



# ONE POINT MEMO No.206

## 臨床検査ひとくちメモ

Q

多剤耐性アシネトバクター属菌の検出が検査室での課題となっています。本菌の耐性機構と耐性菌検出法について教えてください。

A

東邦大学医学部微生物・感染症学講座  
石井良和

### I. アシネトバクター属菌の特徴

アシネトバクター属菌は、ガンマプロテオバクテリア綱、シュードモナス目、モラキセラ科に属するブドウ糖非発酵グラム陰性短桿菌である。2008年の時点で18属、23 genomic speciesに分類されていた。アシネトバクター属菌は土壌あるいは水中などの環境に生息しているが、健康なヒトの皮膚あるいは院内環境にも生息している。湿潤環境を好み低温環境下でも増殖可能であるが、乾燥した環境でも長期間生残することが特徴である。

ヒトに病原性を示す菌種としては、*Acinetobacter baumannii*がよく知られているが、本菌種は、ヒトに感染症を起こす可能性がある *Acinetobacter calcoaceticus* や *Acinetobacter genospecies 3*、*Acinetobacter genospecies 13TU* などとの鑑別が難しい<sup>1,2)</sup>。アシネトバクター属菌は病院内における院内感染、日和見感染を起こすことが知られており、肺炎、敗血症、尿路感染症、腹腔内感染症、髄膜炎、創傷・火傷の感染などがある<sup>3)</sup>。*A. baumannii*が諸外国で

問題視されているのは、集中治療室で発生する人工呼吸器関連肺炎 (Ventilator-associated pneumonia : VAP) である。Garnacho-Montero らは41エピソードの *A. baumannii* が原因の VAP の死亡率は58.5%であり、他菌種による VAP の死亡率が47.5%であったのと比較して有意差はないものの、死亡率が高い傾向があると報告している<sup>4)</sup>。現時点まで *A. baumannii* の病原性因子は明確ではないが、莢膜やエクソポリサッカライド、上皮細胞表層におけるバイオフィルムの産生による自然免疫回避システム、さらに鉄獲得システム保有による低鉄濃度環境における生育能力などが病原因子としてあげられている。

アシネトバクター属菌感染症は、病院内で発生する感染症として注目されているが、市中における感染症も散見され、特に熱帯や亜熱帯地域で市中肺炎の発生頻度が高いとされている<sup>5)</sup>。市中肺炎のリスク因子として、アルコール依存や喫煙、慢性閉塞性肺疾患、糖尿病、肺がん、腎不全、肝硬変などがあげられており、このような患者において感染症が発症した場合の死亡率は高いとされている。さらに、ア

フガニスタンやイラクからの帰還兵に発症した *A. baumannii* による集団感染が報告されている<sup>6)</sup>。

アシネトバクター属菌最大の特徴として、肺炎球菌と同様、形質転換による外来遺伝子の染色体内への取り込みシステムを有している。すなわち、アシネトバクター属菌は自然界で遺伝子の水平伝播を繰り返しながら、環境に適応することができる。この特徴を有することからアシネトバクター属菌は、抗菌薬存在下を含むあらゆる環境において生息する能力を獲得したと考えられる<sup>3)</sup>。

## II. 多剤耐性アシネトバクター属菌とは

多剤耐性アシネトバクター属菌に対する明確な国際的な基準は定められていない。Falagas らは 2000～2007 年までに報告された論文を調査し、それらにおける *A. baumannii* と緑膿菌に対する多剤耐性と汎耐性の定義を論じている<sup>7)</sup>。*A. baumannii* と緑膿菌において多剤耐性とは、「アミノ配糖体、抗緑膿菌用ペニシリン、カルバペネム、セファロsporin およびキノロンに耐性を示す菌株」と定義しているものが多く、これらの抗菌薬に加えてポリミキシン B やコリスチンに耐性を示す緑膿菌やスルバクタムやミノサイクリン、ドキシサイクリン、チゲサイクリンに耐性を示すアシネトバクター属菌を汎耐性と定義した論文が多いようである。一方、Abbo らは多剤耐性 *A. baumannii* の定義として、ピペラシリン/タゾバクタム、セフェピム、セフトジジム、アズトレオナム、シプロフロキサシン、ゲンタミシンおよびトブラマイシンに耐性を示す菌株としている<sup>8)</sup>。彼らの定義では、アミカシン、アンピシリン/スルバクタム、イミペネム、メロペネムおよびミノサイクリンに感性を示す株でも多剤耐性株となる可能性があることに注意が必要である。

