

[総 説]

*Acinetobacter baumannii* における薬剤耐性とカルバペネマーゼ産生株の検出法

上地幸平<sup>1)2)</sup>・切替照雄<sup>3)4)</sup>・藤田次郎<sup>2)</sup>・前田士郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 琉球大学医学部附属病院検査・輸血部

<sup>2)</sup> 琉球大学大学院医学研究科呼吸器・消化器・感染症内科学講座

<sup>3)</sup> 順天堂大学大学院医学研究科微生物学講座

<sup>4)</sup> 国立国際医療研究センター研究所感染症制御研究部

(平成 30 年 1 月 20 日受付)

近年、カルバペネム系抗菌薬など様々な抗菌薬に対する薬剤耐性グラム陰性桿菌の拡散と増加が世界的な問題となっている。主に医療関連感染の原因菌として知られている *Acinetobacter baumannii* はアシネトバクター属菌中でも最も分離頻度が高く、抗菌薬耐性を獲得しやすい性質を併せ持つことから臨床上特に重要である。世界的に OXA-23-like カルバペネマーゼ産生株の蔓延や多剤耐性アシネトバクター属菌 (Multidrug-resistant *Acinetobacter* species : MDRA) のアウトブレイク事例が数多く報告されており、我が国においても MDRA のアウトブレイク事例は散発的に報告されている。2016 年の厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) によると、アシネトバクター属菌のカルバペネム系など各種抗菌薬に対する感受性率は比較的良好であるが、今後注意すべき薬剤耐性菌の一つであると考えられる。*A. baumannii* のカルバペネム系抗菌薬耐性機序で主体となるのは OXA-51-like (Intrinsic) や OXA-23-like, OXA-58-like (Acquired) などの Carbapenem hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase (CHDL) 産生である。現在、アシネトバクター属菌のカルバペネマーゼ産生株における既存の表現型試験はその感度に問題があることが指摘されている。今後の拡散と増加を防止するためには正確な検出法が求められる。

本稿では *A. baumannii* を中心にアシネトバクター属菌の薬剤耐性について述べ、我が国のカルバペネマーゼ産生アシネトバクター属菌の現状とその検出法について概説する。

**Key words:** アシネトバクター属菌, *Acinetobacter baumannii*, カルバペネマーゼ, modified Hodge Test (MHT), CarbaNP test, Carbapenem Inactivation Method (CIM)

## 1. はじめに

近年、カルバペネムやアミノグリコシド、キノロン系抗菌薬など複数の抗菌薬に対して耐性を獲得した薬剤耐性グラム陰性桿菌の拡散と増加が世界的な問題となっている<sup>1)2)</sup>。中でもカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* : CRE)

や多剤耐性緑膿菌 (Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : MDRP), 多剤耐性アシネトバクター属菌 (Multidrug-resistant *Acinetobacter* species : MDRA)<sup>3)</sup> は感染症治療のみならず感染制御の観点からも特に重要である。我が国では 2008 年福岡県の大学病院にて韓国からの持ち込みを契機とした MDRA アウトブレイク事例が報告<sup>4)</sup>されて以降、2009 年には東京都、2010 年には愛知県内の大学病院から立て続けにアウトブレイク事例が発生したことで MDRA など薬剤耐性アシネトバクター属菌が注目を集めた。感染症法において、「多剤耐性アシネトバクター感染症」は 2014 年 9 月 18 日以降、5 類全数報告疾患に指定されている。厚生労働省院内感染対策サーベイランス事

著者連絡先：(〒903-0215) 沖縄県中頭郡西原町字上原 207  
琉球大学医学部附属病院検査・輸血部  
上地幸平  
TEL: 098-895-3331 (内線 3332)  
FAX: 098-895-1463  
E-mail: uechi21@med.u-ryukyuu.ac.jp

業 (JANIS) の公開情報 (2016)<sup>5)</sup>によるとアシネトバクター属菌の各種抗菌薬に対する非感性率はそれぞれ IPM 3.9%, MEPM 2.9%, AMK 3.1%, LVFX 13.2% と各種抗菌薬に対する感受性率は未だ良好であり, MDRA が分離されている施設は全体の 2.4% (全 1,653 施設中 39 施設) と低い。2015 年の Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)<sup>6)</sup>によるとギリシャから収集されたアシネトバクター属菌 943 株中 MDRA は 82.2% と東ヨーロッパの国々では MDRA が高率に分離されている。また, アシネトバクター属菌のカルバペネム系抗菌薬耐性について National Healthcare Safety Network (NHSN, 米国) は, 2007 年以降耐性率が 30% を超え, 2014 年には 46.6% と報告している<sup>7)</sup>。さらに, 中国では 2014 年のイミペネム耐性率は 70.5% (2004 年 13.3%)<sup>8)</sup>, 韓国では 2015 年のイミペネム耐性率は 85.0% (2000 年 5.0%)<sup>9)</sup> など, アシネトバクター属菌のカルバペネム系抗菌薬の感受性率の低下が報告されている。我が国における MDRA など薬剤耐性アシネトバクター属菌の分離率は低く, 海外とは様相を大きく異にするものの, 今後注目すべき薬剤耐性菌の一つである。本稿では *A. baumannii* を中心にアシネトバクター属菌の薬剤耐性について述べ, 近年問題となっているカルバペネマーゼ産生株の検出法について我々の検討データも交えて概説する。

## 2. 細菌学的特徴

アシネトバクター属菌の歴史は 1911 年オランダの細菌学者 Beijerinck が酢酸カリウムを含んだ低栄養培地で土壌から「*Micrococcus calco-aceticus* (現在の *Acinetobacter calcoaceticus*)」として分離したことからは始まる。アシネトバクター属菌は偏性好気性グラム陰性 (球) 桿菌であり, ブドウ糖非発酵性, 非鞭毛性で非運動性, カタラーゼ試験陽性, オキシダーゼ試験陰性である<sup>10)</sup>。本菌属は現在, List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN)<sup>11)</sup> に 53 菌種が登録されており, 遺伝子解析技術の進歩により再分類されるなど, 登録菌種数が増加している。本菌属は乾燥に比較的強い性質を持ち, 自然環境 (水系環境や土壌など) に広く分布しているとされるが, 全てのアシネトバクター属菌が自然環境に偏在しているわけではない。特に *A. baumannii* は脂質を好むことからヒトおよび動物の皮膚表面からの分離も多く, 気管や腸管内にも保菌される。また, 病院内環境においても適度な湿度と栄養源が存在することで医療機器などの表面にバイオフィルムを形成することで数週間生存

