

【原著・臨床】

多剤耐性緑膿菌に対する抗菌薬の併用効果

岡 陽 子

埼玉医科大学感染症科・感染制御科*

(平成 17 年 6 月 24 日受付・平成 17 年 7 月 20 日受理)

埼玉医科大学病院において、1999 年 1 月から 2002 年 6 月までに臨床検体から分離され imipenem (IMP), amikacin (AMK), ciprofloxacin (CPFX) に対して耐性を示す薬剤耐性緑膿菌 (multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) 57 株を対象に各種抗菌薬の薬剤感受性、メタロ β ラクタマーゼ産生、IMP-1 型メタロ β ラクタマーゼ遺伝子の有無を検討した。さらに Pulsed field gelelectrophoresis (PFGE) による遺伝子多型を検討し、それぞれタイプの異なる MDRP25 株を用いて checkerboard 法による抗菌薬併用効果を検討した。また、薬剤耐性緑膿菌分離患者の患者背景や感染菌と判断された 10 例についてその臨床的な検討を行った。薬剤感受性測定の結果、IMP の MIC₉₀ は 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC range は 8 ~ 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上, AMK の MIC₉₀ は 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC range は 32 ~ 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上, CPFX の MIC₉₀ は 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC range は 16 ~ 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。57 株すべてにメタロ β ラクタマーゼ産生と IMP-1 型メタロ β ラクタマーゼ遺伝子が確認された。PFGE による遺伝子多型性は 20 種類に分かれ、内科系病棟と外科系病棟ではそれぞれ固有の遺伝子多型を示す株が多かった。遺伝子多型の異なる 25 株の抗菌薬併用効果では BIPM + GM, CPFX + AZT, CPFX + GM などの組み合わせで相乗および相加効果を認める株が多く、中でも CPFX + AZT では拮抗を認める株もなかった。感染症の原因菌と判断された 10 例の中で 8 例は尿路感染症であり、2 例は敗血症であった。尿路感染症 8 例の予後は良好であったが、敗血症 2 例は死亡例であった。以上より薬剤耐性緑膿菌には有効な抗菌薬は少なく、抗菌薬の併用療法や発症を未然に防ぐための院内感染対策が重要と考えられた。

Key words: multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP), FIC index, IMP-1, PFGE

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は、水周りなど生活環境中に広く常在する弱毒細菌であるが、感染防御能力の低下した患者の日和見感染症の起原菌として重要である。近年、緑膿菌に効果が期待されている β ラクタム系薬のみならず、カルバペネム系薬やフルオロキノロン系薬、さらにアミノ配糖体系薬などに幅広く耐性を示す薬剤耐性緑膿菌の増加が懸念されている¹⁾。さらにこの薬剤耐性緑膿菌は血液悪性腫瘍やその他の固形癌患者、あるいは骨髄移植や臓器移植患者など高度の免疫不全患者に感染し、敗血症や肺炎を発症し難治性となり予後も不良である²⁾。また、多くの抗菌薬に耐性を示すため、その感染症の発症予防のための院内感染対策がきわめて重要となり、治療に関しては抗菌薬の併用投与などの工夫が必要となる。

このような背景から今回の研究では、埼玉医科大学病院の臨床分離菌株の中で保存されていた薬剤耐性緑膿菌 57 株を用いて、各種抗菌薬の薬剤感受性および試験管内での各種抗菌薬の併用効果を検討すると共に、分子疫学的検討としてパルスフィールドゲル電気泳動 (Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE) による院内感染疫学さらには、患者背景の調査か

ら臨床的検討も行った。

I. 対象と方法

1. 対象菌株

1999 年 1 月から 2001 年 6 月までの期間に、埼玉医科大学病院中央検査部で分離された緑膿菌において Vitek GNI Card (Vitek system; 日本ピオメリー株式会社, 東京) を用いて各種抗菌薬に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。その結果、MIC が imipenem で 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上, amikacin で 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上, ciprofloxacin で 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上と判定された緑膿菌 57 株を薬剤耐性緑膿菌として対象とした。57 株の臨床検体はそれぞれ尿 28 株, 呼吸器系 (咽頭粘液, 喀痰) 14 株, 血液 3 株, 便 8 株, その他 4 株であった。なお同一患者由来の菌株は今回の検討対象から除外した。

