

## 松山赤十字病院における多剤耐性 *Pseudomonas aeruginosa* および多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* の分離状況

西山 政孝\*      谷松 智子      高橋 諭  
福永真紗美      森山 保則      吉村 昌子  
清家 康子      横田 英介

### 要 旨

MDRP 分離患者 51 名 (67 株) および MRAB 分離患者 1 名 (1 株) を対象に MBL 産生性, 年次推移, 薬剤感受性, 患者背景について検討した. MBL 産生株は MDRP において 51 名中 22 名 (43.1%) の患者から分離した. MDRP の年次推移は 2001 年に初めて分離し, 年間 10 名以下で推移した. MDRP の薬剤感受性は MBL 産生群では PIPC が 70.4% と感受性率が高く, AZT が 18.5%, TOB が 3.7% であった. MBL 非産生群では CAZ が 80% と高く, PIPC が 32.5% であった. MDRP の分離時期は 51 名中 2 名が外来, 14 名が入院後 2 日以内, 35 名は入院後 3 日以降であった. MDRP の由来材料は尿が 37.3% と最も多く, MBL 産生株の占める割合も尿が 60% と他の材料に比べ高率であった. 尿から MDRP を分離した患者は尿カテ留置中が 25 名中 13 名 (52.0%), 尿カテ抜去後が 3 名 (12.0%) であった. MDRP 分離患者の基礎疾患は血液疾患患者が 14 名と最も多く, 分離時期は化学療法後, 造血幹細胞移植後, 免疫抑制療法後が多かった. 一方, MRAB は 2001 年の 1 名のみでの分離であった. 患者は急性骨髄性白血病で同種骨髄移植後 (入院 22 日目) に尿から分離された. 分離株は MBL を産生し, AZT と SBT/CPZ が中間の他は全て耐性であった.

### はじめに

*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* は土壌や水中などの湿潤環境に広く生息し, 医療現場でも洗面台, 浴槽等から検出されることから日和見感染の代表菌として周知されている. 近年, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* の中にカルバペネムを含むほとんど全ての  $\beta$  ラクタム剤を加水分解するカルバペネマーゼ (CPM) 産生株が出現<sup>1)</sup>, これが原因の院内感染事例もしばしば報告されるようになり<sup>2)~4)</sup>, 院内感染防止対策上および感染症治療上において脅威となってきた.

今回, 我々は院内感染防止対策の一環として松山赤十字病院における多剤耐性 *P. aeruginosa* (MDRP), 多剤耐性 *A. baumannii* (MRAB) のメタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ (MBL) 産生性, 年次推移, 薬剤感受性, 患者背景について検討したので報告する.

### 対象および方法

対象は 2001 年 12 月~2010 年 8 月の間に当院で MDRP (imipenem/cilastatin (IPM) の最小発育阻止濃度 (MIC) が 16  $\mu$ g/ml 以上かつ amikacin (AMK) の MIC が 32  $\mu$ g/ml 以上かつ levofloxacin (LVFX) の MIC が 8  $\mu$ g/ml 以上) を分離した 51 名 (67 株:

\*松山赤十字病院 検査部

同一患者で由来材料が同じものは除く), MRAB (IPMのMICが16 µg/ml以上かつAMKのMICが64 µg/ml以上かつLVFXのMICが8 µg/ml以上)を分離した1名(1株)とした。

方法はMICの測定を臨床検査標準化協会(CLSI)の微量液体希釈法に準じたNegコンボ4B, 12B, 11Jパネルを用いてWalk away96Si (SIEMENS社製)にて行った。抗菌薬はpiperacillin (PIPC), ceftazidime (CAZ), cefepime (CFPM), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), IPM, meropenem (MEPM), aztreonam (AZT), AMK, tobramycin (TOB), LVFXの10薬剤を用い、薬剤感受性判定基準はCLSIに従った。