感染症法で、多剤耐性アシネトバクター属菌感染症は 2011 年 1 月に感染症法の 5 類感染症に追加され、その報告基準が定められた (表 2)。多剤耐性アシネトバクターの報告基準は多剤耐性緑膿菌のものと同一である。すなわちイミペネム、アミカシンおよびシプロフロキサシンの MIC が 216  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、232  $\mu\text{g}/\text{mL}$  および 24  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の菌株による感染症が発症した場合は、定点となる医療施設は報告しなければならない。上述の多剤耐性および汎耐性の基準と

感染症法の報告基準の意味は異なることを理解しなければならない。臨床的ブレイクポイントは合理的理由があれば変更され、疫学的カットオフは耐性因子の有無など科学的根拠に基づいていることから変更されることはない。一方、感染症法の報告基準は臨床的效果を考慮しているわけではないし、科学的根拠に基づいているわけでもないことを覚えておかなければならない。

## III. アシネトバクター属菌における耐性機構

アシネトバクター属菌は、グラム陰性菌で報告されているほぼすべての耐性機構を備えている (表 1)。すなわち、 $\beta$  ラクタマーゼではクラス A からクラス D までのすべての酵素が、アミノ配糖体系薬修飾酵素もアセチル化、リン酸化、アデニル化という酵素が報告されている。アミノ配糖体系薬耐性に関しては、すべての同系統の抗菌薬に高度耐性を付与する ArmA という 16S rRNA のメチル化酵素も報告されている。また、強力な排出システムである AdeABC と呼ばれる RND-型ポンプもその染色体上に備えており、アミノ配糖体系薬やキノロン系薬に対して容易に低感受性化する能力を備えている<sup>3)</sup>。さらに、緑膿菌の OprD に類似する塩基性アミノ酸の透過孔となる外膜タンパク質の量的変化によりカルバペネム系薬に低感受性あるいは耐性を示すようになる。

アシネトバクター属菌における耐性因子獲得法の特徴として、上述の形質転換があげられる。すなわち、アシネトバクター属菌は自身の染色体に外部からの遺伝子を取り込む性質を有している。耐性因子もこの性質を利用して染色体上に取り込んでいる。緑膿菌では、クラス B に属するカルバペネム系薬分解酵素やアミノ配糖体系薬修飾酵素はプラスミド上にその遺伝子が存在する。しかし、アシネトバクター属菌においては緑膿菌と同一の遺伝子構造を染色体上に保有していることが知られている<sup>3)</sup>。アシネトバクター属菌は、染色体上に存在する遺伝子で抗菌薬に対応する能力を有しているのみならず、周囲に生息する耐性菌からその遺伝子を獲得しながら環境適応することを認識すべきである。

表1 アシネトバクテリヤ属菌の主要抗菌薬耐性因子

| 耐性因子                         | 耐性抗菌薬                     | 分類あるいは特徴                 |
|------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <u>βラクタム系薬加水分解酵素</u>         |                           |                          |
| ADC-1, -3, -4, -6, -7        | セファロスポリン                  | 染色体性クラスC βラクタマーゼ         |
| TEM-1, -2                    | ペニシリン                     | 狭域クラスA βラクタマーゼ           |
| CARB-5                       | カルベニシリン                   | 狭域クラスA βラクタマーゼ           |
| SCO                          | ペニシリン                     | 狭域クラスA βラクタマーゼ           |
| TEM-92, SHV-12, PER-1, VEB-1 | ペニシリン、第三世代セファロスポリン、モノバクタム | 基質拡張型βラクタマーゼ (ESBL)      |
| CTX-M-2                      | ペニシリン、第三世代セファロスポリン、モノバクタム | 基質拡張型βラクタマーゼ (ESBL)      |
| OXA-21, -37                  | オキサシリン                    | 狭域クラスD βラクタマーゼ           |
| OXA-51-like                  | 全βラクタム                    | クラスD カルバペネマーゼ            |
| OXA-23-like                  | 全βラクタム                    | クラスD カルバペネマーゼ            |
| OXA-24-like                  | 全βラクタム                    | クラスD カルバペネマーゼ            |
| OXA-58                       | 全βラクタム                    | クラスD カルバペネマーゼ            |
| IMP-1, -2, -4, -5, -6, -11   | モノバクタムを除くβラクタム            | クラスB カルバペネマーゼ            |
| VIM-2, SIM-1                 | モノバクタムを除くβラクタム            | クラスB カルバペネマーゼ            |
| <u>アミノ配糖体系薬修飾酵素</u>          |                           |                          |
| AAC (3)-Ia                   | ゲンタミシン                    | アセチル化酵素                  |
| AAC (3)-Iia                  | ゲンタミシン、トブラマイシン            | アセチル化酵素                  |
| AAC (6')-Ib                  | トブラマイシン、アミカシン             | アセチル化酵素                  |
| AAC (6')-Ih, AAC (6')-Iad    | トブラマイシン、アミカシン             | アセチル化酵素                  |
| APH (3')-Ia                  | カナマイシン                    | 狭域リン酸化酵素                 |
| APH (3')-VI                  | アミカシン、カナマイシン              | リン酸化酵素                   |
| ANT (2'')-Ia                 | ゲンタミシン、トブラマイシン            | アデニリル化酵素                 |
| ANT (3'')-Ia                 | ストレプトマイシン                 | アデニリル化酵素                 |
| <u>クロラムフェニコール修飾酵素</u>        |                           |                          |
| CAT1                         | クロラムフェニコール                | アセチル化酵素                  |
| <u>標的変化</u>                  |                           |                          |
| GyrA                         | キノロン                      | DNA ジャイレースサブユニットAのアミノ酸置換 |
| ParC                         | キノロン                      | トポイソメラーゼIVサブユニットAのアミノ酸置換 |
| ArmA                         | アミノ配糖体                    | 16S ribosomal RNAのメチル化   |
| <u>多剤排出機構の亢進</u>             |                           |                          |
| AdeABC                       | アミノ配糖体、キノロン               | 染色体性 RND-型ポンプ            |
| AbeM                         | キノロン                      | 染色体性 MATE-型ポンプ           |
| Tet (A)                      | テトラサイクリン                  | 国際クローン1に見られる             |
| Tet (B)                      | ミノマイシン、テトラサイクリン           | 国際クローン2に見られる             |
| <u>外膜タンパク質の変化 (OMP)</u>      |                           |                          |
| CarO                         | カルバペネム                    | 29-kDa OMP               |
| 33 ~ 36-kDaの外膜タンパク質          | カルバペネム                    | 緑膿菌の OprD 様タンパク質         |

