

〈総 説〉

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌および カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌に対する *in vitro* 相加相乗効果の評価 ～抗菌薬併用療法における治療指針の確立に向けた検討～

大神田 敬

聖マリアンナ医科大学微生物学

(2021年2月4日受付)

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) の世界的な蔓延と CRE 感染症の高い死亡率は、感染症治療において深刻な問題となっている。CRE は様々な抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性菌であり、保有する耐性遺伝子や抗菌薬感受性には地域性がある。CRE 感染症の治療には主に抗菌薬併用療法が実施されるが、有効性が期待されるコリスチン (CL) やチゲサイクリン (TGC) には副反応などが懸念される。近年、CRE に対して単剤で有効性を示す新規抗菌薬が開発されているが、これらが日本で承認されるまでには時間が必要である。しばらくの間は、既存の抗菌薬で CRE 感染症を治療しなければならず、そのためには無効なものを如何に増強して有効なものにできるかが課題である。したがって、CL および TGC を使用しない併用療法を検討することは、今後の CRE 感染症の治療指針の確立に重要である。

序文

2014年に発表されたO'Neillレポートにより、薬剤耐性 (AMR) は改めて国際的な問題として認知されるようになった¹⁾。このレポートでは、AMR感染症による世界の死亡者はすでに年間70万人に達しており、このままのペースでAMRが増加すると2050年には感染症による死亡者数がアジアやアフリカの発展途上国を中心に年間1,000万人に上ると試算されている。米国疾病予

防管理センター (CDC) では、18菌種をAMRの脅威としてリストアップしその動向を調査している²⁾。特に、深刻な脅威として挙げられているカルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) の世界的な増加・蔓延傾向は深刻で、すでに多くの国や地域で分離されている。本邦では、2014年9月からCREが感染症法の5類感染症 (全数把握) に指定され、2015年から2019年までの分離率 (発症例) は年間0.7~0.8%で推移している³⁾。

CREの主要なカルバペネム耐性機序の一つにカルバペネム分解酵素 (カルバペネマーゼ) がある。カ

ルバペネマーゼ産生遺伝子は、プラスミド上にコードされていることが多く細菌間で容易に伝達されるため、急速に拡散することが問題となっている。カルバペネマーゼはAmblerの分類により大きく3つに分類され、①クラスBにはimipenemase (IMP) やNew Delhi Metallo- β -Lactamase (NDM) など、②クラスAには *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) など、③クラスDにはoxacillinase-48-like (OXA-48-like) などがある。カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (CPE) のカルバペネム分解能力は、カルバペネマーゼの種類によって様々であり、一部のカルバペネム系薬に見かけ上の感性を示す株も検出される⁴⁾。このようなステルス型のCPEは、一般的な日常検査では検出することが難しく水面下での蔓延が危惧されている。また、カルバペネマーゼ以外の機序でカルバペネムに耐性を示すカルバペネマーゼ非産生腸内細菌目細菌 (non-CPE) も存在し、CREに対する対策はより複雑になっている⁵⁾。

CRE感染症の治療は難渋化しやすく、その死亡率は通常の3倍にも上がることが報告されている⁶⁾。イミペネム (IPM) もしくはメロペネム (MEPM) の最小発育阻止濃度 (MIC) が $\leq 4\mu\text{g/mL}$ の菌株に対しては、カルバペネム系薬の大量投与によって有効な基準とされる $\%T > \text{MIC}$ が40~50%を超えるため有効性を示唆する報告もある⁷⁾。しかし、通常はCRE感染症にカルバペネム系薬の大量投与が選択されることはなく、コリス

チン (CL) あるいはチゲサイクリン (TGC) との併用療法が選択肢に挙げられるが、CLやTGCは有害事象の発現頻度が高いなどの理由から安易に使用できない。そこで現在、CRE感染症に対する治療効果をどのようにして高めることができるかが重要な課題となっている。

従来、多剤耐性緑膿菌感染症の治療において、抗菌薬併用療法が一つの選択肢となってきた。併用効果の評価には、分数阻害濃度指標やブレイクポイント・チェッカーボード (BC) 法などが用いられてきた^{8,9)}。CRE感染症に対しても、主にKPC産生株に対する併用療法が報告されているが、その他のカルバペネマーゼやnon-CP-CREに関する報告は少ない¹⁰⁾。本稿では、CPEおよびnon-CPEを対象としたCLやTGCを使用しない併用療法の検討結果を示し¹¹⁾、抗菌薬併用療法における治療指針の確立に向けた検討について総説する。