MBL産生株の検出はCLSIに準拠し調整した菌液をMeullar-Hinton寒天培地に塗り、CAZおよびIPMのKirby-Bauerディスクとメルカプト酢酸ナトリウム(SMA)ディスクを置き35°Cで一夜培養した。培養後、SMAディスク近傍にあるCAZもしくはIPMディスク周囲の発育阻止帯の形状が、単独においたCAZやIPMに比べ大きくなった株をMBL産生株と判定した。

結 果

1. MDRPの分離状況

1) SMAディスク法によるMBL産生株の検出

51名中22名(43.1%)の患者からMBL産生株が検出された。

2) 分離患者数の年次推移 (Fig. 1)

2001年に1名から初めて分離した後、年々増加傾向を示し2006年には8名から分離した。2007年に2名と減少したものの、2010年は9月現在で9名に達した。

3) 薬剤感受性 (Fig. 2)

51名から分離した67株についてMBL産生群(27株)とMBL非産生群(40株)に分けて検討した。MBL産生群では感受性を示した薬剤はPIPCが70.4%と高く、次いでAZTが18.5%, TOBが3.7%の順で、その他の薬剤は全て耐性(中間を含む)であった。一方、MBL非産生群では感受性を示した薬剤はCAZが80%と高く、次いでPIPCが32.5%, SBT/CPZ, AZT, TOBが各々7.5%, CFPMが2.5%であった。

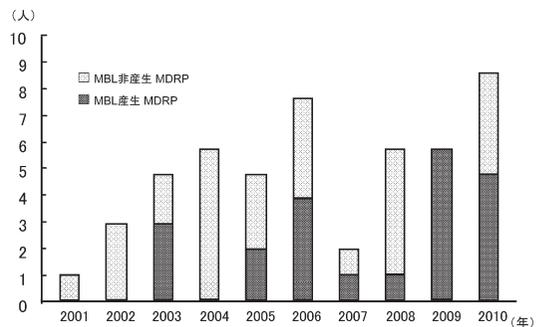


Fig. 1 MDRPの年次推移

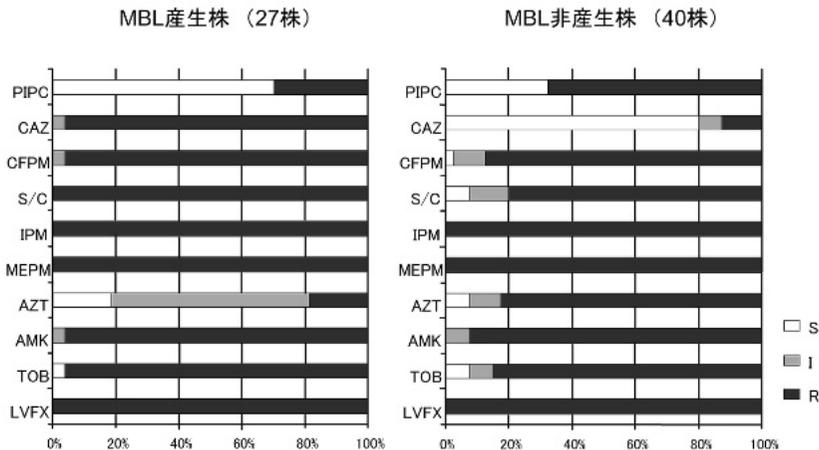


Fig. 2 MBL産生・非産生別にみた薬剤感受性

4) 患者背景

a) 平均年齢

分離患者の平均年齢±SDは男性37名が67.2±12.9歳、女性14名が82.9±6.9歳で、女性が有意に高齢であった (p<0.05).

b) 分離時期

51名中2名(3.9%)が外来で、14名(27.5%)が入院後2日以内に、35名(うち13名は分離日まで検査未実施)は入院後3日以降に分離された。また、入院患者49名について入院から分離までの日数を検討したところ、MBL産生株分離患者(20名)が29.3±13.2日、非産生株分離患者(29名)が42.3±49.5日であった。

c) 基礎疾患 (Table 1)