2. 各種抗菌薬の薬剤感受性

各種抗菌薬の最小発育阻止濃度 (MIC) は日本化学療法学会表標準法に準じた微量液体希釈法で piperacillin (PIPC), ceftazidime (CAZ), aztreonam (AZT), gentamicin (GM), tobramycin (TOB), amikacin (AMK),

* 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38

arbakacin (ABK), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), biapenem (BIPM), ciprofloxacin (CPFX), prulifloxacin (PUFX), fosfomycin (FOM) の 13 薬剤の MIC を測定した。

3. メタロβラクタマーゼの検出

メタロβラクタマーゼの検出はディスク拡散法 (SMA , 栄研) によりスクリーニングを行った。さらに polymerase chain reaction (PCR) 法を用いてメタロβラクタマーゼ遺伝子の検出を施行した。すなわち Muller-Hinton 寒天培地で培養し、コロニーを釣菌し、McFarland 2~5 に調整した。その菌液 100 μL を 100 μL , 10 分熱処理し、これを template DNA とした。50 μL の PCR 反応液の組成は、template DNA 20 μL , primer1 (10 μM) 1 μL , primer2 (10 μM) 1 μL , 10 × Ex Taq TMBuffer 5 μL , dNTP Mixture (2.5 mM each) 4 μL , TaKaRa Ex Taq TM (5 units / μL) 0.5 μL , 滅菌精製水 18.5 μL を加えた。Senda らの primer (primer1: 5'-CTA CCG CAG CAG AGT CTT TG-3' , primer2: 5'-AAC CAG TTT TGC CTT ACC AT-3') を使用した。PCR heat cycle は 94 1 分 , 50 1 分 , 72 1 分を 30 cycle で増幅させた。PCR 産物は、1.2% アガロースゲルを用いて電気泳動を行い、568 bp のバンドの有無にて IMP-1 型遺伝子保有の確認を行った³⁾。

4. パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

純培養された菌株を Brain Heart Infusion (BHI) に溶解後 24 時間培養し菌液とした。菌液をアガロースゲルにて包埋し、プラグを作製した。Proteinase K で除蛋白処理後、制限酵素 *SpeI* で消化し、BIO-RAD 社の GenePath を用いて電気泳動を行った。染色にはエチジウムブロマイドを使用し、DNA パターンを撮影した。

5. 各種抗菌薬の併用効果

PFGE によって群別された各代表株 (A , B , D , E , G , H , I , L , M , O , P , Q , R , S , T : 各 1 株 , C , F , J , K , N : 各 2 株 , 合計 25 株) を用いて BIPM , CPFX , FOM , PIPC , AZT , GM , AMK , ABK , IPM , PUFX の各種抗菌薬の併用効果についてチェッカーボード法より Fractional Inhibitory Concentration (FIC) index を求め、FIC index から 0.5 を相乗、0.5 < FIC index 1.0 を相加、1.0 < FIC index 2.0 を不関、FIC index > 2.0 を拮抗と判定した。

6. 臨床的背景の調査

対象となった薬剤耐性緑膿菌 57 株が分離された患者背景をカルテから後ろ向き調査を行った。その結果明らかに感染症の原因菌と判断された 10 例について、基礎疾患や治療および転帰を調査した。

II. 結 果

1. 薬剤耐性緑膿菌 57 株における各種抗菌薬の薬剤感受性

各種薬剤の薬剤感受性を Table 1 示す。IPM の MIC₉₀ は 128 μg/mL , MIC range は 8 ~ 512 μg/mL 以上、AMK

Table 1. *In vitro* activity of antibacterial agents against 57 strains of multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) isolated from the patients in Saitama Medical Hospital

Antibacterial agents	MIC range (μg/mL)	MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₈₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)
piperacillin	64-256	128	128	256
ceftazidime	256- 512	512	512	512
aztreonam	16-256	32	32	32
gentamicin	16- 512	32	32	32
tobramycin	128- 512	256	256	256
amikacin	32- 512	128	128	128
arbakacin	8- 512	16	16	32
imipenem	8- 512	64	128	128
meropenem	16- 512	256	512	512
biapenem	8- 512	128	256	256
ciprofloxacin	16-128	32	64	64
prulifloxacin	16-64	32	32	32
fosfomycin	64- 512	512	512	512