し, 院内伝播を引き起こすことが知られている<sup>12)</sup>。*A. baumannii* の中でも国際流行株 international clone I (IC I) および IC II (Pasteur 研究所の MLST 法では Sequence type 1 (ST1) および ST2, Bartual らの MLST 法では clonal complex 109 (CC109) および CC92 は抗菌薬に耐性傾向を示し, アウトブレイクを引き起こすことが多いとされている<sup>13)</sup>。国内で初めて薬剤耐性アシネトバクターの分子疫学解析を行った Endo ら<sup>14)</sup> は, イミペネムに非感性 (MIC  $\geq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) を示した *A. baumannii* 52 株のうち, 国際流行株 IC I に属する株は 94.2% (49 株) であったと報告している。また, Matsui ら<sup>15)</sup> は, IC I もしくは IC II に属する *A. baumannii* 31 株のうち多剤耐性を示した株は 45.2% (14 株) であったのに対し, IC I および IC II 以外の *A. baumannii* および non-*baumannii* *Acinetobacter* 属菌 56 株のうち多剤耐性を示した株は 7% (4 株) であり, 国際流行株は多剤耐性傾向が有意に高いことが報告している。さらに, 松井ら<sup>16)</sup> は収集した 866 株のアシネトバクター属菌のうち *A. baumannii* IC II が 28% を占め, さらに研究協力機関 (78 施設) の約半数から分離されていたと報告している。他にも, *A. baumannii* (国際流行株 IC I および IC II) による敗血症は non-*baumannii*-*Acinetobacter* 属に比して薬剤耐性率が高く, 死亡率も高いとの報告もある<sup>17)</sup>。現在, *Acinetobacter* 属菌は日常検査室で使用される自動機器や同定キットでは正確な菌種同定が困難であり, 特に *A. baumannii* は“*A. calcoaceticus*-*baumannii* complex”や“*A. baumannii* complex”として報告される。これは“complex”に含まれている *A. baumannii* [genomic species 2] や *A. calcoaceticus* [genomic species 1], *Acinetobacter nosocomialis* [genomic species 13TU]<sup>18)</sup>, *Acinetobacter pittii* [genomic species 3]<sup>18)</sup> の 4 菌種の生化学性状が非常によく似ていることに起因する<sup>10)</sup>。*A. baumannii* の正確な菌種同定には遺伝子レベルの解析が必要となり, 16S rRNA 遺伝子や RNA polymerase  $\beta$ -subunit gene (*rpoB*) などハウスキーピング遺伝子のシーケンズ解析<sup>19)</sup> や *A. baumannii* が生来染色体上に保有する OXA-51-like カルバペネマーゼ遺伝子を PCR にて検出することで同定可能である。また, Suzuki らはマルチプレックス PCR (PCR-based ORF typing: POT 法) により, *A. baumannii* の菌種同定と国際流行株 IC I および IC II の識別を同時に可能とする方法を報告し<sup>20)</sup>, 現在, 関東化学株式会社より POT キットとして販売されている。すべての臨床検査室において PCR 法などの遺伝子学的検査を実施するのは現実的ではないが, アシネ

トバクター属菌による感染症例および院内伝播が疑われる事例においては正確な菌種同定が必要であるため、大学病院等遺伝子検査が実施可能な施設に相談できるよう地域におけるネットワーク体制を構築しておく必要がある。

### 3. 薬剤耐性

#### 3-1. セファロスポリン系抗菌薬耐性

*A. baumannii* が生来染色体上に保有する AmpC β-ラクタマーゼ (*Acinetobacter*-derived cephalosporinase : ADC) はその構造遺伝子上流に IS*Aba1* などのプロモーター配列が挿入されることでセファロスポリン系抗菌薬に耐性を示す<sup>21)</sup>。*A. baumannii* について、プラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼの報告はないものの、ESBLs 遺伝子は複数報告されている<sup>22)</sup>。*A. baumannii* の産生する ESBLs の多くは PER-および GES-, VEB-type であり、PER-1 はトルコ (2005 年)、VEB-1 はフランス (2003 年)、GES-11 は GES-1 のバリエーションとしてフランス (2009 年) より報告されている<sup>22)</sup>。一方、腸内細菌科細菌で多く検出されている CTX-M-type ESBL の報告は少なく、CTX-M-2 は日本 (2004 年) と米国 (2008 年) から、CTX-M-15 はインドから 2010 年に報告されている<sup>22)</sup>。

#### 3-2. カルバペネム系抗菌薬耐性

*A. baumannii* およびアシネトバクター属菌の本抗菌薬に対する最も主要な耐性機序はカルバペネマーゼ産生による抗菌薬の不活化であり、Carbapenem hydrolyzing class D β-lactamase (CHDL) が中心である<sup>23)24)</sup>。本属菌の産生するカルバペネマーゼは日本からも IMP-type や OXA-type を中心に複数報告されており、Table 1 に我が国におけるカルバペネマーゼ産生アシネトバクター属菌の分離報告例をまとめた<sup>14)15)25)~40)</sup>。また、カルバペネマーゼ産生以外の耐性機序として、ペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding proteins : PBPs) の変異や Carbapenem-associated outer membrane protein (CarO) などの外膜タンパクの変異、resistance-nodulation-cell division (RND) ファミリーに属する AdeABC 等のエフラックスポンプの機能亢進などが報告されている<sup>23)24)</sup>。

##### 3-2-1. class A β-lactamases

本クラスに属する β-ラクタマーゼの多くはカルバペネマーゼ活性を持たない。しかし、本来 ESBL 活性のみを示す GES-1 の一部アミノ酸が置換 (Gly170Ser, Gly243Ala) することでカルバペネム系抗菌薬にまで分解活性が拡張した GES-14 カルバペネマーゼ産生 *A. baumannii* が入院患者の気管支洗浄液

から分離され、2011 年フランスから報告されている<sup>41)</sup>。他にも 2010 年プエルトリコから KPC-2, -3, -4 および-10 カルバペネマーゼ産生 *A. calcoaceticus-baumannii* complex が報告されている<sup>42)</sup>。

##### 3-2-2. class B β-lactamases

クラス A や D β-lactamase はその活性中心にセリンを持つものに対して、クラス B β-lactamase は亜鉛 (Zn<sup>2+</sup>) を持つことから metallo β-lactamases (MBL) と呼ばれ、カルバペネム系抗菌薬のみならず、モノバクタム系以外のすべての β-ラクタム系抗菌薬を分解可能である。現在、IMP-type や NDM-type, SIM-type, TMB-type, VIM-type など MBL 産生アシネトバクター属菌が報告されており<sup>22)</sup>、IMP-type MBL 産生 *A. baumannii* だけでも IMP-1 : イタリア (1999 年)、日本および韓国 (2003 年)、IMP-2 : イタリア (2000 年)、日本 (2003 年)、IMP-4 : 香港 (2003 年)、オーストラリア (2004 年)、IMP-5 : ポルトガル (2002 年)、IMP-6 : ブラジル (2003 年)、IMP-8 : 中国 (2007 年)、IMP-11 : 日本 (Accession no. AB074436)、IMP-14 : タイ (2011 年)、IMP-19 : 日本 (2011 年) など、複数のバリエーションが報告されている<sup>22)</sup>。