研究成果

使用菌株

本研究ではnon-CPE (7株) およびCPE (65株) のCRE (計72株) を使用した (Table 1)。菌種は、*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, および *Enterobacter cloacae* の3菌種、カルバペネマーゼはIMP-1, IMP-6, NDM, KPC, およびOXA-48-like の5種類をそれぞれ選別した。これらは日本 (68

Table 1. 使用菌株の内訳

	<i>Escherichia coli</i> (n=30)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=28)	<i>Enterobacter cloacae</i> (n=14)	Total (n=72)
CRE types				
non-CPE	4	2	1	7
IMP-1	4	5	5	14
IMP-6	5	5	1	11
NDM	6	6	5	17
KPC	5	5	2	12
OXA-48-like	6	5	0	11
Country				
Japan	28	26	14	68
Bangladesh	2	2	0	4

株) およびバングラデシュ (4株) で分離された臨床分離株であり, 検討開始まで -80°C で凍結保存された。

抗菌薬感受性成績

計72株のCREに対する14系統22薬剤のMICをClinical and Laboratory Standards Instituteに準拠した微量液体希釈法で測定し, 感受性をBreakpointに基づいて判定した^{12,13}。抗菌薬は, β -ラクタマーゼ阻害剤配合剤のタゾバクタム/ピペラシリン (TAZ/PIPC), セファロスポリン系のセフトジジム (CAZ), セフトキシム (CTX), セフェピム (CFPM), セファマイシン系のセフメタゾール (CMZ), オキサセフェム系のラタモキセフ (LMOX), モノバクタム系のアズトレオナム (AZT), カルバペネム系のIPM, MEPM, ドリペネム (DRPM), ビアペネム (BIPM), アミノグリコシド系のゲンタマイシン (GM), トブラマイシン (TOB), アルベカシン (ABK), アミカシン (AMK), モノバクタム系のアズトレオナム (AZT), フルオロキノロン系のシプロフロキサシン (CPFX), レボフロキサシン (LVFX), テトラサイクリン系のミノサイクリン (MINO), ホスホン酸系のホスホマイシン (FOM), 合剤のスルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST), ポリペプチド系のCL, およびグリシルサイクリン系のTGCを使用した。

その結果, 各抗菌薬に対する感受性はCREのタイプによって異なることが確認された (Table 2)。各CREのうちnon-CPE株およびIMP産生株を国内型, NDM, KPC, OXA-48-like産生株を海外型とすると, 国内型はカルバペネム系, MINO, CL, およびTGCに対する感性率が低く, ABKおよびAMKに対する感性率が高い傾向があった。一方, 海外型では, カルバペネム系, ABK, およびAMKに対する感性率が低く, MINO, CL, およびTGCに対する感性率が高い傾

向があり, 国内型と海外型では感受性パターンが異なることが確認された。また, IMP-1産生株の29%, OXA-48-like産生株の27%は, 全てのカルバペネムに感性を示した。

In vitro 併用効果

2剤併用効果は, セファロスポリン系, CMZ, およびLMOXを除く17薬剤を組合せた合計136通りの組合せにおけるBC法で検討した。このうち, CLまたはTGCを用いた31通りの組合せは比較対象とし, これらを除く105通りの組合せにおける併用効果を評価した。判定は, ①発育阻止を最小0~最大4でスコア化したのち, 全対象株のスコア率 (合計スコア \div 最大スコア) を算出し, ②単剤で非感性を示す組合せにおいて, 併用により片方または両方の抗菌薬のMIC値が低下したものを「相加相乗効果あり」と判定し, その菌株数の割合を併用率として算出した。この際, 単一薬剤でも感性を示す抗菌薬が使用されている場合は, 発育阻止が併用によるものかどうかを判断できないため判定から除外した。最終的に, ①スコア率および②併用率が共に80%以上を示した組合せを「併用効果あり」と判定した。

その結果, ①国内型のnon-CPE株, IMP-1産生株, およびIMP-6産生株に対しては, それぞれ29/105通り, 51/105通り, および75/105通りの組合せが, 海外型のNDM産生株, KPC産生株, およびOXA-48-like産生株に対しては, それぞれ5/105通り, 27/105通り, 69/105通りの組合せが80%以上のスコア率を示した。また, ②併用率を評価できた組合せは, non-CPE株が90/105通り, IMP-1産生株が71/105通り, IMP-6産生株が60/105通り, NDM産生株が105/105通り, KPC産生株が103/105通り, およびOXA-48-like産生株が105/105通りであった。このうち, 国内型のnon-CPE株, IMP-1産生株, およびIMP-6産生株に対しては, それぞれ20/90通り, 9/71通り, お