の MIC₉₀ は 128 μg/mL , MIC range は 32 ~ 512 μg/mL 以上、CPFAX の MIC₉₀ は 64 μg/mL , MIC range は 16 ~ 128 μg/mL であった。その他 10 薬剤に対してもすべて高度耐性を示していた。

2. メタロβラクタマーゼの検出

対象 57 株すべてに IMP-1 型の遺伝子の保有を認め、かつメタロβラクタマーゼの発現が確認された。

3. PFGE による院内感染疫学

57 株の薬剤耐性緑膿菌を PFGE による遺伝子型別を行った。撮影された DNA パターンは Bio RAD 社の Fingerprinting Plus の系統樹作成ソフトを用い A~T の 20 種類に分類された (Fig. 1)。比較的多く認められた型は F が 12 株、J が 11 株、P が 7 株、G が 6 株、N が 4 株であり、その他 1~2 株ずつ認められた。さらに分離された病棟別に PFGE による遺伝子多型性を検討した結果、血液内科あるいは呼吸器内科などの内科系病棟では F および J が多く認められたが、消化器外科や脳神経外科などの外科病棟では G および P が多く認められた (Table 2)。

4. 各種抗菌薬の併用効果

各抗菌薬の組み合わせの中で相乗 + 相加効果を多く認めた組み合わせは BIPM + GM , CPFAX + ATZ , CPFAX + GM などであったが、BIPM + GM では 12% に拮抗を認めており、また FOM と他の抗菌薬の組み合わせにおいても約 60% の菌株は相乗または相加効果を示したが、残りの約 40% の菌株は拮抗を認めたことから、拮抗がなく、相乗および相加効果が最も期待できる抗菌薬の組み合わせは CPFAX + AZT と考えられた (Table 3)。

5. 薬剤耐性緑膿菌が分離された患者の臨床的検討

対象菌株が分離された 54 症例 (男性 36 症例、女性 18

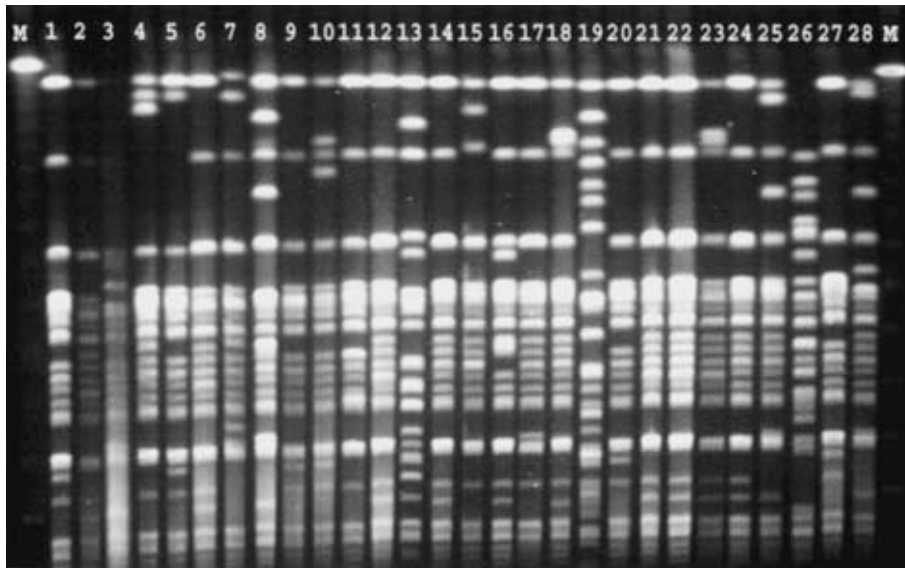


Fig. 1. Representative PFGE patterns of multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Lane M: lower-range PFGE marker. The PFGE patterns are indicated by the letters above the lanes.