##### 3-2-3. class D β-lactamases

本クラスに属する酵素の中でも、カルバペネマーゼ活性を持つ酵素群は CHDL と呼ばれ、カルバペネム系抗菌薬に耐性を示すアシネトバクター属菌の主要な耐性機序である<sup>23)24)</sup>。CHDL のカルバペネマーゼ活性は MBL に比して極めて低いことが知られている。OXA-23-like や OXA-58-like 遺伝子が主にプラスミド上にコードされているのに対して、*A. baumannii* は菌種固有の遺伝子として OXA-51-like カルバペネマーゼ遺伝子が染色体上にコードされている。本遺伝子は通常発現しておらず、遺伝子上流に IS*Aba1* などのプロモーター配列が挿入されることでカルバペネム系抗菌薬に耐性を示す<sup>43)</sup>。CHDL は現在 5 つのグループ (OXA-23-like, OXA-24/40-like, OXA-58-like, OXA-143-like, OXA-235-like) に大別されている<sup>22)</sup>。中でも OXA-23-like は MDRA などカルバペネム系抗菌薬耐性アシネトバクター属菌から検出されることが多く、IC I および IC II などの国際流行株と関連付けられている<sup>44)</sup>。

#### 3-3. スルバクタム耐性

スルバクタム (Sulbactam : SBT) は class A β-lactamases の阻害薬としてアンピシリン (Ampicillin : ABPC) やセフォペラゾン (Cefoperazone : CPZ) などの β-lactam 系抗菌薬との合剤として使用されるが、アシネトバクター属菌を含む特定の菌種に対し

Table 1. Overviews of carbapenemase-producing *Acinetobacter* species reported in Japan

Carbapenemase	Species	Source (No. of isolates)	Isolation date (Strain collection period)	Reference		
IMP-1-type	<i>A. baumannii</i>	Urine (2), blood (1)	(From 2000 through 2012)	15)		
	<i>A. nosocomialis</i>	Sputum (3), pharynx (2), unknown (2)				
IMP-1	<i>A. pittii</i>	Sputum (2), pus (2)	(From January 2001 through 2002)	25)		
	<i>A. baumannii</i>	Not listed (30)				
	<i>A. calcoaceticus</i>	Sputum (3), blood (1)			2007	26)
	<i>A. grimontii</i>	Blood (1)			2005	28)
	<i>A. lwoffii</i>	Blood (1)			2007	26)
	<i>A. nosocomialis</i>	Sputum (3)			2008 and 2010	28)
	<i>A. pittii</i>	Blood (2)				29)
IMP-2-type	<i>A. solii</i>	Blood (1)	January 2011			
	<i>A. nosocomialis</i>	Pus (1)	(From 2000 through 2012)	15)		
IMP-2	<i>A. pittii</i>	Sputum (4), unknown (2)	(From January 2001 through 2002)	25)		
	<i>A. baumannii</i>	Not listed (5)				
IMP-11	<i>A. nosocomialis</i>	Sputum (1)	2007	26)		
	<i>A. lwoffii</i>	Not listed (1)	(From January 2001 through 2002)	25)		
	<i>A. pittii</i>	Nasal swab (1)	(From January 2004 through 2010)	31)		
IMP-19	<i>A. baumannii</i>	Nasal swab (1)	(From January 2001 through 2006)	27)		
	<i>A. bereziniae</i>	Not listed (9)				
	<i>A. johnsonii</i>	Sputum (2), urine (1), unknown (1)			(From January 2004 through 2010)	31)
	<i>A. junii</i>	Sputum (1)			(From January 2001 through 2006)	27)
	<i>A. nosocomialis</i>	Not listed (5)				
	<i>A. pittii</i>	Blood (1), sputum (2), wound (2), urine (1), unknown (3)				
	NDM-1				Not listed (1)	(From January 2001 through 2006)
		Not listed (18)	(From January 2001 through 2006)	27)		
<i>A. baumannii</i>		Not listed (1)	(From April through September 2016)	32)		
TMB-1	<i>A. baumannii</i>	Not listed (1)	November 2009	33)		
	<i>A. calcoaceticus</i>	Not listed (1)	August 2012	33)		
TMB-2	<i>Acinetobacter</i> genomic species 14BJ	Necrotic tissue (1)	July 2011	34)		
	<i>A. pittii</i>	Urine (1)	December 2011	34)		
		Urine (1)	(From 2000 through 2012)	15)		
OXA-23-like	<i>A. solii</i>	Blood (1)	May 2013	35)		
	<i>A. baumannii</i>	Sputum (4), urine (1), wound (1)	(From October 2011 through September 2012)	36)		
OXA-23		Sputum (4), urine (2), unknown (4)	(From 2000 through 2012)	15)		
	<i>A. baumannii</i>	Blood (1)	2009	28)		
		Tracheostomy stoma (1)		37)		
	<i>A. baumannii</i>	Blood (1), blood, sputum and catheter (2), sputum (8), unknown (4)	(From September 2011 through March 2013)	38)		
		Not listed (23)	(From July through 2012)	39)		
		Not listed (13)	(From April through September 2016)	32)		
		Sputum (2), pus (2), unknown (2)	2007	26)		



Table 1. (continued)

Carbapenemase	Species	Source (No. of isolates)	Isolation date (Strain collection period)	Reference
OXA-58-like	<i>A. baumannii</i> <i>A. pittii</i>	Respiratory tract (2) Pus (1)	(From 2000 through 2012)	15)
OXA-58	<i>A. pittii</i>	Sputum (1)	2007	26)
OXA-72	<i>A. baumannii</i>	Not listed (5)	(From July through 2012)	39)
-----				
Co-producer				
IMP-1-type + OXA-58-like	<i>A. nosocomialis</i> <i>A. pittii</i>	Sputum (1) Respiratory tract (2), unknown (1)	(From 2000 through 2012) (From 2000 through 2012)	15) 15)
IMP-1 + OXA-58- like	<i>A. soli</i> <i>A. ursingii</i>	Blood (1) Blood (1)	April 2011 2010	29) 30)
IMP-1 + OXA-58	<i>A. baumannii</i> <i>A. lwoffii</i>	Sputum (1) Several samples (not sputum, blood, urine, pus)	2007 2007	26) 26)
	<i>A. pittii</i>	Sputum (1), urine (1)	(From January through 2007)	26)
NDM-1 + OXA-23	<i>A. baumannii</i>	Sputum (1)	February 2011	40)

Abbreviation: TMB, Tripoli metallo- $\beta$ -lactamase

ては単独で抗菌作用を示す<sup>45)</sup>。SBTはPBPに結合することで抗菌活性を示すと考えられており、本耐性機序としてPBPの発現量の低下<sup>45)</sup>やTEM-1  $\beta$ -lactamase<sup>46)</sup>、ADC-30の過剰発現<sup>47)</sup>等が報告されているが、分子レベルでの明確な作用機序は明らかになっていない。

### 3-4. アミノグリコシド系抗菌薬耐性

細菌の持つリボソームは50Sサブユニット(5S rRNAおよび23S rRNA)と30Sサブユニット(16S rRNA)から構成されるが、アミノグリコシド系抗菌薬の多くはこの16S rRNA末端領域のAsiteと呼ばれる部位に結合することでタンパク合成を抑制する<sup>48)</sup>。本抗菌薬耐性にはアミノグリコシド系抗菌薬の不活性化に関与するアミノグリコシド修飾酵素、即ち、リン酸化酵素(aminoglycoside O-phosphotransferase: APH)、アセチル化酵素(animoglycoside N-acetyltransferase: AAC)、アダニル化酵素(adenylyltransferase: AAD)<sup>48)</sup>などが関与する。また、16S rRNA methylaseは16SrRNAにおけるアミノグリコシド系抗菌薬の作用部位を変異させることで、アミカシンなどのアミノグリコシド系抗菌薬に高度耐性を獲得することから臨床上特に重要である。16S rRNA methylaseは現在、ArmA、RmtA~H、NpmAの10種類が知られている<sup>49)</sup>。*A. baumannii*ではArmA<sup>39)50)</sup>やRmtB<sup>51)</sup>が報告されており、日本における16S rRNA methylase産生*A. baumannii*の報告