患者51名の基礎疾患はのべ66疾患あり、血液疾患を有する者が14名と最も多く、脳血管障害が12名、腎疾患が11名、癌が10名、糖尿病が7名、消化器疾患が4名、心疾患が3名、神経障害(損傷)とリウマチと呼吸器疾患が各2名、肝疾患が1名で

あった。なお、血液疾患患者14名の分離時期は化学療法後が5名、造血幹細胞移植後が5名、免疫抑制療法後が1名、前医からの持込みが1名、化学・免疫抑制療法のない者が2名であった。

d) 基礎疾患別にみた由来材料 (Fig. 3)

51名の患者から分離した67株のうち尿が25株(37.3%)と最も多く、喀痰が16株(23.9%)、便が8株(11.9%)、膿が7株(10.4%)、血液が4株(6.0%)であった。なお、尿から分離した患者25名のうち尿道カテーテル(尿カテ)留置中の分離が13名(52.0%)、尿カテ抜去後が3名(12.0%)、尿カテ無しが9名(36.0%)であった。

基礎疾患別にみると血液疾患(14名、20株)の由来材料は喀痰8株(40%)、血液4株(20%)、膿3株(15%)の順に多く、脳血管障害(12名、12株)では尿が10株(83.3%)、腎疾患(11名、18株)では尿7株(38.9%)、喀痰4株(22.2%)の順で、癌(10名、14株)では尿、便が各4株(28.6%)、喀痰、その他が各3株(21.4%)であった。

e) 由来材料別にみた MBL 産生株の分離率

由来材料が尿において MBL 産生株の占める割合は25株中15株(60.0%)と最も多く、膿では7株中2株(28.6%)、喀痰では16株中4株(25.0%)、便では8株中2株(25.0%)であった。

Table 1 MDRP 分離患者の主な基礎疾患

大分類	人数	基礎疾患名
血液疾患	14	AML: 4名 MDS: 3名 多発性骨髄腫・悪性リンパ腫: 各2名 ATL・ALL・再生不良性貧血: 各1名
脳血管障害	12	脳梗塞: 10名 脳出血: 3名
腎臓疾患	11	慢性腎不全: 10名 ネフローゼ: 1名
癌	10	胃癌・肺癌・膀胱癌・咽頭癌: 各2名 膵臓癌・前立腺癌: 各1名

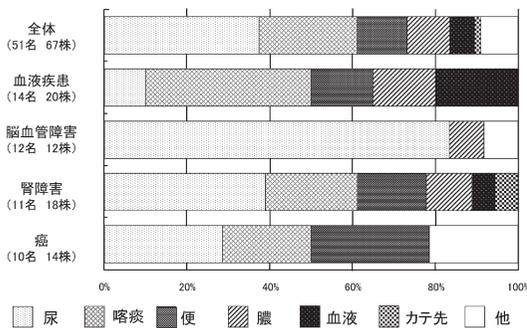


Fig. 3 MDRP の基礎疾患別にみた由来材料

2. MRAB の分離状況

2001年に1名から分離した後は認めていない。患者は25歳、男性で、急性骨髄性白血病の同種骨髄移植後(入院22日目)に尿から分離された。分離株はMBLを産生(IMP-1型をコードする *bla<sub>IMP</sub>* 遺伝子を保有)し、薬剤感受性はAZTとSBT/CPZが中間の他は全て耐性であった。

考 察

MDRP, MRABはカルバペネム、アミノ配糖体、フルオロキノロンの3系統の抗菌薬に耐性化したもので、院内感染が発生すると抗菌薬が全く効かないことから多くの死者を出し、収束に難渋する事例が散見される<sup>2)~5)</sup>。最近ではMRABの院内感染事例がマスコミで大きく取り上げられ社会問題となった。多剤耐性化の要因として注目されるのがカルバ