Table 2. 各抗菌薬に対するCREの感性率 (%)

Breakpoint of S*	non-CPE (n=7)		IMP-1 (n=14)		IMP-6 (n=11)		NDM (n=17)		KPC (n=12)		OXA-48-like (n=11)	
	%S	MIC90	%S	MIC90	%S	MIC90	%S	MIC90	%S	MIC90	%S	MIC90
TAZ/PIPC	14%	4/2048	36%	4/2048	82%	4/4096	0%	4/8192	0%	4/8192	0%	4/8192
CAZ	0%	≥ 16	0%	≥ 16	0%	≥ 16	0%	≥ 16	0%	≥ 16	36%	≥ 16
CTX	0%	≥ 4	0%	≥ 4	0%	≥ 4	0%	≥ 4	0%	≥ 4	27%	≥ 4
CFPM	29%	≥ 32	14%	≥ 32	9%	≥ 32	0%	≥ 32	0%	≥ 32	36%	≥ 32
CMZ	0%	≥ 64	0%	≥ 64	0%	≥ 64	0%	≥ 64	33%	≥ 64	73%	≥ 64
LMOX	0%	≥ 64	0%	≥ 64	0%	≥ 64	0%	≥ 64	33%	≥ 64	73%	≥ 64
AZT	14%	2048	71%	512	9%	1024	29%	1024	0%	8192	27%	512
IPM	0%	8	36%	4	100%	0.5	0%	16	0%	64	27%	32
MEPM	0%	4	29%	8	0%	16	0%	64	0%	128	82%	32
DRPM	0%	4	29%	16	0%	16	0%	128	0%	64	82%	32
BIPM	14%	8	64%	4	91%	1	12%	8	0%	256	82%	32
GM	43%	64	86%	64	82%	8	47%	16384	58%	256	82%	16
TOB	29%	32	57%	32	9%	32	47%	8192	25%	32	55%	32
ABK	86%	2	100%	2	100%	4	71%	8192	58%	8	73%	16
AMK	100%	4	100%	2	100%	4	71%	16384	75%	32	91%	8
CPEX	29%	256	29%	64	27%	128	6%	256	17%	256	46%	256
LVFX	29%	32	29%	32	27%	32	24%	64	25%	128	55%	128
MINO	57%	16	7%	64	55%	16	47%	16	83%	8	64%	8
FOM	86%	256	71%	128	82%	128	88%	64	83%	512	82%	512
ST	43%	19456/1024	36%	19456/1024	73%	19456/1024	24%	19456/1024	25%	19456/1024	36%	19456/1024
CL	86%	1	79%	32	100%	1	94%	2	92%	1	100%	1
TGC	71%	2	64%	2	91%	1	94%	1	100%	1	100%	1

*S, susceptible

よび27/60通りの組合せが、海外型のNDM産生株、KPC産生株、およびOXA-48-like産生株に対しては、それぞれ3/105通り、16/103通り、7/105通りの組合せが80%以上の併用率を示した。したがって、併用効果が認められた組合せは、non-CPE株が13/90通り、IMP-1産生株が8/71通り、IMP-6産生株が24/60通り、NDM産生株が2/105通り、KPC産生株が13/103通り、およびOXA-48-like産生株が7/105通りであった (Table 3)。以上より、タンパク合成阻害剤と細胞壁合成阻害剤の組合せに併用効果が認められ、特に国内型ではアミノグリコシド系薬、海外型ではABKまたはMINOを用いた組合せに高い併用効果が確認された。一方、CLおよびTGCを用いた組合せでは、non-CPE株、IMP-1産生株、IMP-6産生株、NDM産生株、KPC産生株、およびOXA-48-like産生株に対してそれぞれ30/31通り、31/31通り、31/31通り、31/31通り、30/31通り、および31/31通りが80%以上のスコア率を示し、それぞれ11/22通り、14/24通り、10/10通り、30/31通り、4/13通り、および0/0通りが80%以上の併用率を示した。したがって、併用効果が認められた組合せは、non-CPE株が11/22通り、IMP-1産生株が14/24通り、IMP-6産生株が10/10通り、NDM産生株が30/31通り、KPC産生株が4/13通り、およびOXA-48-like産生株が判定不能であった。