#### IV. 多剤耐性アシネトバクテリヤ属菌検出法

多剤耐性アシネトバクテリヤ属菌は、感染症法の基準に従い検出し、報告すべきである。すなわち、イミペネムに $\geq 16\mu\text{g/mL}$ 、アミカシンに $\geq 32\mu\text{g/mL}$ 、シプロフロキサシンに $\geq 4\mu\text{g/mL}$ の菌株が多剤耐性アシネトバクテリヤ属菌となる(表2)。なお、アシネトバクテリヤ属菌はイミペネムよりメロペネムの感受性が1~2管低いことにも留意すべきである。

臨床的効果が加味されたブレイクポイントによる耐性菌の検出を目的とするのであれば、現時点では CLSI<sup>9)</sup> や European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) のドキュメント<sup>10)</sup>

に従うべきであろう(表2)。EUCASTのアシネトバクテリヤ属菌に対するブレイクポイントは、イミペネムに $\geq 16\mu\text{g/mL}$ 、アミカシンに $\geq 32\mu\text{g/mL}$ 、シプロフロキサシンに $\geq 2\mu\text{g/mL}$ を耐性と定義しており、アミカシンとシプロフロキサシンにおいて1管ずつ低く設定されている(表2)。

一方、耐性因子を保有する菌株を検出するのであれば、別のカットオフを使わなければならない。アシネトバクテリヤ属菌のカルバペネム系薬耐性因子としてクラスDに属するカルバペネマーゼが知られている<sup>11)</sup>。このカルバペネマーゼを発現するアシネトバクテリヤ属菌のイミペネムあるいはメロペネムに対する最小発育阻止濃度 (Minimum inhibitory concentration : MIC) は決して高くない。私どもの

表2 アシネトバクテリア属菌に対する各種ブレイクポイントおよび感染症法の報告基準

| Clinical and Laboratory Standards Institute |                              |      |           |            |       |           |
|---|------------------------------|------|-----------|------------|-------|-----------|
|   | 微量液体希釈法 ( $\mu\text{g/mL}$ ) |      |           | ディスク法 (mm) |       |           |
|   | 感性                           | 中間耐性 | 耐性        | 耐性         | 中間耐性  | 感性        |
| イミペネム                                       | $\leq 4$                     | 8    | $\geq 16$ | $\leq 13$  | 14-15 | $\geq 16$ |
| アミカシン                                       | $\leq 16$                    | 32   | $\geq 64$ | $\leq 14$  | 15-16 | $\geq 17$ |
| シプロフロキサシン                                   | $\leq 2$                     | 4    | $\geq 8$  | $\leq 15$  | 16-20 | $\geq 21$ |