ペネム系薬剤を不活化する CPM で、代表的なものとして最も危険とされる Ambler 分類のクラス B に属する MBL (遺伝子型は IMP-1, 2, VIM-2, 最近発見された NDM-1 等), クラス D の OXA 型 CPM (oxa-21, 23 等), クラス A の *Klebsiella pneumoniae* CPM が知られる<sup>1),6)</sup>。これらはプラスミドを介して伝播されることから、菌種を越えた拡散が危惧されている。今回、我々は院内感染防止対策の一環として当院における MDRP, MRAB の CPM の中でも MBL 産生性, 薬剤感受性, 患者背景について検討した。

MDRP 分離患者の年次推移は Fig. 1 に示したように増減はあるものの 10 名/年以下で推移し、院内感染を思わせる成績は認めなかった。MBL 産生株分離患者の比率は 43.1% で MBL がカルバペネム系薬剤の耐性化に深く関わっていた。MDRP のカルバペネム耐性化には抗菌薬使用に関係なく MBL 産生遺伝子の獲得で高度耐性化するものと、抗菌薬使用により D2 ポーリンが減少・欠損することで低度耐性化するものが知られている。そこで、MBL 産生群と非産生群 (D2 ポーリン欠損) に分けて感受性率を検討した。Fig. 2 に示したように、PIPC, AZT では MBL 産生群が 70.4%, 18.5% と非産生群の 32.5%, 7.5% に比べ高く、CAZ は MBL 産生群の 0% に比べ非産生群が 80% と高かった。また、TOB は両者とも数%の感受性率を示していた。MDRP の治療において荒岡ら<sup>7),8)</sup>はプレイクポイント・チェッカーボード・プレートを用いた相乗効果の解析を行い、AZT と AMK, AZT と arbekacin の併用に期待が持てるとしている。我々の成績でも MBL 産生群で PIPC, AZT, TOB に、非産生群では PIPC, CAZ, TOB に感受性が残っていることから、PIPC もしくは AZT (増量) と TOB の併用、さらに、非産生群では CAZ (増量) と TOB の併用に効果が得られる可能性を示唆するものであった。

MDRP の分離時期は入院患者 49 名のうち 14 名が入院後 2 日以内に分離、3 日以降の 35 名においても 13 名が MDRP 分離日まで細菌検査未実施であったことから、当院では MDRP の持込み患者が

半数近くを占めていることが推測される。MDRP 分離までの日数をみると MBL 産生株分離患者が平均 29.3 日、非産生株分離患者が 42.3 日で、有意差はないものの非産生株の方が分離までに時間を要していた。これは MBL 非産生株が入院後、時間をかけて耐性を獲得して行くこと、あるいは菌交代によって出現してくるためではないかと考えられた。

MDRP 由来材料の検討では Fig. 3 に示したように、尿が 37.3% と最も多く、MBL 産生株の占める割合も 60% と他の由来材料 (膿, 喀痰, 便) に比べ高率であった。分離患者背景は尿カテ留置中の分離が 25 名中 13 名 (52.0%), 尿カテ抜去後が 3 名 (12.0%) であったことから、MDRP の感染には尿カテ留置が深く関与しているものと考えられる。基礎疾患別由来材料の検討では MDRP 分離患者の基礎疾患は血液疾患患者が 14 名と最も多く、分離時期は 11 名 (78.6%) が化学療法後、造血幹細胞移植後、免疫抑制療法後であった。また、由来材料が喀痰 40%, 血液 20% の順に多かったことから、血液疾患患者では造血幹細胞移植後や免疫抑制療法後の極端に抵抗力の落ちた時期に肺炎、敗血症の起炎菌として分離される傾向にあると考えられた。以上のことから MDRP の院内感染防止対策のポイントは、尿カテ留置患者の泌尿器系材料や血液疾患患者の治療後の抵抗力が落ちた時期の呼吸器系材料の取扱いにあると言える。