殺菌・静菌効果

併用する組合せは、*in vitro* 併用効果が高い組合せの中からそれぞれ1組選択し、CRE菌株は各併用薬に単剤で最も高いMIC値を示すものを使用した (Table 4)。生菌数測定は、終濃度 1×10^6 CFU/mLに調整した菌液および9系列の抗菌薬 (ブランク、単剤各2濃度、併用4濃度) を用いた塗抹平板培養法で実施した (3重測定)。殺菌曲線は、抗菌薬曝露後0時間・3時間・6時間・24時間後における各生菌数の中央値から作成した。

各CREにおける殺菌曲線をFigure 1に示した。Non-CPE株では、ABK: 1/2MICとIPM: 1/2MICの併用により、生菌数が3時間で 9.0×10^3 CFU/mL、6時間で 2.0×10^2 CFU/mLに減少し、24時間後には検出限界以下まで減少した (Figure 1-A)。IMP-1産生株では、TOB: 1/2MICとTAZ/PIPC: 1/32MICの併用により、3時間で 7.0×10^3 CFU/mL、6時間で 4.2×10^2 CFU/mLに減少したが、24時間後には再増殖 (3.6×10^5 CFU/mL) が認められた (Figure 4-B)。IMP-6産生株では、GM: 1/2MICとMEPM: 1/8MICの併用により、3時間で 1.0×10^2 CFU/mL、6時間で10 CFU/mLに減少し、24時間後には検出限界以下まで減少した (Figure 1-C)。NDM-5産生株では、MINO: 1/2MICとBIPM: 1/8MICの併用により、3時間で 4.0×10^5 CFU/mL、6時間で 1.0×10^5 CFU/mLに減少し、24時間後は 4.0×10^3 CFU/mLに減少した (Figure 1-D)。KPC-2産生株では、MINO: 1/2MICとAMK: 1/2MICの併用により、3時間で 7.0×10^5 CFU/mL、6時間で 6.0×10^4 CFU/mLに減少したが、24時間後も 6.0×10^4 CFU/mLであった (Figure 1-E)。OXA-48産生株では、MINO: 1/4MICとIPM: 1/2MICの併用により、3時間で 2.0×10^3 CFU/mL、6時間で 2.0×10^2 CFU/mLに減少し、24時間まで 2.0×10^2 CFU/mLを保っていた (Figure 1-F)。以上より、検討した各組合せは、non-CPE株、IMP-1産生株、IMP-6産生株、NDM-5産生株およびOXA-48産生株に殺菌的に作用し、KPC-2産生株には静菌的に作用した。したがって、タンパク合成阻害剤と細胞壁合成阻害剤の併用は、sub-MIC同士であっても各CREに対して殺菌効果を示すことが確認された。

考察

本研究では、様々なタイプのCREに対する105通りの*in vitro* 併用効果を検討した結果、カルバ

Table 3. 各 CRE に対して併用効果が認められた組合せ

non-CPE (<i>n</i> =7)		IMP-1 (<i>n</i> =14)		IMP-6 (<i>n</i> =11)		NDM (<i>n</i> =17)		KPC (<i>n</i> =12)		OXA-48-like (<i>n</i> =11)	
Drug 1	Drug 2	Score	1	2	Score	1	2	Score	1	2	Score
ABK	TAZ/PIPC	100%	TOB	TAZ/PIPC	100%	TAZ/PIPC	MINO	100%	MINO	AMK	96%
	AZT	100%		AZT	93%	MEPM	ABK	96%	LVFX	DRPM	96%
	IPM	100%		MEPM	91%	DRPM		83%	TAZ/PIPC	BIPM	96%
	MEPM	100%		IPM	88%	FOM		92%	AZT	MEPM	91%
	DRPM	100%		MINO	80%	AZT	BIPM	100%	IPM	TAZ/PIPC	82%
	BIPM	100%		ST	80%	TOB		100%	MEPM	TAZ/PIPC	96%
	GM	100%		ST	96%	ST		100%	DRPM	MEPM	91%
	TOB	100%		MINO	95%	MEPM		98%	BIPM		-
	CPEX	100%		AZT	-	LVFX		98%	TOB		-
	LVFX	100%		-	-	DRPM		96%	CPEX		-
	MINO	100%		-	-	CPEX		96%	LVFX		-
	ST	100%		-	-	MINO		96%	MINO		-
TOB	FOM	82%		-	-	MEPM	GM	100%	ST		-
	-	-		-	-	FOM		98%	-		-
	-	-		-	-	AZT		91%	-		-
	-	-		-	-	DRPM		91%	-		-
	-	-		-	-	TOB		86%	-		-
	-	-		-	-	CPEX		86%	-		-
	-	-		-	-	LVFX		84%	-		-
	-	-		-	-	FOM	TOB	86%	-		-
	-	-		-	-	ST		82%	-		-
	-	-		-	-	LVFX	ST	100%	-		-
	-	-		-	-	MINO		89%	-		-
	-	-		-	-	CPEX		86%	-		-