はArmAのみである(Table 2)<sup>39)50)52)~54)</sup>。

### 3-5. フルオロキノロン系抗菌薬耐性

フルオロキノロン系抗菌薬は染色体上に存在するDNAジャイレース(GyrAおよびGyrB)とトポイソメラーゼIV(ParCおよびParE)などDNA合成酵素のキノロン耐性決定領域(quinolone-resistance determining region: QRDR)に結合し、細菌のDNA合成を阻害することで抗菌作用を示す<sup>55)</sup>。本系統の薬剤耐性には本領域のアミノ残基の置換に加えて、RNDファミリーに属するエフラックスポンプ(AdeABC, AdeIJK, AdeFGH)の遺伝子変異による過剰発現が報告されている<sup>56)57)</sup>。

### 3-6. コリスチン耐性

サイクリックポリペプチド系抗菌薬であるコリスチン(ポリミキシンE)はMDRPやMDRAなどの多剤耐性グラム陰性桿菌による感染症治療において“a last resort”として使用される。また、多剤耐性を獲得した*E. coli*、*Klebsiella*属などの治療薬としても効果が期待できるが、*Proteus*属や*Providencia*属、*Serratia*属などは自然耐性を示す<sup>58)</sup>。コリスチンは陽性荷電かつ疎水性を示す抗菌薬であり、細菌の外膜を構成するlipopolysaccharide(LPS)に結合し、そのカルシウム・マグネシウムを置換することにより抗菌活性を発揮する<sup>59)</sup>。本抗菌薬の耐性機序としては二成分制御系(two-component systems: TCSs)の関与によるLPSの構造変化が知られている<sup>60)</sup>。細菌は温度

Table 2. Overviews of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter* species reported in Japan

16S rRNA methylase	Species	Source (No. of isolates)	Isolation date (Strain collection period)	Reference
ArmA	<i>A. baumannii</i>	Sputum (2), wound (1), pus (1)	(From September through October 2004)	52)
		Sputum (4), blood (1), central venous catheter (1)	(From April 2010 through March 2011)	50)
		Respiratory tract (41), urinary tract (7), blood (1)	(From July through 2012)	39)
		Tracheostomy stoma (1)		53)
		Sputum, wound and bile drains (8)	March 2010 and from August through November 2011	54)

や酸素状態など様々な外的環境を感知し、その変化に適応して生育しており、TCSsとは主にその外的環境を感知するセンサーの役割を担う PhoPQ とその情報をリン酸化という生体シグナルに変換し、外的要因に見合った蛋白の発現・調節を行う PmrAB と呼ばれる複数のタンパク質から構成される<sup>60)</sup>。*A. baumannii*におけるコリスチン耐性機序として TCSs を構成する PmrAB のアミノ残基の置換および LPS の完全欠損が関与していることが報告されている<sup>60)61)</sup>。また、*A. baumannii* がコリスチンに対してヘテロ耐性を示す可能性も報告されている<sup>62)</sup>。現在、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*)<sup>63)</sup> が問題となっているが、著者らが検索した限りアシネトバクター属菌における本耐性遺伝子保有株の報告は見つからなかった。

2016年3月に出された CLSI と EUCAST の共同勧告<sup>64)</sup>ではコリスチンの薬剤感受性試験について、現時点で推奨される薬剤感受性試験法としては微量液体希釈法のみであり、寒天希釈法やディスク拡散法は推奨されていない。また、多くの施設で使用されている自動薬剤感受性機器については Very Major Error が多いことが報告されている<sup>65)</sup>。

#### 4. アシネトバクター属菌におけるカルバペネマーゼ検出法

カルバペネマーゼ検出法として CLSI M100-S27 には、modified Hodge Test (MHT) や modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM), CarbaNP test (CNP) など菌の表現型に基づく検出法が掲載されているが、いずれの方法もアシネトバクター属菌を対象とした場合、その感度・特異度が問題となっている<sup>66)</sup>。Simner らによると、*A. baumannii* を対象とした MHT・mCIM・CNP の感度はそれぞれ 71%・71%・21%、特異度は 70%・70%・100% であり、ア

シネトバクター属菌の産生するカルバペネマーゼを正確に検出するためには既存の方法のさらなる改良または新規の検出法が必要であると報告している<sup>66)</sup>。また、腸内細菌科細菌においてはカルバペネマーゼ産生株のスクリーニング基準 (EUCAST:MEPM MIC  $\geq 0.12 \mu\text{g}/\text{mL}$ , CLSI M100-S20:MEPM MIC  $\geq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) が設定されているものの、アシネトバクター属菌のカルバペネマーゼ産生を検出するための明確なスクリーニング基準は設定されていない。よって、カルバペネマーゼ検出法を実施する際に対象となる菌株を選定する基準は各施設に委ねられている現状がある。また、カルバペネマーゼ産生アシネトバクター属菌の選択分離培地は発売されていないため、これらについては今後の課題であると考えられる。

##### 4-1. modified Hodge Test (MHT)

MHT<sup>67)</sup>は主に腸内細菌科細菌におけるカルバペネマーゼ産生菌のスクリーニング法として CLSI M100-S19 に初めて掲載されて以降、簡便かつ安価な方法として世界中の臨床微生物検査室で用いられてきた。カルバペネマーゼ産生アシネトバクター属菌における本法の感度は 31.6~95.0% であり、NDM-type および OXA-23-like を含む CHDL などの特定の遺伝子型では偽陰性が認められ、対象とするカルバペネマーゼ遺伝子群で差が認められる<sup>68)~71)</sup> ことから結果の解釈には注意が必要である。また、2016年にはMHTに使用する Muller-Hinton 寒天培地に Triton X-100 (0.2% v/v in the MHA) を含有させることで NDM-type カルバペネマーゼの検出感度を向上させた方法 (Triton Hodge Test)<sup>72)</sup> も考案されているものの、アシネトバクター属菌を対象とした報告は少なく<sup>71)</sup>、後述する mCIM の普及により CLSI M100-S28 では削除予定とされている。

