}</i> (1)	0% (0/36)	-	0.6% (5/817)	<i>bla_{IMP}</i> (3)
2006	2.8% (3/106)	-	0% (0/44)	-	0.4% (3/793)	<i>bla_{IMP}</i> (2)
2008	1.1% (1/94)	<i>bla_{IMP}</i> (1)	0% (0/43)	-	0.1% (1/772)	<i>bla_{IMP}</i> (1)
2010	5.8% (5/86)	<i>bla_{VIM}</i> (1)	4.7% (2/43)	<i>bla_{OXA-SI-like}</i> + <i>bla_{OXA-SI-like}</i> (1) <i>ISAbaa-125/bla_{OXA-SI-like}</i> + <i>ISAbaa-125/bla_{OXA-SI-like}</i> (1)	0.7% (5/753)	<i>bla_{IMP}</i> (5)
2012	2.4% (3/123)	<i>bla_{VIM}</i> (1), <i>bla_{IMP}</i> (1)	0% (0/91)	-	0.4% (3/856)	<i>bla_{IMP}</i> (1)

MDRP及びMDRAの基準: imipenem, $\geq 16 \mu\text{g/mL}$; amikacin, $\geq 32 \mu\text{g/mL}$; ciprofloxacin, $\geq 4 \mu\text{g/mL}$, CREの基準: meropenem, $\geq 4 \mu\text{g/mL}$, —: not detected

spp.における多剤耐性株の分離率および Enterobacteriaceae における CRE 分離率の推移を Table 4 に示した。MDRP の分離率は 11 年間に 1.1~5.8% で推移し、計 17 株においてカルバペネマーゼ遺伝子 *bla*_{IMP} は 6 株、*bla*_{VIM} は 2 株から検出された。MDRA は 2010 年にのみ 4.7% (2/43 株) 分離され、いずれの株からもカルバペネマーゼ遺伝子は *bla*_{OXA-58-like} および *bla*_{OXA-51-like} が検出された。さらに、一方の株の両カルバペネマーゼ遺伝子の上流には IS_{Aba-125} が位置していた。CRE は 11 年間に亘って 0.7% 以下で推移し、計 17 株中にカルバペネマーゼ遺伝子 *bla*_{IMP} は 12 株から検出されたが、いずれの株からも *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-48} は検出されなかった。

考察

1992 年から隔年で実施してきたサーベイランス調査を継続し、2012 年臨床分離株に対する各種抗菌薬の MIC 測定を行った。そのうち、近年適正使用で注視されているカルバペネム系薬ならびに多剤耐性菌の出現が世界的に問題となっている *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. 及び Enterobacteriaceae に焦点を当て、これまでに我々が調査してきた過去の感受性データと併せて本邦における各菌属種のカルバペネム耐性ならびに多剤耐性菌の分離率の動向を考察した。

感受性動向が注目される *P. aeruginosa* の耐性率において、今回報告した 2012 年の IPM 耐性分離率 24.4% は、掛屋らが報告した 2013 年の臨床分離株に対する IPM 耐性株の分離率 28.5% とほぼ一致していた²³⁾。1992 年から 2012 年の 21 年間において、特に 2010 年には IPM 耐性、MEPM 耐性、DRPM 耐性の分離率がいずれも一過的な増加を認めたが、山口らも 2010 年臨床分離株の IPM 耐性株の分離率を、尿路感染症由来 609 株で 15.9%、呼吸器感染症由来 660 株で 22.7% と報告

しており²⁴⁾、本試験のみの上昇ではないことが明らかとなっている。その要因として分離材料や分離地域などの偏りが考えられるが、関連性は不明である。海外で分離された *P. aeruginosa* のカルバペネム系薬に対する感受性については、2009 年から 2011 年のヨーロッパ 14 カ国 27 施設を対象とした調査によると、DRPM の非感性率 (MIC $\geq 4\mu\text{g}/\text{mL}$) は国によって増加または減少傾向が異なるものの、3 年間の全体平均で 25.5% と報告されており²⁵⁾、我々の今回の 2012 年分離株における DRPM の非感性率 16.3% (20/123 株) よりも 10% 程度高い値であった。一方、DPRM 非感性 529 株が持つカルバペネマーゼ遺伝子は IMP 型と VIM 型に限定され、KPC 型や NDM 型は検出されていない点は、我々の調査結果と同様であった。