一方、MRAB は 2001 年に 1 名から MBL 産生株 (IMP-1 型) を分離した後は認めていない。MRAB の産生する CPM は日本では MBL が深く関与してきたが<sup>9)~11)</sup>、韓国では OXA-型 CPM が主流で、これが世界各地に蔓延し始めている<sup>12),13)</sup>。2008 年には福岡大学で韓国の病院から転入した患者の人工呼吸器を介した院内感染が発生し<sup>5)</sup>、帝京大学の院内感染事例も OXA-型 CPM 産生 MRAB が原因菌であった。当院では OXA-型 CPM 産生 MRAB の分離はないが、日本での OXA-型 CPM 産生 MRAB の流行が始まったと考えられる。OXA-型 CPM の検出法には遺伝子検査しかないため、今後、耐性遺伝子検査可能施設との連携を構築するとともに、より嚴重な耐性菌サーベイランスの必要性を再認識し

た。

現在、韓国でアウトブレイクした OXA 型 CPM 産生 MRAB, インドでの NDM-1 型 MBL 産生 *Escherichia coli*, ニューヨークでの CPM 産生 *K. pneumoniae*, といった多剤耐性菌が国内においても猛威を振るい始めている<sup>5),6)</sup>。また、これらに代わる耐性菌もいつ出現してくるか分からない。一方、各医療機関では在院日数の低下に伴い病院, 医療関連施設間の患者の往来頻度が高くなり, 耐性菌を持つ機会も多くなったと考えられる。このような状況下では各施設のみでの感染対策では不十分で, 各施設が連携した感染対策の向上が極めて重要となる。我々, 微生物検査技師は愛媛県下各施設の耐性菌検出情報を積極的に共有しあい, 迅速に耐性菌保菌患者を封じ込めるための情報作りを急がなくてはならない。

## 結 語

MDRP 分離患者 51 名 (67 株) および MRAB 分離患者 1 名 (1 株) を対象に MBL 産生性, 年次推移, 薬剤感受性, 患者背景について検討し, 以下の結論を得た。

- 1) MDRP の MBL 産生株は 51 名中 22 名から分離された。年次推移は 2001 年に初めて分離し, 年間 10 名以下で推移した。
- 2) MDRP の薬剤感受性は MBL 産生群では PIPC が 70.4% と感受性率が高く, AZT が 18.5%, TOB が 3.7% であった。MBL 非産生群では CAZ が 80% と高く, PIPC が 32.5% であった。
- 3) MDRP の分離時期は 51 名中 2 名が外来, 14 名が入院後 2 日以内, 35 名は入院後 3 日以降であった。
- 4) MDRP の由来材料は尿が 37.3% と最も多く, MBL 産生株の占める割合も尿が 60% と他の材料に比べ高率であった。
- 5) 尿から MDRP を分離した患者は尿カテ留置中が 25 名中 13 名, 尿カテ抜去後が 3 名であった。
- 6) MDRP 分離患者の基礎疾患は血液疾患患者が 14 名と最も多く, 分離時期は 11 名が化学療法後, 造血幹細胞移植後, 免疫抑制療法後であった。
- 7) MRAB は 2001 年に急性骨髄性白血病患者の同種骨髄移植後に尿から分離された。
- 8) MRAB は MBL を産生し, 薬剤感受性は AZT と SBT/CPZ に中間を示した以外は耐性であった。