Table 2. The numbers of strains of multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) isolated from the wards of Saitama Medical School Hospital according to the results for DNA polymorphism measured by PFGE

ward	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
Hematology										7	1			2						
Pulmorogy						10				4	1	1	1		1					1
Neurology																	1			
General Surgery							6											1		
Neurosurgery			1		1				1											
Cardiosurgery		1												2						
Orthopaedic																7				
Other	1		1	1		2		1												1
Total	1	1	2	1	1	12	6	1	1	11	2	1	1	4	1	7	1	1	1	1

症例)は平均年齢 66 歳(19~89 歳)だった。主な基礎疾患としては血液悪性腫瘍 17 例, 固形癌 13 例, 糖尿病 7 例, 呼吸器疾患 5 例, 循環器疾患 5 例, 腎疾患 5 例, 脳血管障害 4 例, 膠原病 2 例, その他 12 例であった。危険因子としては抗癌薬が 18 例, ステロイド薬が 15 例に免疫抑制薬が 3 例に投与されており, 尿路カテーテルが 29 例, IVH が 23 例に挿入されていた。また, 手術後の症例が 17 例認められた。臨床的には 54 例のうち 44 例は臨床症状, 炎症反応, 塗沫所見および治療経過などから定着菌と判定された。10 例から分離された薬剤耐性緑膿菌は感染症の原因菌の可能性が高いと判断された。感染症は敗血症が 2 例, 尿路感染症 8 例で, 基礎疾患は固形癌が 4 例, 血液悪性腫瘍が 3 例, 糖尿病が 1 例, その他が 2 例であった。尿路感染症を発症した 8 例は全例に尿路カテーテルが挿入されていた。10 症例の予後は, 尿路感染

症を起こした 8 症例は検体からの菌の消失もしくは感染症の治癒が認められた。敗血症の 2 症例については抗癌薬投与後の高度な好中球減少時に発症し, 抗菌薬投与するも死亡となった (Table 4)。

III. 考 察

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は土壌や河川の水あるいは植物など幅広く自然界に生息するグラム陰性桿菌である。本来, 緑膿菌は病原性が低く, 健常者には感染症を発症することは少ないが, 免疫不全患者や重篤な基礎疾患を有する入院患者に対しては院内感染として肺炎や敗血症を発症し, しばしば不帰の転帰となる⁴⁾。このような緑膿菌感染症の治療薬としてこれまで抗緑膿菌活性を有する第 3, 4 世代セフェム系薬, アミノ配糖体系薬, カルバペネム系薬, フルオロキノロン系薬などが用いられているが抗菌活性は十分とはいえないため, 最小発育

Table 3. Percentages of combined effects of antibacterial agents against 25 strains of multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP)

Drug combination	synergy + addition	no relation	antagonism
BIPM + GM	68%	20%	12%
CPFX + AZT	64%	36%	0%
CPFX + GM	64%	32%	4%
BIPM + ABK	60%	32%	8%
BIPM + CPFX	60%	32%	8%
CPFX + FOM	60%	0%	40%
AZT + FOM	60%	0%	40%
PUFX + FOM	60%	0%	40%
BIPM + PUFEX	56%	40%	4%
BIPM + FOM	56%	16%	44%
CPFX + ABK	56%	40%	4%
BIPM + AMK	52%	40%	8%
CPFX + AMK	52%	44%	4%
CPFX + IPM	48%	48%	4%
BIPM + AZT	36%	60%	4%

BIPM: biapenem, GM: gentamicin, CPFX: ciprofloxacin, ABK: arbekacin, FOM: fosfomycin, AZT: aztreonam, PUFEX: prulifloxacin, IPM: imipenem.

Table 4. Clinical outcome of the patients infected with multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP)

Case	Sex	Age	Underlying Disease	Infection	Treatment	Outcome
1	F	57	urothelial carcinoma	UTI	VCM	alive
2	M	83	prostate cancer	UTI	MINO	alive
3	M	72	diabetes	UTI	IPM/CS	alive
4	M	75	urinary bladder sclerosis	UTI	LVFX	alive
5	M	79	CML	UTI	IPM/CS	alive
6	M	77	Crohn Disease	UTI	none	alive
7	M	78	urothelial carcinoma	UTI	CEZ	alive
8	M	76	rectal cancer	UTI	none	alive
9	F	50	AML	sepsis	AMK + CPR	died
10	F	63	AML	sepsis	AMK + CAZ	died

CML: Chronic myelogenous leukemia, AML: acute myeloid leukemia, UTI: urinary tract infection, VCM: vancomycin, MINO: minocycline, IPM/CS: imipenem/cilastatin, LVFX: levofloxacin, CEZ: cefazolin, AMK: amikacin, CPR: ceftazidime, CAZ: ceftazidime