今回、我々は 2002 年から 2012 年まで 11 年間の国内における MDRP の分離率の経年変化も調べた。その結果、MDRP の分離率は、2002 年及び 2010 年にそれぞれ 4.4 及び 5.8% まで上昇した以外は、1.1~2.8% の範囲で推移しており⁸⁻¹¹⁾、2012 年についても 2.4% と大きな変動は生じていなかった (Table 4)。また、福田らが報告した 2011 年から 2013 年の近畿地方における分離率 1.8~2.8% とほぼ合致しており²⁶⁾、本邦において MDRP の顕著な増加傾向はないと言える。これらの MDRP 株から IMP 型や VIM 型遺伝子が検出されたが、検査した 17 株中 8 株のみであり、多剤耐性株においてはカルバペネマーゼ以外の耐性要因として、ポーリン孔の構造や発現量の変化、排出ポンプの亢進なども関与していることが示唆された²⁷⁾。

本邦における *Acinetobacter* spp. のカルバペネム感受性は高く²⁸⁾、我々が報告してきた 2002 年から 2012 年までの 6 回のサーベイランスの中で MDRA が検出されたのは 2010 年の 2 株のみであり⁸⁻¹¹⁾、その点からもカルバペネム感受性の高さがうかがえる。一方、米国では、呼吸器感染および血流感染の患者からの分離株を対象としたサーベイラン

スにおけるカルバペネム (MEPM, DRPM, IPM) 耐性 *Acinetobacter* spp. の分離率は、2003～2005年 (15,490株)、2006～2008年 (12,975株)、2009～2012年 (8,778株) にそれぞれ21.0, 38.8, 47.9%と、この十数年間で顕著に増加したことが報告されている²⁹⁾。またMDRAについては、48カ国453医療施設の腹腔内感染症および尿路感染症患者を対象とした2011年から2014年のグローバルサーベイランスの中で、アフリカ、アジア、ヨーロッパ、南アメリカ、中央アメリカいずれも50%以上の分離率が報告されており、地域によっては90%以上となる年もある。北米においては2013年から減少傾向にあるものの40～50%と報告されている³⁰⁾。少なくとも本報告では、2012年までは本邦におけるカルバペネム耐性 *Acinetobacter* spp. およびMDRAの分離率は非常に低いことが示され、諸外国とは異なる状況であるが、海外の医療機関で治療を受けていた患者を端緒としたMDRAの院内アウトブレイクが何度か報告されていることから³¹⁻³⁴⁾、今後の広がりには注意すべきである。本報告における2012年臨床分離株中のカルバペネム耐性菌2株および2010年のMDRA2株から、米国や欧州で分離報告がある強力なプロモーター配列を含むISAbaを上流に持つOXA-58カルバペネマーゼ遺伝子が検出されており³⁵⁾、海外からの伝播や国内での拡散が起きていると推察される。

カルバペネム系薬に耐性を示すCREも海外で問題となっている耐性菌の一つであり、米国では2000年代初めよりKPC型のカルバペネマーゼを有するCREが広がっている。アメリカ疾病対策予防センター (CDC) は、米国における医療関連感染サーベイランスシステムの調査結果として、Enterobacteriaceaeに占めるCREの割合が、2001年調査時の1.2% (12/962株) から2011年調査時に4.2% (186/4,388株) に増加していると注意喚起を行っている³⁶⁾。また、別の耐性サーベイランスシ

ステムの結果として、2004年には共に0.6%だったMEPMおよびIPM耐性の *Klebsiella pneumoniae* の分離率が2008年にはそれぞれ5.6, 5.3%に増加しているという報告もあり³⁷⁾、近年米国ではCREが増加傾向にあることが窺える。また、European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) の調査によると、2005年から2010年にかけてカルバペネム耐性を示すinvasive *K. pneumoniae* が有意に増加した国として、ギリシャ、キプロス、ハンガリー、イタリアが報告されており、特にギリシャは2005年に27.8%, 2010年に49.8%という高い分離率を示していた³⁸⁾。一方、本報告におけるCREについて2002年以降の分離率を算出したところ、いずれの年度においても1%未満であった。JANISの2012年の報告においても、IPMに耐性 (MIC ≥ 4 μ g/mL) を示す *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* はそれぞれ0.1, 0.2, 0.4%の分離率であり³⁹⁾、我々の報告と同程度である。これらの報告から、現時点までの本邦におけるCRE分離率は前述した諸外国よりも明らかに低いと考えられる。CREの大規模なアウトブレイクは発生していないが、各年度において1%前後ではあるものの連続して検出されていることから、今後も注意が必要である。

以上のように、本調査ではカルバペネム系薬に対する *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., Enterobacteriaceae の感受性は概ね良好であり、顕著な感受性低下や多剤耐性菌増加の傾向は認められなかった。今後も同様の調査を継続的に実施して感受性動向を把握すること、それらの結果を海外の動向と比較することがAMR対策には必要と考えられる。しかし、現時点では国ごとに独自の基準を用いて感受性や多剤耐性を定義しており、各調査の数値を単純に比較することができない。本邦の「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」では²⁾、戦略の一つとして「医療機関、検査機関、行政機関等における薬剤耐性に対する検査手法の標準化と検査

