

【抗菌薬感受性報告】

東北地方で臨床材料から分離された各種病原細菌に対するチゲサイクリンの抗菌力

早川 幸子¹⁾・藤村 茂^{1,4)}・渡部 祐司²⁾・古川恵美子¹⁾
河村 真人¹⁾・宇野 浩一³⁾・佐藤 寿夫³⁾・渡辺 彰⁴⁾

¹⁾ 東北薬科大学大学院薬学研究科臨床感染症学教室*

²⁾ 東北薬科大学病院中央検査部細菌検査室

³⁾ 日本微生物研究所

⁴⁾ 東北大学加齢医学研究所抗感染症薬開発研究部門

(平成 27 年 6 月 9 日受付・平成 27 年 8 月 27 日受理)

チゲサイクリンは 2012 年 9 月に本邦で臨床使用されるようになった。その適応菌種は、多剤耐性アシネトバクター属菌や NDM-1 産生大腸菌など、2 系統以上の抗菌薬に耐性を示すグラム陰性桿菌である。本剤は、欧米ですでに臨床使用されていたが、わが国で緊急に導入されたため、本邦の各種臨床分離株に対する薬剤感受性の成績が少なかった。今回、東北地方で臨床分離された 270 株に対するチゲサイクリンの抗菌力を調査した。*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Acinetobacter baumannii* に対する感受性率は、欧米の成績とほぼ同様で 100% であった。また、ESBL 産生菌および MRSA に対しても、それぞれ 83.1%, 93.3% の感受性率を示した。しかしながら、バンコマイシン (VCM) の負荷により選択された VCM の MIC = 2 μ g/mL の MRSA では、50% の株がチゲサイクリンに耐性を示した。

Key words: tigecycline, antimicrobial susceptibility, ESBL, MRSA, *Acinetobacter* spp.

グリシルサイクリン系薬のチゲサイクリンは、テトラサイクリン系薬と基本骨格は同様であるが、化学構造上の特徴として、ミノサイクリンの 9 位にグリシルアミド基が結合している。本剤の作用機序は、細菌の 30S リボソームサブユニット中 16Sr-RNA の H34 残基にグリシルアミド基が結合し、タンパク合成を抑制するものである。テトラサイクリンやミノサイクリンは、この H34 残基との結合がみられないため、テトラサイクリン耐性菌による交叉耐性を獲得しにくいことが指摘されている。さらに、extended spectrum β -lactamase (ESBL)、メタロ- β -ラクタマーゼ、AmpC 型 β -ラクタマーゼによる薬剤の不活化、およびテトラサイクリン排出トランスポーター等の発現による耐性化の影響も受けないと報告されている¹⁾。

欧米では complicated skin and skin structure infections および complicated intra-abdominal infection²⁾ に対する治療薬の一つとして臨床使用されているが、わが国では、深在性皮膚感染症、外傷・熱傷および手術創等の二次感染、腹腔内膿瘍や胆嚢炎の適応症が承認され、その適応菌種は、 β -ラクタム系、フルオロキノロン系、アミノグリコシド系のうち 2 系統以上に耐性を示す *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. となっている。しかしながら、本

邦の臨床分離株における薬剤感受性の成績がきわめて少ないことから、本検討において東北地方で臨床材料から分離された各種病原細菌に対するチゲサイクリンの抗菌力を調査した。

使用菌株は、2012 年 10 月から 2014 年 10 月に東北地方の 22 医療機関より収集した各種臨床分離株 270 株とした。菌種の内訳は、MRSA 30 株、*E. coli* 143 株 (ESBL 産生株 47 株を含む)、*Acinetobacter baumannii* 49 株、ESBL 産生の *Proteus mirabilis* 13 株、同 *Klebsiella pneumoniae* 4 株、同 *Klebsiella oxytoca* 1 株のほか *Pseudomonas aeruginosa* 30 株 (多剤耐性株 20 株含む) である。ESBL 産生株の確認は米国 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23³⁾ に準拠して実施した。すなわち、スクリーニングを実施し、セフトジジム/クラブラン酸を用いたディスク拡散法による確認試験陽性のものを、ESBL 産生菌と判定した。*A. baumannii* は、グラム染色、Triple Sugar Iron (TSI) 寒天培地による非発酵菌の確認、オキシダーゼテスト陰性によるスクリーニング試験の後、BD BBLCRYSTAL E/NF (日本 BD) を用いて 35°C、18 時間培養後、付属の解析ソフトにより同定した。