#### 4-2. CarbaNP test (CNP) および CarbaAcinetoNP test (CANP)

CarbaNP test (CNP) に代表される Colorimetric assay は迅速かつ高感度、高特異度にカルバペネマーゼ産生を検出可能な方法である。CNP は 2012 年 Nordmann らによって報告<sup>73)</sup>され、2015 年以降 CLSI M100 シリーズに掲載されている。CNP はイミペネムの  $\beta$ -ラクタム環がカルバペネマーゼ存在下で加水分解されることによって生じる H<sup>+</sup>による pH の低下を pH 指示薬 (フェノール赤) の色調の変化によって捉える方法である。しかし、アシネトバクター属菌が産生する CHDL はイミペネムに対する分解速度が遅いことから CNP において偽陰性となることがあり、Dortet らはこの問題を改善する目的で、本属菌を対象とした CarbaAcineto NP test を考案している<sup>74)</sup>。Dortet らの改良点として CNP で細菌酵素抽出液として用いられる 0.02M TrisHCl バッファー (pH7.4) の代わりに 5M NaCl 溶液を用いたことが挙げられ、CNP の感度: 11.9% (18/151 株) に対して、CarbaAcineto NP test の感度は 94.7% (143/151 株) まで改善したと報告している (特異度はいずれも 100%)<sup>74)</sup>。しかし、GES-11 および GES-14 カルバペネマーゼ産生株 (8 株) はすべて陰性を示したことも報告<sup>74)</sup>しており、さらなる改良が必要であると考えられる。他にも CNP の変法として、pH 指示薬に Bromothymol blue (BTB) を用いた Blue-Carba NP test<sup>75)</sup>や pH 指示薬の代わりに金コロイドを用いた Goldnano Carba<sup>76)</sup>や細菌酵素抽出液として 0.02% cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) を用いた modified CNP test<sup>77)</sup>なども報告されている。諸外国では RAPIDEC Carba NP (bio-Merieux, France)<sup>78/79)</sup>や  $\beta$ -CARBA (Bio-Rad, USA)<sup>80)</sup>などのキットが発売されているものの、我が国においては発売されておらず、CNP を実施するにはイミペネム含有フェノール赤溶液を自家調整する必要があることから、CNP を実施している施設は少ないと考えられる。Colorimetric assay の最大の利点は迅速かつ特異度が高い点であるが、アシネトバクター属菌を対象とした場合の感度は方法間でバラツキがみられ (Table 3)、現状としては RAPIDEC<sup>®</sup> Carba NP<sup>78/79)</sup>や  $\beta$ -CARBA<sup>80)</sup>などのキットもしくは CarbaAcineto NP test が正確にアシネトバクター属菌のカルバペネマーゼを検出可能な方法である。

#### 4-3. Carbapenem Inactivation Method (CIM) および modified CIM (mCIM)

CIM は 2015 年 Zwaluw ら<sup>81)</sup>、mCIM は 2017 年に Pierce ら<sup>82)</sup>によって報告されたカルバペネマーゼ検出

法である。CLSI M10-S27 に掲載されている mCIM は腸内細菌科細菌を対象とした場合、高感度かつ高特異度、また特別な試薬および機器を要さない手軽さから臨床検査室に普及している。しかし、アシネトバクター属菌を対象とした CIM および mCIM に関する報告は少なく、いずれの報告においても検出株数および対象となる遺伝子型が限られていることから、アシネトバクター属菌を対象とした場合の CIM および mCIM のカルバペネマーゼ検出能に関しては今後の検討結果が待たれるところである。CIM の感度について、Zwaluw ら<sup>81)</sup>: 83.3% (10/12 株)、Aktas ら<sup>79)</sup>: 54.5% (24/44 株)、Simner ら<sup>66)</sup>: 28.6% (4/14 株)、特異度はいずれも 100% と報告している (Table 4)。また、mCIM の感度について Simner らは 71.4% (10/14 株) と報告<sup>66)</sup>している (Table 4)。アシネトバクター属菌 44 株 (獲得型カルバペネマーゼ産生株 29 株を含む) を対象として行った我々の検討では、感度: CIM 41.4% (12/29 株)、mCIM: 27.6% (8/29 株) といずれも低く、特に OXA-23 カルバペネマーゼ産生株に偽陰性が多くみられた。

#### 4-4. CIMTris

カルバペネマーゼ産生アシネトバクター属菌を対象とした場合の従来のカルバペネマーゼ検出法についていくつかの報告では 90% を超える感度を示しているものの、その感度にはバラツキがみられる。感度が良好とされる RAPIDEC<sup>®</sup> Carba NP (bioMerieux, France)<sup>78/79)</sup>や  $\beta$ -CARBA<sup>™</sup> (Bio-Rad, USA)<sup>80)</sup>などのキットは日本未発売であり、CarbaAcinetoNP test を自施設で実施するには試薬調整や精度管理の問題もある。そこで我々はアシネトバクター属菌におけるカルバペネマーゼを効率良く検出し、さらには一般的な臨床検査室で実践可能な方法として CIMTris を考案した<sup>83)</sup>。アシネトバクター属菌 44 株 (獲得型カルバペネマーゼ産生株 29 株を含む) を対象として行った CIMTris の感度は 93.1% (27/29 株)、特異度は 86.7% (13/15 株) であった (Table 4)。偽陰性となった OXA-58 カルバペネマーゼ産生 *A. calcoaceticus* (MEPM MIC 4  $\mu$ g/mL) と OXA-23-like カルバペネマーゼ産生 *A. radioresistens* (MEPM MIC <0.5  $\mu$ g/mL) は MEPM ディスクとの反応時間を 2 時間から 4 時間に延長することで CIMTris 陽性と判定された<sup>83)</sup>。一方、偽陽性と判定された 2 株は OXA-69 および OXA-82 カルバペネマーゼ産生 *A. baumannii* であり、どちらの株もその遺伝子上流に IS*Aba1* が確認され、MEPM MIC もそれぞれ 64  $\mu$ g/mL、16  $\mu$ g/mL であった<sup>83)</sup>。OXA-51-like 遺伝子上流に IS*Aba1* などの挿入配列が

Table 3. Accuracy of seven colorimetric assays for carbapenemase detection of *Acinetobacter* species

	No. of isolates tested	MICs ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Colorimetric Assays (Positive/isolates tested)						
		IPM	MEPM	CNP	modified CNP	GoldNano Carba	Blue-Carba	RAPIDEC CarbaNP test	$\beta$ -CARBA	CarbaAcineto NP test
Poirel et al. <sup>78)</sup>										
Acquired CPs* <sup>1</sup>	20	8->512	Not tested	18/20				17/20		
Wild type* <sup>2</sup>	12	0.12-16	Not tested	0/12				0/12		
Dortet et al. <sup>74)</sup>										
Acquired CPs* <sup>3</sup>	151	2->32	4->32	21/151						143/151
Wild type	69			2* <sup>11</sup> /69						0/69
Srisrattakarn et al. <sup>76)</sup>										
Acquired CPs* <sup>4</sup>	30	8-128	4->128	20/30		29/30				
Pires et al. <sup>75)</sup>										
Acquired CPs* <sup>5</sup>	43	0.5->32	1->32					43/43		
Wild type	4	0.5->32	0.5->32					0/4		
Bernabeu et al. <sup>80)</sup>										
Acquired CPs* <sup>6</sup>	38	6->32	8->32					37/38	37/38	37/38
Wild type	20	0.06-32	0.09-32					0/20	1/20	0/20
Bakour et al. <sup>77)</sup>										
Acquired CPs* <sup>7</sup>	44	Not tested	Not tested		44/44					
Wild type	12	Not tested	Not tested		0/12					
Aktas et al. <sup>79)</sup>										
Acquired CPs* <sup>8</sup>	44	Not tested	1->32					43/44		
Wild type	12	Not tested	0.25-1					0/12		
Sun et al. <sup>71)</sup>										
Acquired CPs* <sup>9</sup>	38	>8	>8	3/38				24/38		
Wild type	13	>8	>8	1/13				2/13		
Simner et al. <sup>66)</sup>										
Acquired CPs* <sup>10</sup>	14	Not tested	Not tested	3/14	11/14		8/14	12/14		
Sensitivity (%)				7.9-90	78.6-100	96.7	57.1-100	85-97.7	97.3	94.7-97.4
Specificity (%)				92.3-100	100		84.6-100	100	95	100

\*<sup>1</sup> "Acquired CPs" denotes acquired carbapenemase-producing *Acinetobacter* species, including NDM-1 (4 isolates), NDM-2 (1), OXA-23 (6), OXA-40 (3), OXA-58 (3), OXA-143 (1), NDM-1 + OXA-23 (1) and OXA-23 + OXA-40 (1).