阻止濃度(MIC)のわずかな上昇が耐性化を招くこととなる。Tsujiらの報告では2001年にわが国の主な大学病院から分離された緑膿菌3,233株の薬剤感受性を検討した結果、89株(2.8%)が薬剤耐性緑膿菌であったと報告され、またその分離率は地域によって若干異なり、多い地域では3.9%の分離率から少ない地域では0.9%であったと報告されている¹⁾。さらに吉田らの報告でもカルバペネム系薬、アミノ配糖体系薬、フルオロキノロン系薬に同時に耐性を示す株の分離率が徐々に増加傾向を示していると報告されている⁵⁾。今回われわれの検討した菌株は保存菌株であり、当院における正確な分離率の推移は判断できないが、当院の院内感染対策委員会で報告された全緑膿菌分離数に占める薬剤耐性緑膿菌の分離率は

1999年から2003年までの5年間に7.4%から12.9%と増加傾向を示している(未発表データ)。現在、薬剤耐性緑膿菌は感染症新法において5類感染症(基幹定点指定届け出)感染症となっており、今後わが国において増加することが懸念される。

今回、われわれが検討した57株の薬剤感受性成績からも抗菌薬に高度耐性を示しており、中でもceftazidime(CAZ)、imipenem(IPM)、meropenem(MEPM)、biapenem(BIPM)などの広域スペクトラムの抗菌薬に対してMIC₈₀が128から512 µg/mLときわめて高い値を示している。また、アミノ配糖体系薬の中ではtobramycin(TOB)、amikacin(AMK)が高いMICを示したことに對してgentamicin(GM)がMIC₈₀で32 µg/mL、arbekacin

(ABK)が $16 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、と他の2薬剤より2から4管優れたMICを示した。この原因としてはアミノ配糖体系薬の耐性にかかわる修飾酵素の産生によると考えられるが今回は検討していないため、今後の課題と考えられる。しかし、今回の結果からアミノ配糖体系薬の中で最も MIC_{90} 値が低かったABKは適応菌種の点から実際の臨床では使用することは困難と考えられる。また、モノバクタム系薬であるaztreonam(AZT)が MIC_{90} 値で $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ と低値を示した。この理由としては今回対象とした薬剤耐性緑膿菌はすべての株でメタロ β ラクタマーゼの産生が確認されており、この酵素に対して比較的安定なモノバクタム系薬が低いMIC値を示したものと考えられるが、実際の臨床では十分な臨床効果が期待できる値ではないと考えられた。

薬剤耐性緑膿菌の耐性機序は、 β ラクタマーゼ産生、D2 porinの減少による外膜透過性の低下、薬剤排出ポンプによる菌体内からの薬剤排出の亢進、DNA ジャイレースの変異、修復酵素産生などが知られている⁹⁾。中でもIMP-1型メタロ β ラクタマーゼを産生する緑膿菌が近年日本各地の医療施設より分離されるようになってきている^{7,8)}。このIMP-1型メタロ β ラクタマーゼの遺伝子は通常伝達性のRプラスミド上に存在し、接合により他の菌種に伝達される。また最近ではIMP-1型以外の種々のメタロ β ラクタマーゼがアジアやヨーロッパ諸国から検出されている¹⁰⁾。その他、VIM型と呼ばれる別タイプのメタロ β ラクタマーゼ産生緑膿菌の報告もある。Kimuraらの報告では2002年に日本各地の医療施設から分離された緑膿菌594株を用いて検討した結果、11株にIMP耐性株を認め、そのうち10株はIMP-1型、1株がVIM-2型のメタロ β ラクタマーゼ産生菌であったと報告されている¹¹⁾。今回、われわれが検討した薬剤耐性緑膿菌57株はすべての菌株でメタロ β ラクタマーゼ産生が確認され、さらにIMP-1型メタロ β ラクタマーゼ遺伝子の存在も確認されている。しかし、他の日本の施設ではメタロ β ラクタマーゼを保有する緑膿菌の分離率には大きな違いがあり、地域性や患者背景あるいは抗菌薬の使用状況などが他の施設とどのように異なっているか、今後疫学的な調査が必要と考えられる。また、今回検討した菌株は β ラクタム系薬以外にも多くの種類の抗菌薬に高度耐性を認めており、その耐性機構には薬剤排出機構、修飾酵素の産生、DNA ジャイレース遺伝子変異など種々の耐性機構が同時に発現されていることが予測され、今後その耐性機構の基礎的検討が必要と考えられた。