また、前述の MRSA 30 株は、2012 年 11 月の 1 か月間に 14 施設より分離された株のなかから、VCM の MIC = 0.5 μ g/mL, 1 μ g/mL, 2 μ g/mL を示す株をそれぞれ 10

*宮城県仙台市宮城野区福室 1-12-1

Table 1. *In vitro* susceptibility of 270 clinical isolates to tigecycline in the Tohoku area, Japan

Organism (no.)	MIC* range	MIC* ₅₀	MIC* ₈₀	MIC* ₉₀	% S	% I	% R
MRSA (30)	≤0.06-1	0.12	0.25	0.5	93.3	6.7	0.0
<i>E. coli</i> (96)	≤0.06-0.5	0.25	0.25	0.25	100.0	0.0	0.0
<i>A. baumannii</i> (40)	≤0.06-1	0.12	0.25	0.25	100.0	0.0	0.0
DR <i>A. baumannii</i> ** (9)	0.12-1	0.25	0.25	1	100.0	0.0	0.0
ESBL <i>E. coli</i> (47)	≤0.06-2	0.5	2	2	100.0	0.0	0.0
ESBL <i>Klebsiella</i> spp. (5)	0.25-2	1	1	—	100.0	0.0	0.0
ESBL <i>P. mirabilis</i> (13)	1-16	4	8	8	15.4	30.8	53.8
<i>P. aeruginosa</i> (10)	8-64	16	32	64	0.0	0.0	100.0
MDRP (20)	4->64	32	64	64	0.0	0.0	100.0

*MIC = μg/mL

** non-susceptible isolates to imipenem and ciprofloxacin

Table 2. MIC change of tigecycline against *in vitro* selected-MRSA isolates with vancomycin MIC = 2 μg/mL

MRSA*	MIC (μg/mL)	
	Vancomycin (C → S)**	Tigecycline (C → S)**
TH-1	0.5 → 2	0.25 → 0.5
TH-4	0.5 → 2	0.5 → 1
TH-8	1 → 2	<0.06 → 0.12
TH-10	1 → 2	0.12 → 0.12
TH-15	1 → 2	0.25 → 1
TH-17	0.5 → 2	0.25 → 1
TH-19	1 → 2	0.12 → 1
TH-27	1 → 2	0.12 → 0.25

*The initial MIC of vancomycin against 8 clinical isolates were ≤1 μg/mL.

Each *in vitro* selected isolate was acquired by vancomycin-mutant selection window from clinical isolate, and each MIC was 2 μg/mL.** C: clinical isolates, S: *in vitro* selected isolates

株ずつ選択した。このほか、臨床分離 MRSA 株 8 株 (TH-1, 4, 8, 10, 15, 17, 19, 27) と、この 8 株に対し、*in vitro* でバンコマイシン (VCM) を負荷¹⁾させ、VCM の MIC = 2 μg/mL を示した 8 株の計 16 株に対するチゲサイクリンの抗菌力も調査した。