\*<sup>2</sup> "Wild type" contains *A. baumannii* isolate and non-*baumannii* *Acinetobacter* species isolate not producing acquired-carbapenemase, such as GES-type, KPC-type, IMP-type, NDM-type, OXA-type except for OXA-51-like, and VIM-type.

\*<sup>3</sup> Acquired CPs: GES-type (8), IMP-type (2), NDM-type (14), SIM-1 (1), OXA-23 (68), OXA-40group (19), OXA-58group (26), OXA-143group (3), VIM-4 (1), GES-11 + OXA-23 (6) and NDM-1 + OXA-23 (3).

\*<sup>4</sup> Acquired CPs: NDM-1 (2), OXA-23like (20), OXA-58like (2), OXA-72like (5) and OXA-58 + OXA-72 (1).

\*<sup>5</sup> Acquired CPs: IMP-5 (1), NDM-1 (1), OXA-23 (14), OXA-40 (20), OXA-58like (6) and OXA-72 (1).

\*<sup>6</sup> Acquired CPs: GES-14 (1), IMP-1 (1), IMP-4 (1), NDM-1 (3), OXA-23 (9), -27 (1), -25 (2), -26 (2), -24/40 (6), -72 (3), -58 (4), -97 (1), -OXA-143 (1), -253 (1), SIM-1 (1) and VIM-4 (1)

\*<sup>7</sup> Acquired CPs: NDM-1 (10), OXA-23 (10), OXA-24 (10), OXA-58 (1), OXA-23 + OXA-24 (3) and NDM-1 + OXA-23 (10)

\*<sup>8</sup> Acquired CPs: OXA-23 (15), OXA-58 (20), OXA-23 + GES-22 (9).

\*<sup>9</sup> Acquired CPs: OXA-23 (38).

\*<sup>10</sup> Acquired CPs: NDM-type (4), OXA-23 (3), OXA-24 (3), OXA-58 (1), OXA-72 (1), NDM-type + OXA-23 (1) and OXA-23 + OXA-24 (1).

\*<sup>11</sup> Two isolates were not interpretable.



Table 4. Accuracy of CIM and mCIM for carbapenemase detection of *Acinetobacter* species

	No. of isolates tested	MICs ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Inactivation method (Positive/isolates tested)		
		IPM	MEPM	CIM	mCIM	CIMTris
Zwaluw et al. <sup>81)</sup>						
Acquired CPs* <sup>1</sup>	12	Not tested	>0.25	10/12		
Wild type <sup>2</sup>	12	Not tested	>0.25	0/12		
Aktas et al. <sup>79)</sup>						
Acquired CPs* <sup>3</sup>	44	Not tested	1->32	24/44		
Wild type	12	Not tested	0.25-1	0/12		
Simner et al. <sup>66)</sup>						
Acquired CPs* <sup>4</sup>	14	Not tested	Not tested	4/14	10/14	
Uechi et al. <sup>83)</sup>						
Acquired CPs* <sup>5</sup>	29	<0.5-128	<0.5-256	12/29	8/29	27/29
Wild type	15	<0.5-32	<0.5-64	0/15	0/15	2/15* <sup>6</sup>
Sensitivity (%)				28.6-83.3	27.6-71.4	93.1
Specificity (%)				100	100	86.7

\*<sup>1</sup> "Acquired CPs" denotes acquired carbapenemase-producing *Acinetobacter* species, including OXA-23 (11 isolates) and NDM-1 + OXA-23 (1) carbapenemase producer.

\*<sup>2</sup> "Wild type" contains *A. baumannii* isolate and non-*baumannii* *Acinetobacter* species isolate not producing acquired-carbapenemase, such as GES-type, KPC-type, IMP-type, NDM-type, OXA-type except for OXA-51-like and VIM-type.

\*<sup>3</sup> Acquired CPs: OXA-23 (15), OXA-58 (20) and GES-22 + OXA-23 (9).

\*<sup>4</sup> Acquired CPs: NDM-type (4), OXA-23 (3), OXA-24 (3), OXA-58 (1), OXA-72 (1), NDM-type + OXA-23 (1) and OXA-23 + OXA-24 (1).

\*<sup>5</sup> Acquired CPs: IMP-10 (2), -14 (1), NDM-1 (4), OXA-23 (15), -58 (1), -72 (5) and OXA-23 and OXA-58 (1)

\*<sup>6</sup> The two isolates were positive on the CIMTris, with sequencing showing the insertion of an IS*AbaI* element upstream of these intrinsic OXA-51-like carbapenemase gene.

確認できなかった *A. baumannii* およびカルバペネマーゼ産生非産生アシネトバクター属菌はすべて CIMTris 陰性であった<sup>83)</sup>。

#### 4-5. その他の方法

##### 4-5-1. MBLs 特異的阻害剤を用いた方法

MBLs は 2-メルカプトプロピオン酸 (2-mercapto-propionic acid : 2MPA) や EDTA, ジコピリン酸 (dipicolic acid : DPA) でその活性が阻害される性質をもつ。現在我が国で利用可能な方法として MBLs 阻害剤である sodium mercaptoacetic acid (SMA) を含有したメタロ- $\beta$  ラクタマーゼ SMA '榮研' (榮研化学, SMA ディスク) を用いた double-disk synergy test (DDST) や微量液体希釈法に準拠した試薬として DPA を用いたドライプレート (榮研化学), シカベータテスト I/MBL (関東化学), Etest IP/IPI (bioMeriux) があり, CLSI では mCIM に EDTA を併用することで MBLs を検出する方法 (Inhibitor-enhanced modified carbapenem inactivation method : imCIM) を検討している。いずれの方法においても特異的に MBLs

を捉えることが可能であり, SMA ディスクは日本の臨床検査室では一般的に使用されている。しかし, SMA を用いた DDST では併用するセファロスポリン系およびカルバペネム系抗菌薬ディスク, もしくは 2 薬剤の距離によっては, NDM-type MBL 産生株において偽陰性と判定されることがあることは忘れてはならない<sup>84)</sup>。