Table 4. 選択した組合せおよび使用菌株の詳細

	Carbapenemase	Isolates	Combination		MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
			Drug 1	Drug 2	Drug 1	Drug 2	Drug 1+2
non-CPE	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ABK	IPM	≥ 16	8	$\leq 4+1$
IMP-1	IMP-1	<i>Enterobacter cloacae</i>	TOB	TAZ/PIPC	16	4/1024	$\leq 4+4/16$
IMP-6	IMP-6	<i>Escherichia coli</i>	GM	MEPM	8	16	$\leq 2+1$
NDM	NDM-5	<i>Escherichia coli</i>	MINO	BIPM	16	16	8+1
KPC	KPC-2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MINO	AMK	8	32	$\leq 2+8$
OXA-48-like	OXA-48	<i>Escherichia coli</i>	MINO	IPM	8	2	$\leq 2+0.5$

ペネマーゼの産生性や産生遺伝子型によって有効な組合せが異なることが明らかとなった (Table 3)。これらのうち一部の組合せでは、CL または TGC を用いた 31 通りの組合せと同等以上の併用効果を示しており、臨床的な有効性が期待される結果となった。特にアミノグリコシド系薬もしくはテトラサイクリン系薬と β -ラクタム系薬の併用は、それぞれに耐性を示す CRE 株に対しても sub-MIC で高い併用効果を示したことから、組合せのファーストラインとして期待できる。

アミノグリコシド系薬は、他の抗菌薬と併用することでシナジー効果を示すことから、CRE に対する併用療法に推奨されている。過去の報告では、GM をベースとした併用療法により KPC 産生 *K. pneumoniae* 感染患者の死亡率を 53.3% から 31.2% へ減少させている¹⁴⁾。また、KPC または VIM 産生株感染症患者に対する 20 件の臨床研究のレビューにおいて、アミノグリコシド系薬とカルバペネム系薬の併用療法が最も死亡率が低いと報告されている¹⁵⁾。TOB をベースとした併用は、緑膿菌に対する併用効果が報告されており、その中でも MEPM との組合せが推奨されている¹⁶⁾。また、高用量の AZT を用いた 3 剤併用の IMP-1 産生緑膿菌に対する有効性も報告されている¹⁷⁾。確かに、今回の検討結果でもこれらの組合せは、IMP-1 産生菌に対して高い併用効果を示したが、最も高い有効性を示した組合せは TOB と TAZ/PIPC の併用であり、両薬剤に耐性の株に対しても sub-MIC で短時間殺菌能を示した。一方、

IMP-6 産生菌の場合、TOB ではなく GM をベースとする組合せに高い有効性が示された。特に GM と MEPM の併用は全ての IMP-6 産生菌に対して有効であり、両薬剤に耐性の株に対しても sub-MIC で顕著な殺菌効果を示した。興味深いことに、ベースとなるアミノグリコシドの種類は、IMP-1 産生菌と IMP-6 産生菌で異なっていたが、これは単純に GM に対する MIC 値の違い (MIC₉₀: IMP-1 が 64, IMP-6 が 8) によるものと推測される。したがって、non-CPE 株に ABK ベースの併用、IMP-1 産生株に TOB と TAZ/PIPC、IMP-6 産生株に GM と MEPM の併用が高い併用効果と短時間殺菌能を示したことにより、日本型の CRE に対してはアミノグリコシド系薬と β -ラクタム系薬の併用療法が有効である可能性が示唆された。また、本研究で AMK は non-CPE 株および IMP 産生株、ABK は IMP 産生株に対して単剤でも 100% 感性であったため、これらを使用した組合せの相加相乗効果を検討することが出来なかったが、これらをベースとした組合せは高いスコア率を示しているため、今後の検討結果によっては有効性が認められる可能性がある。

主に南アジアで広がっている NDM 産生株は 16S rRNA メチルトランスフェラーゼ (16SRMTase) を同時に産生するため、広範囲のアミノグリコシド系薬に対して高度耐性を示す。残念ながら、バングラデシュで分離された株を含むいくつかの NDM 産生株は、複数の 16SRMTase 産生遺伝子を保有しているためアミノグリコシド系薬に対して