このように薬剤耐性緑膿菌に対して現在有効な抗菌薬はないと言っても過言ではない。しかし、臨床の間では薬剤耐性緑膿菌による肺炎や敗血症はきわめて稀ではあるが経験される。その際の治療の基礎的検討として、抗菌薬の併用効果を検討した。試験管内で抗菌薬の併用効

果を検討する時には一般的にchecker-board法により測定されたMICからFIC indexを算出して判定される。抗菌薬は多くの組み合わせが可能であるが、原則的に同じ作用機序を有する組み合わせは避け、また、単剤のMICが低い値を示した抗菌薬を組み合わせで検討した。今回の検討では対象とした菌株数が25株と少ないため限られた結果しか得られなかったが、その結果ではフルオロキノロン系薬であるCPFXとモノバクタム系薬であるAZTの併用が相乗相加を示す菌株が多く、逆に拮抗を示す株を認めないことから臨床の有効ではないかと推察された。未だ薬剤耐性緑膿菌における抗菌薬併用に関する検討はなく、われわれも新鮮分離菌株50株および関東甲信越の多施設から分離された薬剤耐性緑膿菌75株を用いて同様の検討を行った結果、その他の抗菌薬の組み合わせとしてはAMK + AZTやsulbactam/cefoperazone(SBT/CPZ) + AMK, tazobactam/piperacillin(TAZ/PIPC) + AZTなどの組み合わせで優れた併用効果を認めており(未発表データ)、今後は臨床的な検討が必要と考えられる。

しかしながら、このような抗菌薬の併用療法を行っても薬剤耐性緑膿菌感染症に対する治療効果は限られたものであり、難治性感染症であることには変わりない。そのため、現時点ではいかにしてこの薬剤耐性緑膿菌感染症を発生させないかが重要なこととなる。そのためには薬剤耐性緑膿菌感染症に対して有効な院内感染対策を実施することが最も重要である。今回、われわれはPFGEによる遺伝子多型解析を行った結果、20種類の遺伝子多型を認め、monoclonalな菌の伝播ではなく、きわめて多種のpolyclonalな菌が存在することが推測された。しかし、分離された菌株の遺伝子多型性と病棟の関係を検討するとその病棟に特有の遺伝多型を有する菌が存在することが判明し、このことは緑膿菌がその病棟という環境に固有に存在している可能性を示唆した。緑膿菌感染症はMRSA感染症などと同様に接触感染によって院内感染を発生すると考えられているが、以前より緑膿菌に関しては患者環境の特に水周りが重要な感染源となることが報告されている¹²⁾。今回のわれわれの検討では環境からの分離菌の調査やその菌の遺伝多型の相同性などは検討していないが、薬剤耐性緑膿菌感染症の感染対策には水周りを含めた環境の整備が接触感染対策と共に重要になると考えられた。さらに臨床的検討でも薬剤耐性緑膿菌感染症はきわめて重篤な基礎疾患を有する患者に発症することが多く、中でも血液悪性腫瘍や癌患者に多かった。しかし、今回の検討では感染症と判断された症例の多くは尿路感染症であり、多くは尿路カテーテル留置例であった。そのような尿路カテーテルから分離された症例では感染症の所見はあるものの抗菌薬の投与を行わなくても治癒する例もあり、また予後は良好なため、抗菌薬による治療は必ずしも必要とは考えられない。しかし、

敗血症を発症した2例は死亡しており、基礎疾患もきわめて重篤であるため、今後は抗菌薬の併用療法も含めた治療法の工夫も必要となる。この2症例に関しては発症した時期や分離された菌の遺伝子多型も異なり、患者の腸管内で抗菌薬の投与などによって選択された薬剤耐性緑膿菌が内因性に感染した症例と推察された。

以上、埼玉医科大学病院において1999年1月から2002年6月までに分離された薬剤耐性緑膿菌保存57株について各種抗菌薬の薬剤感受性ならびに抗菌薬の併用効果、またPFGEによる遺伝子多型による院内感染疫学および分離された患者の臨床的背景を検討したので報告した。