## 文 献

- 1) 石井良和：グラム陰性菌における  $\beta$ -ラクタマーゼ。臨床検査 **54**：473-480, 2010.
- 2) 浅利誠志, 豊川真弘：MDRP の院内感染事例と対策(1)。臨床と微生物 **34**：119-123, 2007.
- 3) 飯沼由嗣：MDRP の院内感染事例と対策(2)。臨床と微生物 **34**：125-129, 2007.
- 4) 杉原重喜ほか：多剤耐性緑膿菌病院感染と検査部の活動。日本臨床微生物学雑誌 **16**：179, 2006.
- 5) 大城知子, 高田 徹：カルバペネム耐性アシネトバクター・バウマニ。INFECTION CONTROL **18**：1034-1040, 2009.
- 6) 杉山知代ほか：KPC 産生肺炎桿菌。INFECTION CONTROL **18**：1026-1033, 2009.
- 7) 荒岡秀樹ほか：多剤耐性緑膿菌に対するアズトレオナムとアミノグリコシド系抗菌薬の併用：多施設共同研究。感染症学雑誌 **84**：228, 2010.
- 8) 館田一博：MDRP に対する抗菌薬併用療法感受性検査。臨床と微生物 **34**：89-93, 2007.
- 9) 持丸朋美ほか：1 大学病院で 4 年間に分離された IMP-19 および IMP-1 型メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter baumannii* の薬剤感受性と分子疫学的解析。日本臨床微生物学雑誌 **20**：28-37, 2010.
- 10) 三澤成毅ほか：メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌の分離状況 (2004~2005)。感染症学雑誌 **80**：608, 2006.
- 11) 杉野安輝ほか：カルバペネム耐性 *Pseudomonas aeruginosa* および *Acinetobacter spp.* における薬剤感受性とカルバペネム耐性機序の検討。感染症学雑誌 **75**：662-670, 2001.
- 12) Lee K. *et al.*：Wide dissemination of OXA-type carbapenemases in clinical *Acinetobacter spp.* isolates from South Korea. Int. J. Antimicrob. Agents., **33**：520-524, 2009.
- 13) 石井良和ほか：本邦で分離されたイミペネム耐性 *Acinetobacter baumannii* が保有する耐性因子に関する検討。感染症学雑誌 **83**：577-578, 2009.

## Trends in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in Matsuyama Red Cross Hospital

Masataka NISHIYAMA\*, Satoko TANIMATSU, Satoshi TAKAHASHI, Masami FUKUNAGA,  
Yasunori MORIYAMA, Masako YOSHIMURA, Yasuko SEIKE and Eisuke YOKOTA

\*Department of Medical Laboratory, Matsuyama Red Cross Hospital

We examined the metallo- $\beta$ -lactamase (MBL) production, the annual changes, the antimicrobial susceptibility, and the patient characteristics of 51 patients (67 strains) from whom multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) was isolated, and 1 patient (1 strain) from whom multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MRAB) was isolated. Of the 51 patients from whom MDRP was isolated, 22 (43.1%) exhibited MBL-producing strains. In this study, MDRP was first isolated in 2001, and thereafter isolated from less than 10 patients a year. 70.4% of the MBL-producing MDRP strains were found to be susceptible to PIPC, 18.5% to AZT, and 3.7% to TOB. Among the strains not producing MBL, 80.8% were found to be susceptible to CAZ and 32.5% to PIPC. For 35 patients, MDRP was isolated on the third hospital day; for 14 patients it was isolated on the second day; and 2 were outpatients. Urine occupied 37.3% in the material which isolated MDRP. 60% of the strains which isolated from the urine were MBL-producing. Urethral catheterization patients were 13 people, in 25 patients who isolated MDRP from the urine. 3 patients pulled out their catheters. Of the patients from whom MDRP was isolated, 14 were found to have had a hematologic disease. Many MDRP were isolated after the chemotherapy, after the haematopoietic stem cell transplantation and the immunosuppressant therapy.

MRAB was isolated from only 1 patient, in 2001. The patient had been hospitalized for acute myelocytic leukemia, and the MRAB strain was isolated from the urine after an allogenic bone marrow transplantation (hospital day 22). The strain was MBL-producing, and was intermediately susceptible to AZT and SBT/CPZ, and resistant to other antibiotics.