##### 4-5-2. イムノクロマト法

ミズホメディー社から販売されているクイックチェイサーはイムノクロマト法を検出原理とし, IMP 型 MBL とアミノグリコシド系抗菌薬耐性因子の一つであるアミノグリコシド 6'-N-アセチル基転移酵素 AAC (6')-Iae を同時に検出可能である。培地上に発育してきた複数の菌コロニーを用いて検査を行うことで 30 分以内に判定が可能であるため非常に有用であるが, IMP-type MBL 以外のカルバペネマーゼは検出できないため, 本キット陰性であった場合には CNP や CIM など, 他の検出法を併用する必要がある。

#### 4-5-3. Mass Spectrometry を用いたカルバペネマーゼの検出

近年, Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) および Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) などの技術を用いて *A. baumannii* におけるカルバペネマーゼ産生を検出する方法も報告されている<sup>85)86)</sup>。これらの方法ではカルバペネマーゼによるカルバペネム系抗生薬の分解を, あらかじめ用意したイミベネム溶液と分離菌を混合し4時間反応させることで, イミベネムの分子量の変化を mass spectrometry で測定する方法である。これらの方法は感度・特異度がともに優れていることが報告されており<sup>85)86)</sup>, かつ迅速な結果報告が可能であることから我が国の臨床検査室においても今後普及することが期待される。

#### 5. おわりに

現在, 薬剤耐性菌の問題は楽観視できる状況ではなく, イギリスの経済学者 Jim O'Neill は「2050年には薬剤耐性菌感染症で年間1千万人(3秒に1人が死ぬレベル)を死に至らしめ, 世界経済に100兆ドルの損失を与える可能性がある」と報告している<sup>87)</sup>。特に, 2015年5月にスイスで開催された World Health Organization (WHO) では薬剤耐性 (Antimicrobial resistance: AMR) に関するグローバルアクションプランが採択され, 加盟各国は2年以内に国家行動計画を策定することを求められた。これを受け, 我が国においても, 2016年に厚生労働省において薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランが取りまとめられたことにより, 薬剤耐性菌に対する関心がより一層高まっている。

我が国における MDRA などの多剤耐性菌の分離率は未だ低率であることが示されているが, 海外からの持ち込みを契機としたカルバペネマーゼ産生菌による院内伝播事例が増加している。このような現状を鑑みると, 各医療機関においては持ち込まれた薬剤耐性菌をいかに早く封じ込め, 拡げないための監視体制を構築することが重要であり, 臨床微生物検査室は迅速かつ正確な結果報告が求められるところである。本稿では *A. baumannii* における薬剤耐性とカルバペネマーゼ検出法を中心に概説した。本菌の正確な菌種同定には遺伝子学的な手法が必要であり, 本稿に記載した方法ですべてのカルバペネマーゼを検出することは困難である。特に, 本菌が産生するカルバペネマーゼを正確に検出するための検査法は必ずしも十分な評価がな

されていない。また, アシネトバクター属菌を対象としたカルバペネマーゼ検出のための明確なスクリーニング基準は設定されておらず, 各施設に委ねられている現状もあることから, 検査に用いる菌株をどのように選定するかが重要である。今後, 本属菌が産生するカルバペネマーゼを正確に検出する方法が確立され, 我が国においても薬剤耐性アシネトバクターの疫学情報を充実されることが望まれる。

感染症診療および感染制御において我々臨床微生物検査技師が担う役割は非常に大きい。よって, 我々は菌の特徴を知り, それぞれの検査法の特長, 感度および特異度を正しく理解し, 日常検査の中で実践していくことが肝要である。そのためには常に新しい情報を収集する能力を磨き, 国内のみならず海外の情報に目を向けなければならない。また, 臨床検査技師間のみならず多職種と連携を図るためのネットワークを構築することも必要である。最後に, 本稿で概説した内容が今後の日常検査の一助となれば幸いである。

**謝辞:** 本総説には沖縄県感染症拠点形成促進事業の一環として行った共同研究の内容が一部含まれます。順天堂大学大学院医学研究科微生物学 多田達也先生をはじめ琉球大学医学部附属病院第一内科 仲松正司先生, ご指導賜りました諸先生方に深謝申し上げます。

**利益相反:** 申告すべき利益相反なし。

#### 文 献

- 1) Schwaber, M.J., Y. Carmeli. 2008. Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. A Potential Threat. *JAMA*. 300 (24): 2911-2913.
- 2) Gniadek, T.J., K.C. Carroll, P.J. Simner. 2016. Carbapenem-resistant non-glucose-fermenting Gram-negative bacilli: the missing piece to the puzzle. *J Clin Microbiol* 54: 1700-1710. 10.1128/JCM.03264-15 [doi].
- 3) Peleg, A.Y., H. Seifert, D.L. Paterson. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 21 (3): 538-582. doi: 10.1128.
- 4) 高田 徹. 2010. 韓国からの持ち込み例を端緒とした多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* によるアウトブレイク事例. *IASR* 31 (7): 197-198.
- 5) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) 検査部門公開情報 <http://www.nih-janis.jp/report/kensa.html>. 2017年12月28日現在.
- 6) European Centre for Disease Prevention and Control. 2017. Antimicrobial resistance surveillance in Europe

2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).
- 7) Weiner, L.M., A.K. Webb, B. Limbago, et al. 2016. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2011-2014. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 37 (11): 1288-1301. Epub 2016 Aug 30.
  - 8) Gao, L., Y. Lyu, Y. Li. 2017. Trends in drug resistance of *Acinetobacter baumannii* over a 10-year period: Nationwide data from the China surveillance of antimicrobial resistance program. *Chin Med J (Engl)*. 130 (6): 659-664. doi: 10.4103/0366-6999.201601.
  - 9) Kim, D., J.Y. Ahn, C.H. Lee. 2017. Increasing resistance to extended-spectrum cephalosporins, fluoroquinolone, and carbapenem in gram-negative bacilli and the emergence of carbapenem non-susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*: Analysis of Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System (KARMS) data from 2013 to 2015. *Ann Lab Med.* 37 (3): 231-239. doi: 10.3343/alm.2017.37.3.231.
  - 10) Vanechouhutte, M., A. Nemeč, P. Kampeer, et al. 2015. *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. p. 813-819. In: *Manual of clinical microbiology*, 11<sup>th</sup> ed (J. Jorgensen, M.A. Pfaller, K.C. Carroll, et al ed.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
  - 11) List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN), <http://www.bacterio.net/acinetobacter.html>. 2017年12月23日現在.
  - 12) Munoz-Price, L.S., R.A. Weinstein. 2008. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med.* 358 (12): 1271-1281. doi: 10.1056/NEJMra070741.
  - 13) 荒川宜親. 2015. 多剤耐性 *Acinetobacter* 感染症の全例報告化の意義—多剤耐性 *Acinetobacter* と感染症法. *モダンメディア* 61 (7): 193-201.
  - 14) Endo, S., H. Yano, Y. Hirakata, et al. 2012. Molecular epidemiology of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 67 (7): 1623-1626. doi: 10.1093/jac/dks094. Epub 2012 Mar 23.
  - 15) Matsui, M., S. Suzuki, K. Yamane, et al. 2014. Distribution of carbapenem resistance determinants among epidemic and non-epidemic types of *Acinetobacter* species in Japan. *J Med Microbiol.* 63 (Pt 6): 870-877. doi: 10.1099/jmm.0.069138-0. Epub 2014 Mar 5.
  - 16) 松井真理, 鈴木里和, 鈴木仁人, 他. 2014. わが国で分離されるアシネトバクテリウム属菌の分子疫学解析. *IASR* 35 (12): 291-293.
  - 17) Chuang, Y.C., W.H. Sheng, S.Y. Li. 2011. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *Acinetobacter* bacteremia. *Clin Infect Dis.* 52 (3): 352-360. doi: 10.1093/cid/ciq154. Epub 2010 Dec 30.
  - 18) Nemeč, A., L. Krizova, M. Maixnerova, et al. 2011. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Res Microbiol.* 162 (4): 393-404. doi: 10.1016/j.resmic.2011.02.006. Epub 2011 Feb 12.
  - 19) La Scola, B., V.A. Gundi, A. Khamis, et al. 2006. Sequencing of the *rpoB* gene and flanking spacers for molecular identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol.* 44 (3): 827-832.
  - 20) Suzuki, M., E. Hosoba, M. Matsui, et al. 2014. New PCR-Based Open Reading Frame Typing Method for Easy, Rapid, and Reliable Identification of *Acinetobacter baumannii* International Epidemic Clones without Performing Multilocus Sequence Typing. *J Clin Microbiol.* 52 (8): 2925-2932. doi: 10.1128/JCM.01064-14. Epub 2014 Jun 4.
  - 21) Bou, G., J. Martínez-Beltrán. 2000. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 44 (2): 428-432.
  - 22) Potron, A., L. Poirel, P. Nordmann. 2015. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents.* 45 (6): 568-585. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001. Epub 2015 Mar 24.
  - 23) Nowak, P., P. Paluchowska. 2016. *Acinetobacter baumannii*; biology and drug resistance- role of carbapenemases. *Folia Histochem Cytobiol* 54 (2): 61-74.
  - 24) Wong, D., T.B. Nielsen, R.A. Bonomo, et al. 2017. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: A century of challenges. *Clin Microbiol Rev.* 30 (1): 409-447.
  - 25) Shibata, N., Y. Doi, K. Yamane, et al. 2003. PCR typing of genetic determinants for metallo-β-lactamases and