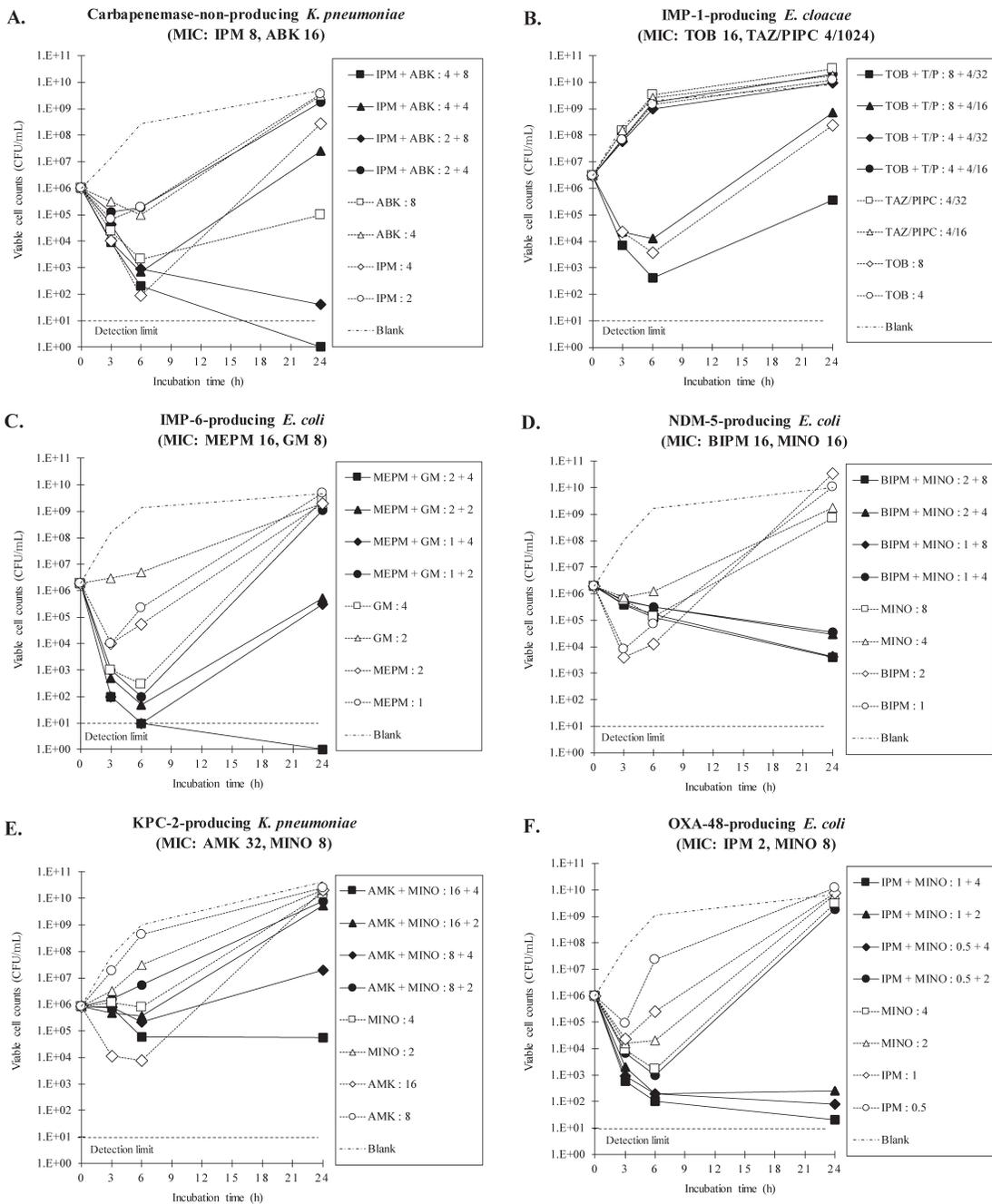


Figure 1. 各CREタイプに対する殺菌曲線。縦軸に生菌数、横軸に培養時間を示している。生菌数が $\leq 1 \times 10^3$ CFU/mLまで減少した場合を殺菌効果ありと判定している。検出限界は10 CFU/mLである。

超高度耐性であり、これらを用いた組合せに併用効果を示さなかった。したがって、NDM産生菌に対してアミノグリコシド系薬を用いた併用療法は推奨されない。今回の検討結果では、MINOを用いた組合せがNDM産生株だけでなく、全てのCREに対して高い併用効果を示すことが明らかになった。テトラサイクリンは、30Sリボソームサブユニットに結合することで蛋白合成を阻害する静菌的抗菌薬であり、静菌的抗菌薬を用いた併用は一般的に拮抗作用を示すことが知られているが¹⁸⁾、高用量のMINO(1日2回0.2g)をベースとした併用療法により67%の患者に治療効果が認められたという報告もある¹⁹⁾。したがって、高用量のMINOを用いた併用療法は、アミノグリコシド系薬高度耐性のCREに対するセカンドラインになり得ると考えている。