チゲサイクリン原末は Pfizer (NY) 社より分与いただいた。また、チゲサイクリンの MIC は、フローズンプレートを用いた微量液体希釈法により測定した。チゲサイクリンの薬剤感受性測定に用いる培地は、酸素による分解を防ぐため作成後 12 時間以内に使用するが、速やかに凍結すればその使用が認められる³⁾ことから、フローズンプレート (栄研化学) を融解後、速やかに測定に用いた。チゲサイクリンのブレイクポイント MIC は米国 FDA の基準に準拠し、*Enterobacteriaceae* S : ≤2 μg/mL R : ≥8 μg/mL、*Staphylococcus aureus* S : ≤0.5 μg/mL とした⁵⁾。*A. baumannii* については、*Enterobacteriaceae* の基準を参照した。本研究は、東北薬科大学病院および同薬学部倫理委員会の承認を経て実施された。

東北地方の臨床分離株に対するチゲサイクリンの薬剤感受性を Table 1 に示す。*E. coli* に対する抗菌力は MIC

range : ≤0.06~0.5 μg/mL、MIC₅₀ 0.25 μg/mL、MIC₉₀ 0.25 μg/mL であった。ESBL 産生 *E. coli* では MIC range : ≤0.06~2 μg/mL、MIC₅₀ 0.5 μg/mL、MIC₉₀ 2 μg/mL であり、ESBL 非産生菌に比し、1~3 管高値を示したが、すべてチゲサイクリンに感受性を示した。

A. baumannii に対しては、MIC range : ≤0.06~1 μg/mL、MIC₅₀ 0.12 μg/mL、MIC₉₀ 0.25 μg/mL であり、イミペネムおよびシプロフロキサシンの 2 剤耐性株に対し、MIC range : 0.12~1 μg/mL、MIC₅₀ 0.25 μg/mL、MIC₉₀ 1 μg/mL とすべて感受性を示した。チゲサイクリンは ESBL 産生 *Klebsiella* spp. に対しすべて感受性を示したが、ESBL 産生 *P. mirabilis* では MIC range : 1~16 μg/mL、MIC₅₀ 4 μg/mL、MIC₉₀ 8 μg/mL、であり 53.8% が耐性株であった。また、multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) を含む *P. aeruginosa* に対し、すべて耐性を示した。

一方、本邦では適応外であるが、米国および欧州で承認されている MRSA に対する抗菌力は、MIC range : ≤0.06~1 μg/mL、MIC₅₀ 0.12 μg/mL、MIC₉₀ 0.5 μg/mL であり、臨床分離後に VCM の MIC = 2 μg/mL を示した 10 株を含む、分離株 30 株の 93.3% がチゲサイクリンに感受性を示した。この VCM の MIC = 2 μg/mL の MRSA 10 株のうち 9 株 (90%) が、チゲサイクリンに感受性を示した。

VCM の負荷により選択された MIC = 2 μg/mL を示す MRSA 8 株に対するチゲサイクリンの感受性を Table 2 に示す。この 8 株のうち、4 株 (50%) はチゲサイクリン耐性 (MIC = 1 μg/mL) を示した。

今回の各種臨床分離株に対するチゲサイクリン感受性は、欧米の成績¹⁾と同様であった。*P. mirabilis* に対するチゲサイクリンの耐性率⁶⁾は、米国 11.6%、欧州 60.4% と報告されているが、今回の成績では 53.8% であり、欧州と同様の傾向がみられた。また、チゲサイクリンは *P. aeruginosa* と *P. mirabilis* に対し抗菌力が低い¹⁾とされているが、今回のわれわれの結果は、これを支持する成績であった。

チゲサイクリンは院内感染の起病菌として問題となっている MRSA をはじめ、多剤耐性アシネトバクター属菌、NDM-1 産生腸内細菌や ESBL 産生菌など多剤耐性グラム陰性桿菌に対しても広域な抗菌活性を示す⁷⁾。今回の検討において、多剤耐性アシネトバクター属菌を用いることはできなかったが、イミペネムおよびシプロフロキサシンの 2 剤耐性 *A. baumannii* 9 株はチゲサイクリンに感受性を示した。日本では *A. baumannii* のカルバペネム耐性率は 2.4% と報告されている⁸⁾が、韓国では 64%⁹⁾、中国は 67.4%¹⁰⁾と高い耐性率が問題になっている。今後、これらの株が国内に持ち込まれる可能性があり、チゲサイクリンは、これらの耐性菌に対する重要な薬剤になるであろう。