機能の強化」が掲げられているが、国際的な薬剤耐性の基準については明確な記載がない。同じくアクションプランに記載されている戦略の一つである「薬剤耐性に関する国際的な政策に係る日本の主導力の発揮」を実現するためにも、薬剤耐性の基準のグローバルな統一を目指したアクションが望まれる。

謝辞

本研究を実施するにあたり、ご協力を賜りましたシオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社薬効評価I部門感染症IIグループの皆様に感謝いたします。

利益相反申告

著者はすべて塩野義製薬(株)の社員である。

引用文献

- 1) World Health Organization: Global action plan on antimicrobial resistance: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>: 2017年6月5日現在
- 2) 厚生労働省: 薬剤耐性 (AMR) 対策について: <http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000120172.html>: 2017年6月5日現在
- 3) 佐々木 緊, 長野 馨, 木村美司, 他: 種々の臨床分離株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス。日本化学療法学会誌1995; 43: 12–26.
- 4) 長野 馨, 木村美司, 東山伊佐夫, 地主 豊, 佐々木 緊, 吉田 勇: 種々の臨床分離株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス—その2 1994年度分離グラム陰性菌について。日本化学療法学会誌1996; 44: 610–25.
- 5) 吉田 勇, 長野 馨, 木村美司, 東山伊佐夫, 佐々木 緊: 種々の臨床分離株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス—その2 1996年度分離グラム陰性菌について。日本化学療法学会誌1998; 46: 343–62.
- 6) 吉田 勇, 東山伊佐夫, 木村美司, 佐々木 緊: 各種抗菌薬に対する臨床分離株の感受性サーベイランス—その2 1998年分離グラム陰性菌。日本化学療法学会誌2000; 48: 610–32.
- 7) 吉田 勇, 杉森義一, 東山伊佐夫, 木村美司, 山野佳則: 各種抗菌薬に対する臨床分離株の感受性サーベイランス—2000年分離グラム陰性菌に対する抗菌力。日本化学療法学会誌2003; 51: 209–32.
- 8) 吉田 勇, 藤村享滋, 地主 豊, 東山伊佐夫, 杉森義一, 山野佳則: 各種抗菌薬に対する2002年臨床分離好気性グラム陰性菌の感受性サーベイランス。日本化学療法学会誌2006; 54: 355–77.
- 9) 吉田 勇, 藤村享滋, 伊藤喜久, 他: 各種抗菌薬に対する2004年臨床分離好気性グラム陰性菌の感受性サーベイランス。日本化学療法学会誌2008; 56: 562–79.
- 10) 吉田 勇, 山口高広, 伊藤喜久, 他: 各種抗菌薬に対する2006年臨床分離好気性グラム陰性菌の感受性サーベイランス。Jpn J Antibiot. 2010; 63: 457–79.
- 11) 吉田 勇, 山口高広, 工藤礼子, 他: 各種抗菌薬に対する2008年臨床分離好気性グラム陰性菌の感受性サーベイランス。Jpn J Antibiot. 2012; 65: 73–96.
- 12) Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW: Manual of Clinical Microbiology Tenth Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC, 2011.
- 13) Garcia LS: Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC, 2010.
- 14) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Approved Standard-Eighth Edition, M07-A8. Wayne, PA, 2009.
- 15) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement, M100-S19. Wayne, PA, 2009.
- 16) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently

- Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline, M45-A. Wayne, PA, 2006.
- 17) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition, M07-A9. Wayne, PA, 2012.
 - 18) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement, M100-S22. Wayne, PA, 2012.
 - 19) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline-Second Edition, M45-A2. Wayne, PA, 2010.
 - 20) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Sixth Informational Supplement, M100-S26. Wayne, PA, 2016.
 - 21) 厚生労働省 院内感染対策サーベイランス薬剤耐性菌 判定基準 (Ver.3.1): https://janis.mhlw.go.jp/section/standard/drugresistancestandard_ver3.1_20150707.pdf: 2017年6月2日現在.
 - 22) Khorsi K, Messai Y, Hamidi M, Ammari H, Bakour R: High prevalence of multidrug-resistance in *Acinetobacter baumannii* and dissemination of carbapenemase-encoding genes *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24-like} and *bla*_{NDM-1} in Algiers hospitals. *Asian Pac J Trop Med*. 2015; 8: 438–46.
 - 23) 掛屋 弘, 山田康一, 中家清隆, 他: 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. *Jpn J Antibiot*. 2014; 67: 241–8.
 - 24) 山口恵三, 大野 章, 石井良和, 他: 2010年に全国72施設の臨床材料から分離された12,866株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *Jpn J Antibiot*. 2012; 65: 181–206.
 - 25) Castanheira M, Deshpande LM, Costello A, Davies TA, Jones RN: Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of carbapenem-non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* collected during 2009–11 in 14 European and Mediterranean countries. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69: 1804–14.
 - 26) 福田砂織, 小松 方, 中村竜也, 他: 近畿地区で分離した *Pseudomonas aeruginosa* の各種抗菌薬に対する薬剤感受性成績年次推移. *Jpn J Antibiot*. 2016; 69: 101–12.
 - 27) Chalhoub H, Sáenz Y, Rodriguez-Villalobos H, *et al.*: High-level resistance to meropenem in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the absence of carbapenemases: role of active efflux and porin alterations. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 48: 740–3.
 - 28) 山口恵三, 石井良和, 舘田一博, 他: Meropenemを含む各種注射用抗菌薬に対する2012年臨床分離株の感受性サーベイランス. *Jpn J Antibiot*. 2014; 67: 73–107.
 - 29) Zilberberg MD, Kollef MH, Shorr AF: Secular trends in *Acinetobacter baumannii* resistance in respiratory and blood stream specimens in the United States, 2003 to 2012: A survey study. *J Hosp Med*. 2016; 11: 21–6.
 - 30) Lob SH, Hoban DJ, Sham DF, Badal RE: Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 47: 317–23.
 - 31) 高田 徹: 韓国からの持ち込み例を端緒とした多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* によるアウトブレイク事例. *IASR* 2010; 31: 197–8.
 - 32) 山岸由佳, 三嶋廣繁: 愛知県の大学病院における多剤耐性 *Acinetobacter* の検出事例. *IASR* 2010; 31: 200–1.
 - 33) 田辺正樹, 中村明子, 新居晶恵, 荒川宜親: 海外帰国患者より多剤耐性アシネトバクターおよび多剤耐性緑膿菌が同時に検出された事例に関する報告. *IASR* 2014; 35: 244–6.
 - 34) 荒川宜親: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症. *IASR* 2014; 35: 281–2.
 - 35) Evans BA, Hamouda A, Amyes SGB: The rise of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Curr Pharm Des*. 2013; 19: 223–38.
 - 36) Jacob JT, Klein GE, Laxminarayan R, *et al.*: Vital signs: Carbapenem-resistant enterobacteriaceae. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62: 165–9.
 - 37) Rhomberg PR, Jones RN: Summary trends for the meropenem yearly susceptibility test

- information collection program: a 10-year experience in the United States (1999–2008). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 65: 414–26.
- 38) Magiorakos AP, Suetens C, Monnet DL, Gagliotti C, Heuer OE, EARS-Net Coordination Group and EARS-Net participants: The rise of carbapenem resistance in Europe: just the tip of the iceberg? *Antimicrob Resist Infect Control.* 2013; 2: 6.
- 39) Fujimura T, Anan N, Sugimori G, *et al*: Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan to doripenem and antipseudomonal agents. *Int J Antimicrob Agents.* 2009; 34: 523–8.

Carbapenem-susceptibility of Gram-negative bacteria isolated in 2012 and change of isolation rates of multidrug-/carbapenem-resistant strains in recent years in Japan

Naomi Anan, Hidenori Yamashiro, Ryu Yoshida,
Takafumi Sato, Akira Naito and Yoshinori Yamano

Drug Discovery & Disease Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., and Enterobacteriaceae were collected from 17 Japanese medical institutions in 2012. The susceptibilities of these isolates against carbapenems were compared among each bacterial strains. The susceptibility rates of 123 *P. aeruginosa* strains against meropenem, doripenem and imipenem were 79.7, 83.7 and 72.4%, respectively. The susceptibility rates of 968 Enterobacteriaceae strains against meropenem, doripenem and imipenem were 99.6, 99.5 and 75.4%, respectively. In the case of 91 *Acinetobacter* spp. strains, the same susceptibility rate, 97.8%, was shown in each three carbapenems. During the past 21 years, the carbapenem-resistant rates of *P. aeruginosa* were comparable with that of 2012, although the rates increased temporally in 2002 and in 2010. The resistant rate for doripenem was the lowest among the three carbapenems through these 21 years. For 11 years from 2002 to 2012, multidrug-resistant rate of *P. aeruginosa* and carbapenem-resistant rate of Enterobacteriaceae ranged from 1.1 to 5.8% and from 0.0 to 0.7%, respectively, and there was no significant increase during these 11 years. These resistant strains were found to carry *bla*_{IMP} or *bla*_{VIM} metallo-beta-lactamase genes. Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp. strains were isolated only in 2010 with the rate of 4.7% and *bla*_{OXA-58} was detected.