アミノグリコシド系薬を用いた併用療法は、海外型のCREに対しても有効性が期待される結果となったが、高い併用効果を示した抗菌薬はABKのみであった。諸外国においてABKは一般的に使用されていないため、本研究ではMINOとAMKの組合せでKPC産生株に対する殺菌効果を検討した。その結果、sub-MICでも静菌効果を示したが、静菌的抗菌薬同士の併用であるため殺菌効果は認められなかった。過去にもKPC産生*K. pneumoniae*に対してAMKを用いた併用に十分な治療効果が得られていないことから¹⁹⁾、KPC産生株に対するAMKベースの併用療法には限界があると考えられる。OXA-48-like産生株は、カルバペネム系薬やアミノグリコシド系薬に対して比較的高い感性率を示したが、それらを含む多くの併用療法に相加相乗効果が認められず、高い併用効果を示した組合せはわずか3通りであった。本検討ではMINOとIPMの併用が高い併用効果を示したが、ABKをベースとした併用も候補となる可能性がある。なお、本研究で使用された菌株のうち、日本で分離された株の感受性成績は比較

的良好であったが、バングラデシュで分離された株はNDM産生株と同様であった。これは、OXA-48-like産生菌の感受性が分離される地域によって異なり、それにより効果的な併用療法も異なる可能性を示唆している。

本検討により、CREに対してCLやTGCを使用しない併用療法に有効性が認められ、その組合せはカルバペネマーゼの産生性や産生遺伝子型、さらに分離地域によって異なることが明らかとなった。さらに、これらの組合せは、カルバペネム高度耐性株に対しても高い併用効果と殺菌効果を示した。近年、カルバペネマーゼ産生遺伝子を短時間で検出できる検査法が開発されており^{20,21)}、これらを臨床の現場で活用することで、CRE感染症に対して効果的な併用療法が早期から実施できるようになると考えられる。今後、*in vivo*での検討などを実施し様々な課題を解決する必要があるが、最終的にCRE感染症に対する抗菌薬治療指針を確立させたい。

謝辞

2020年度日本感染症医薬品協会奨励賞受賞にあたり、これまでご指導いただいた国際医療福祉大学医学部感染症学講座の松本哲哉教授、菌株をご提供いただいた奈良県立医科大学微生物感染症学講座の矢野寿一教授、および本賞の選考委員の先生方に心より感謝申し上げます。

利益相反

本研究は、日本化学療法学会からの受託研究費で実施された。

引用文献

- 1) The Review on Antimicrobial Resistance, chaired by Jim O'Neill: Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Dec 2014. <http://www.jpiamr>.