近年、世界的には NDM-1 産生菌やカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*, CRE) などカルバペネム系薬を含む β -ラクタム系薬に耐性を示す *Enterobacteriaceae* が増加傾向にある¹¹⁾。本邦では CRE の分離報告は少ないが、これら CRE に対しても、チゲサイクリンは有用である可能性が考えられた。また、本剤は MRSA に対しても抗菌活性を示した。本邦では抗 MRSA 薬として、バンコマイシン、テイコプラニン、アルベカシン、リネゾリド、ダプトマイシンの 5 剤が臨床使用されているが、このほかに薬剤感受性によってはミノサイクリンが選択されることがある。しかしながら、MRSA にミノサイクリンを投与すると比較的早期に耐性化することが知られている。一方、海外におけるチゲサイクリンの薬剤感受性サーベイランスの成績では、MRSA に対する感受性率が 100% を保持している¹²⁾。将来的には、わが国でもチゲサイクリンが MRSA 感染症の治療薬として検討されるべきであろう。

従来 MRSA 感染症に VCM が汎用されるが、TDM により有効血中濃度域を維持する治療を行ったとしても、VCM の MIC 値が $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ に上昇する症例が散見される。そこで今回、*in vitro* で VCM の負荷により選択された VCM の MIC = $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ を示す 8 株に対し、ただちにチゲサイクリンの MIC を測定した。今回の検討で、この VCM による負荷選択株 8 株は、その 50% がチゲサイクリンに耐性を示した。一方、臨床分離時に VCM の MIC = $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ を示した MRSA 10 株のうち 9 株 (90%) は、チゲサイクリンに感受性を示している。この成績の乖離は、本検討で用いた臨床分離株 10 株が、チゲサイクリンの薬剤感受性測定まで -80°C で半年間保存されていたため、継代培養により VCM の MIC が $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 未満に低下した可能性が考えられた。VCM の MIC = $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ を示す株に対するチゲサイクリンの感受性測定は、保存期間を置かず早期に実施することが重要である。

MRSA における VCM の MIC = $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ を示す機序として、細胞壁の肥厚が影響していると考えられるため、

こうした株ではチゲサイクリンの菌体内取り込みが抑制され、耐性を示した可能性が考えられた。これについては、さらなる検討が必要である。

本検討で用いた対象菌株は、東北地方の各医療機関の細菌検査室で菌種および薬剤感受性が同定された株である。今回これらに対し、チゲサイクリンのフローズンプレートを用い抗菌力を調査したが、分離時期の異なる臨床分離株を収集し薬剤感受性を報告する場合は、他の抗菌薬も同時期にフローズンプレートを作成し測定することが、より精度の高い成績になると考えられた。

今回の結果より、東北地方の各種臨床分離株および *in vitro* 選択株におけるチゲサイクリンの抗菌力は、本邦における本剤の適応菌種のみならず、ESBL 産生グラム陰性桿菌や MRSA に対して良好な成績を示した。ただし、*P. aeruginosa*、*P. mirabilis* の感受性率は、0%、15.4%であった。