  

| European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |                              |      |           |            |       |           |
|--|------------------------------|------|-----------|------------|-------|-----------|
|  | 微量液体希釈法 ( $\mu\text{g/mL}$ ) |      |           | ディスク法 (mm) |       |           |
|  | 感性                           | 中間耐性 | 耐性        | 耐性         | 中間耐性  | 感性        |
| イミペネム  | $\leq 2$                     | 4-8  | $\geq 16$ | $\leq 14$  | 15-20 | $\geq 21$ |
| アミカシン  | $\leq 8$                     | 16   | $\geq 32$ | $\leq 14$  | 15-17 | $\geq 18$ |
| シプロフロキサシン  | $\leq 1$                     |      | $\geq 2$  | $\leq 21$  |       | $\geq 20$ |

  

| 感染症法による多剤耐性緑膿菌の報告基準 |                              |            |
|---------------------|------------------------------|------------|
|                     | 微量液体希釈法 ( $\mu\text{g/mL}$ ) | ディスク法 (mm) |
| イミペネム               | $\geq 16$                    | $\leq 13$  |
| アミカシン               | $\geq 32$                    | $\leq 14$  |
| シプロフロキサシン           | $\geq 4$                     | $\leq 15$  |

経験では、メロペネムの MIC 値が  $1\mu\text{g/mL}$  のアシネトバクテリア属菌でもクラス D に属するカルバペネマーゼを発現していることを確認している (未発表)。したがって、カルバペネム系薬耐性因子を検出することを目的とするのであれば、メロペネムなどに対しては  $1\mu\text{g/mL}$ 、イミペネムではそれ未満の MIC 値を示す菌株を検出しなければならない。

## V. 多剤耐性アシネトバクテリア属菌のクローン

多剤耐性アシネトバクテリア属菌には、世界的拡散をしている4つのクローン (国際クローン1~3とST15) が存在する<sup>12)</sup>。このクローンの内、国際クローン2に属するものがイラクやアフガニスタンからアメリカやイギリスに持ち込まれたと考えられている<sup>13)</sup>。本邦で分離されたアシネトバクテリア属菌の中にも国際クローン2と関連性がある菌株が散見される。集団感染を起こす多剤耐性アシネトバクテリア属菌は、これら4種類のクローンが主体となる<sup>12)</sup>。今後、国際クローン2の本邦における動向を注視しながら、他のクローンや日本に存在する固有のアシネトバクテリア属菌クローンの多剤耐性化にも注意しなければならない。

## 文 献

1) Ruiz A, Poblet M, Mas A, Guillaumon JM : Identification of

acetic acid bacteria by RFLP of PCR-amplified 16S rDNA and 16S-23S rDNA intergenic spacer. *Int J Syst Evol Microbiol* 50 Pt 6 : 1981-1987, 2000.

- 2) Turton JF, Shah J, Ozongwu C, Pike R : Incidence of *Acinetobacter* species other than *A. baumannii* among clinical isolates of *Acinetobacter* : evidence for emerging species. *J Clin Microbiol* 48 : 1445-1449, 2010.
- 3) Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H : An increasing threat in hospitals : multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* 5 : 939-951, 2007.
- 4) Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernandez-Hinojosa E, Aldabo-Pallas T, Cayuela A, et al.: *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia : epidemiological and clinical findings. *Intensive Care Med* 31 : 649-655, 2005.
- 5) Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, et al.: Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest* 129 : 102-109, 2006.
- 6) Davis KA, Moran KA, McAllister CK, Gray PJ : Multidrug-resistant *Acinetobacter* extremity infections in soldiers. *Emerg Infect Dis* 11 : 1218-1224, 2005.
- 7) Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, Alexiou VG, Matthaiou DK, et al.: Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections : a retrospective cohort study of 258 patients. *Int J Antimicrob Agents* 35 : 194-199, 2010.
- 8) Abbo A, Carmeli Y, Navon-Venezia S, Siegman-Igra Y, Schwaber MJ : Impact of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* on clinical outcomes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26 : 793-800, 2007.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (2010) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Twentieth Informational Supplement. Wayne, Pennsylvania

- nia, USA : CLSI.
- 10) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2010) Clinical Breakpoints-Bacteria (v 1.1). [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/). European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
  - 11) Queenan AM, Bush K : Carbapenemases : the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev* **20** : 440-458, 2007.
  - 12) Diancourt L, Passet V, Nemeč A, Dijkshoorn L, Brisse S : The population structure of *Acinetobacter baumannii* : expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PLoS One* **5** : e10034, 2010.
  - 13) Livermore DM, Woodford N : The  $\beta$ -lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol* **14** : 413-420, 2006.