- eu/wp-content/uploads/2014/12/AMR-Review-Paper-Tackling-a-crisis-for-the-health-and-wealth-of-nations_1-2.pdf
- 2) CDC: Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019. <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>
 - 3) 厚生労働省 院内感染対策サーベイランス事業 公開情報 検査部門 JANIS (一般向け) 期報・年報: 病床数別公開情報. <https://janis.mhlw.go.jp/report/kensa.html>
 - 4) Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V; European Network on Carbapenemases: Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect*. 2012 May; 18(5): 432–8. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03815.x. PMID: 22507110.
 - 5) Tsai YK, Liou CH, Fung CP, Lin JC, Siu LK: Single or in combination antimicrobial resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* contribute to varied susceptibility to different carbapenems. *PLoS One*. 2013 Nov 12; 8(11): e79640. doi: 10.1371/journal.pone.0079640. PMID: 24265784; PMCID: PMC3827147.
 - 6) Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP: Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 Dec; 29(12): 1099–106. doi: 10.1086/592412. PMID: 18973455.
 - 7) Karaiskos I, Antoniadou A, Giamarellou H: Combination therapy for extensively-drug resistant gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017 Dec; 15(12): 1123–40. doi: 10.1080/14787210.2017.1410434. Epub 2017 Dec 1. PMID: 29172792.
 - 8) Chin NX, Neu HC: Synergy of azlocillin with aminoglycosides. *J Antimicrob Chemother*. 1983 May; 11 Suppl B: 33–8. doi: 10.1093/jac/11.suppl_b.33. PMID: 6413482.
 - 9) Tateda K, Ishii Y, Matsumoto T, Yamaguchi K: 'Break-point Checkerboard Plate' for screening of appropriate antibiotic combinations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Scand J Infect Dis*. 2006; 38(4): 268–72. doi: 10.1080/00365540500440353. PMID: 16709527.
 - 10) Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL: Treatment Options for Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Infections. *Open Forum Infect Dis*. 2015 May 5; 2(2): ofv050. doi: 10.1093/ofid/ofv050. PMID: 26125030; PMCID: PMC4462593.
 - 11) Okanda T, Matsumoto T: *In vitro* effect of an antimicrobial combination therapy without colistin and tigecycline for CPE and non-CPE. *J Infect Chemother*. 2020 Apr; 26(4): 322–30. doi: 10.1016/j.jiac.2019.12.004. Epub 2020 Jan 7. PMID: 31924522.
 - 12) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 28th Edition: Clinical and Laboratory Standards Institute (M100-ED28). <http://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>
 - 13) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters: Version 7.1, 2017 (<http://www.eucast.org>).
 - 14) Gonzalez-Padilla M, Torre-Cisneros J, Rivera-Espinar F, *et al.*: Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Mar; 70(3): 905–13. doi: 10.1093/jac/dku432. Epub 2014 Oct 25. PMID: 25344809.
 - 15) Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Piperaki E, Souli M, Daikos GL: Treating infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Sep; 20(9): 862–72. doi: 10.1111/1469-0691.12697. Epub 2014 Jul 12. PMID: 24890393.
 - 16) 高橋公毅, 菅野治重: 緑膿菌の薬剤感受性と抗菌薬の併用効果について。日本化学療法学会雑誌 1999; 47(2): 67–73.
 - 17) Oie S, Fukui Y, Yamamoto M, Masuda Y, Kamiya A: *In vitro* antimicrobial effects of aztreonam, colistin, and the 3-drug combination of aztreonam, ceftazidime and amikacin on metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Infect Dis*. 2009 Aug 10; 9: 123. doi: 10.1186/1471-2334-9-123. PMID: 19664245; PMCID: PMC2738676.

- 18) Gunnison JB, Shevky MC, Bruff JA, Coleman VR, Jawetz E: Studies on antibiotic synergism and antagonism: the effect in vitro of combinations of antibiotics on bacteria of varying resistance to single antibiotics. *J Bacteriol.* 1953 Aug; 66(2): 150–8. doi: 10.1128/JB.66.2.150-158.1953. PMID: 13084551; PMCID: PMC357114.
- 19) Pogue JM, Neelakanta A, Mynatt RP, Sharma S, Lephart P, Kaye KS: Carbapenem-resistance in gram-negative bacilli and intravenous minocycline: an antimicrobial stewardship approach at the Detroit Medical Center. *Clin Infect Dis.* 2014 Dec 1; 59 Suppl 6: S388–93. doi: 10.1093/cid/ciu594. PMID: 25371515.
- 20) Khalifa HO, Okanda T, Abd El-Hafeez AA, *et al.*: Comparative evaluation of five assays for detection of carbapenemases with a proposed scheme for their precise application. *J Mol Diagn.* 2020 Sep; 22(9): 1129–38. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.05.012. Epub 2020 Jun 15. PMID: 32553883.
- 21) Lu Q, Okanda T, Yang Y, *et al.*: High-speed quenching probe-polymerase chain reaction assay for the rapid detection of carbapenemase-producing gene using GENECUBE: A fully automatic gene analyzer. *Mol Diagn Ther.* 2021 Jan 16. doi: 10.1007/s40291-020-00511-5. Epub ahead of print. PMID: 33453050.

Evaluation of *in vitro* antimicrobial combined effects on carbapenem-resistant *Enterobacterales* and carbapenemase-producing *Enterobacterales*

Takashi Okanda

Department of Microbiology, St. Marianna University School of Medicine

The spread of carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) and the high mortality rate of CRE infections are serious problems in the antimicrobial therapy. CRE is a multidrug-resistant that has acquired resistance to various antibacterial, and its resistance genes and antibacterial susceptibility are regional. Antibacterial combination therapy is used to treat CRE infections, but there are concerns about adverse reactions to colistin (CL) and tigecycline (TGC), which are expected to be effective. In recent years, new antibacterial that are effective against CRE have been developed, but it will take some time before they are approved in Japan. For the time being, CRE infections will have to treat by existing antibacterial, and the challenge is how to enhance the ineffective ones to make them effective. Therefore, considering combination therapies that do not use CL and TGC is important for establishing treatment guidelines for future CRE infections.