謝 辞

最後に稿を終えるにあたってご指導いただきました埼玉医科大学感染症科・感染制御科教授 前崎繁文先生ならびに埼玉医科大学検査部 橋北義一先生および埼玉医科大学感染症科・感染制御科ならびに埼玉医科大学中央検査部の皆様に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Tsuji A, Kobayashi I, Oguri T, et al: An epidemiological study of the susceptibility and frequency of multiple-drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated at medical institutes nationwide in Japan. *J Infect Chemother* 11: 64 ~ 70, 2005
- 2) Hirakata Y, Yamaguchi T, Nakano M, et al: Clinical and bacteriological characteristics of IMP-type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 37: 26 ~ 32, 2003
- 3) Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, et al: PCR detection of metallo- β -lactamase gene (*blaIMP*) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum β -lactamase. *J Clin Microbiol* 34: 2909 ~ 2913, 1996
- 4) Cao B, Wang H, Sun H, et al: Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Hosp Infect* 57: 112 ~ 118, 2004
- 5) 吉田 勇, 東山伊佐夫, 木村美司, 他: 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年分離グラム陰性桿菌。日化療誌 48: 610 ~ 631, 2000
- 6) 菅野治重: 主要分離菌とカルバペネム系抗菌薬~耐性菌の感受性も含めて~4) 緑膿菌。感染と抗菌薬 3: 30 ~ 36, 2000
- 7) Senda K, Arakawa Y, Nakashima K, et al: Multifocal outbreaks of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad-spectrum beta-lactams, including carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 349 ~ 353, 1996
- 8) Hirakata Y, Izumikawa K, Yamaguchi T, et al: Rapid detection and evaluation of clinical characteristics of emerging multiple-drug-resistant gram-negative rods carrying the metallo-beta-lactamase gene *blaIMP*. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 2006 ~ 2011, 1998
- 9) Walsh T R, Toleman M A, Poirel L, et al: Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 18: 306 ~ 315, 2005
- 10) Henrichfreise B, Wiegand I, Sherwood K J, et al: Detection of VIM-2 metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 1668 ~ 1669, 2005
- 11) Kimura S, Alba J, Shiroto K, et al: Clonal diversity of metallo-beta-lactamase-possessing *Pseudomonas aeruginosa* in geographically diverse regions of Japan. *J Clin Microbiol* 43: 458 ~ 461, 2005
- 12) 舟田 久: 血液疾患病棟における緑膿菌敗血症対策。水周りの監視と病床間隔の確保。感染症診療のコツと落とし穴(斎藤 厚 編), p.114 ~ 115, 中山書店, 東京, 2004

In vitro combined effects of antibacterial agents against clinically isolated multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) strains

Yoko Oka

Department of Infections Disease & Infection Control, Saitama Medical School,
38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama, Japan

The effectiveness of antibacterial agents against 57 strains of clinically isolated multiple-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) was measured by the micro-dilution method. The MIC₉₀ (the minimum inhibitory concentration of an antibiotic required to inhibit the growth of 90% of bacterial strains) values of imipenem, amikacin, and ciprofloxacin were found to be 128, 128 and 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. All 57 strains produced metallo-beta-lactamase, and the IMP-1 gene was detected by the polymerase chain reaction (PCR). The *in vitro* combined effects of the antibacterial agents were tested against 25 strains of MDRP selected by the checkerboard method after evaluation by the fractional inhibitory concentration (FIC) index. Combinations of BIPM and GM, CPMX and AZT, and CPMX and GM were found to be effective against all 25 MDRP strains. Synergy or additional effect of treatment with the combination of CPMX and AZT was observed in 64% of the strains, and there were no antagonistic effects against any MDRP strains.

We investigated DNA polymorphism in all 57 strains of MDRP by pulsed field gel electrophoresis (PFGE), and 20 of DNA polymorphisms were separated by PFGE. Ten strains of type F and 7 strains of type J were isolated from patients in the internal medicine unit of our institution, and 6 strains of type G and 7 strains of type P were isolated from patients in the surgery unit. Ten of 57 patients were diagnosed with MDRP infection and the remaining 47 were concluded to be colonized by MDRP. Eight of the 10 cases of MDRP infection were diagnosed with urinary tract infection, and the other 2 with sepsis. All 8 patients with urinary tract infection caused by MDRP survived, but both patients with MDRP sepsis died.