利益相反自己申告：渡辺彰は、ファイザー株式会社から講演料を受けている。筆頭著者を含むその他の著者の利益相反はない。

文 献

- 1) 三嶋廣繁, 藤村 茂, 渡辺晋一: チゲサイクリン適正使用のための手引き 2014. 日化療会誌 2014; 62: 311-66
- 2) Solomkin J S, Mazuski J E, Bradley J S, Rodvold K A, Goldstein E J, Baron E J, et al: Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infection Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 133-64
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Third Informational Supplement. CLSI Document M100-S23, CLSI, Wayne, Pa, USA, 2013
- 4) Fujimura S, Nakano Y, Watanabe A: A correlation between reduced susceptibilities to vancomycin and daptomycin among the MRSA isolates selected in mutant selection window of both vancomycin and daptomycin. *J Infect Chemother* 2014; 20: 752-6
- 5) U. S. Food and Drug Administration (FDA): HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION, TYGACIL
http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021821s0211bl.pdf (accessed 14 July 2015)
- 6) Sader H S, Farrell D J, Flamm R K, Jones R N: Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009-2011). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 78: 443-8
- 7) Özkök S, Togan T, Yesilkaya A, Timurkaynak F, Azap Ö K, Arslan H: In vitro susceptibility of tigecycline against multidrug-resistant gram-negative strains: Etest versus agar dilution. *Chemotherapy* 2014; 60: 151-6
- 8) Yamaguchi K, Ohno A, Ishii Y, Tateda K, Iwata M;

- Levofloxacin-Surveillance Group; [In vitro susceptibilities to levofloxacin and various antibacterial agents of 12,866 clinical isolates obtained from 72 centers in 2010]. *Jpn J Antibiot* 2012; 65: 181-206
- 9) Yong D, Shin H B, Kim Y K, Cho J, Lee W G, Ha G Y, et al; KONSAR group: Increase in the Prevalence of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* Isolates and Ampicillin-Resistant Non-Typhoidal *Salmonella* Species in Korea: A KONSAR Study Conducted in 2011. *Infect Chemother* 2014; 46: 84-93
- 10) Li Y, Lv Y, Xue F, Zheng B, Liu J, Zhang J: Antimicrobial resistance surveillance of doripenem in China. *J Antibiot (Tokyo)* 2015; 68: 496-500
- 11) Lob S H, Kazmierczak K M, Badal R E, Hackel M A, Bouchillon S K, Biedenbach D J, et al: Trend in susceptibility of *Escherichia coli* from intra-abdominal infections to ertapenem and comparators in the United States according to data from the SMART program, 2009 to 2013. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 3606-10
- 12) Chen Y H, Lu P L, Huang C H, Liao C H, Lu C T, Chuang Y C, et al: Trends in the susceptibility of clinically important resistant bacteria to tigecycline: results from the Tigecycline *In Vitro* Surveillance in Taiwan study, 2006 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 1452-7

Susceptibility of various clinical pathogens to tigecycline in the Tohoku area, Japan

Sachiko Hayakawa¹⁾, Shigeru Fujimura^{1,4)}, Yuji Watanabe²⁾, Emiko Furukawa¹⁾,
Masato Kawamura¹⁾, Koichi Uno³⁾, Toshio Sato³⁾ and Akira Watanabe⁴⁾

¹⁾ Division of Clinical Infectious Diseases & Chemotherapy, Tohoku Pharmaceutical University, 4-4-1 Komatsushima, Aoba-ku, Sendai, Japan

²⁾ Tohoku Pharmaceutical University Hospital Microbe Laboratory

³⁾ Japan Microbiological Laboratory

⁴⁾ Division for Development of Anti-Infective Agents, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

Tigecycline was released in Japan from September, 2012. Bacterial indications are multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, NDM-1-producing *Escherichia coli*, and other multidrug-resistant gram-negative bacilli. Tigecycline had been already used in the US and Europe, and was swiftly introduced into Japan. Therefore, there are few antibiotic susceptibility data for a variety of clinically isolated pathogens in Japan. In this study, we investigated the minimum inhibitory concentration (MIC) of tigecycline against 270 pathogens isolated from patients in 22 hospitals in the Tohoku area, Japan. The MIC was determined with susceptibility testing using the CLSI broth microdilution method. The susceptibility rate of *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Acinetobacter* spp. was demonstrated at 100%. Additionally, the rates of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* and MRSA were 83.1% and 93.3%, respectively. However, 50% of MRSA which demonstrated an MIC for vancomycin of 2 μ g/mL showed tigecycline resistance.