- integras carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J Clin Microbiol.* 41 (12): 5407-5413.
- 26) Kouyama, Y., S. Harada, Y. Ishii, et al. 2012. Molecular characterization of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter* spp. in Japan: predominance of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 92 and IMP-type metallo- $\beta$ -lactamase-producing non-*baumannii* *Acinetobacter* species. *J Infect Chemother.* 18 (4): 522-528. doi: 10.1007/s10156-012-0374-y. Epub 2012 Feb 14.
- 27) Yamamoto, M., M. Nagao, Y. Matsumura, et al. 2013. Regional dissemination of *Acinetobacter* species harbouring metallo- $\beta$ -lactamase genes in Japan. *Clin Microbiol Infect.* 19 (8): 729-736. doi: 10.1111/1469-0691.12013. Epub 2012 Sep 25.
- 28) Kishii, K., K. Kikuchi, A. Yoshida, et al. 2014. Antimicrobial susceptibility profile of *Acinetobacter* species isolated from blood cultures in two Japanese university hospitals. *Microbiol Immunol.* 58 (2): 142-146. doi: 10.1111/1348-0421.12117.
- 29) Endo, S., M. Sasano, H. Yano, et al. 2012. First Carbapenem-Resistant Isolates of *Acinetobacter soli* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 56 (5): 2786-2787. doi: 10.1128/AAC.00021-12. Epub 2012 Feb 21.
- 30) Endo, S., M. Sasano, H. Yano, et al. 2012. IMP-1-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter ursingii* from Japan. *J Antimicrob Chemother.* 67 (10): 2533-2534. doi: 10.1093/jac/dks249. Epub 2012 Jun 25.
- 31) Yamamoto, M., M. Nagao, Y. Matsumura, et al. 2011. Interspecies dissemination of a novel class 1 integron carrying *bla*IMP-19 among *Acinetobacter* species in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 66 (11): 2480-2483. doi: 10.1093/jac/dkr336. Epub 2011 Aug 22.
- 32) Funaki, T., T. Yasuhara, A. Sekiguchi, et al. 2017. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated at Showa university hospital, 2011-2016. *Rinsho Byori.* 65 (10): 1073-1081.
- 33) Kayama, S., N. Shigemoto, W. Shimizu, et al. 2014. Tripoli metallo- $\beta$ -lactamase-1 (TMB-1)-producing *Acinetobacter* spp. with decreased resistance to imipenem in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 58 (4): 2477-2478. doi: 10.1128/AAC.01790-13. Epub 2014 Jan 21.
- 34) Suzuki, S., M. Matsui, M. Suzuki, et al. 2013. Detection of tripoli metallo- $\beta$ -lactamase 2 (TMB-2), a variant of *bla*TMB-1, in clinical isolates of *Acinetobacter* spp. in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 68 (6): 1441-1442. doi: 10.1093/jac/dkt031. Epub 2013 Feb 6.
- 35) Kitanaka, H., M. Sasano, S. Yokoyama, et al. 2014. Invasive Infection Caused by Carbapenem-Resistant *Acinetobacter soli*, Japan. *Emerg Infect Dis.* 20 (9): 1574-1576. doi: 10.3201/eid2009.140117.
- 36) 吉田真由美, 益田洋子, 井上大奨, 他. 2014. 当院で実施した多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* (MDRA) の院内伝播抑制策の検討. *環境感染誌* 29 (2): 93-99.
- 37) Tojo, M., M. Mawatari, K. Hayakawa, et al. 2015. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from a traveler returned from Brunei. *J Infect Chemother.* 21 (3): 212-214. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.029. Epub 2014 Oct 23.
- 38) Ushizawa, H., Y. Yahata, T. Endo, et al. 2016. An epidemiological investigation of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a critical care center in Japan, 2011-2012. 2016. *Jpn J Infect Dis.* 69 (4): 356. doi: 10.7883/yoken.JJID.2016.E002.
- 39) Tada, T., T. Miyoshi-Akiyama, K. Shimada, et al. 2014. Dissemination of 16S rRNA methylase *ArmA*-producing *Acinetobacter baumannii* and emergence of OXA-72 carbapenemase coproducers in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 58 (5): 2916-2920. doi: 10.1128/AAC.01212-13. Epub 2014 Feb 18.
- 40) Nakazawa, Y., R. Ii, T. Tamura, et al. 2013. A case of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* transferred from India to Japan. *J Infect Chemother.* 19 (2): 330-332. doi: 10.1007/s10156-012-0469-5. Epub 2012 Sep 12.
- 41) Bonnin, R.A., P. Nordmann, A. Potron, et al. 2011. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 55 (1): 349-354. doi: 10.1128/AAC.00773-10. Epub 2010 Oct 18.
- 42) Robledo, I.E., E.E. Aquino, M.I. Santé, et al. 2010. Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrob Agents Chemother.* 54 (3): 1354-1357. doi: 10.1128/AAC.00899-09. Epub 2009 Dec 28.
- 43) Higgins, P.G., C. Dammhayn, M. Hackel, et al. 2010. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 65 (2): 233-238. doi: 10.1093/jac/dkp428. Epub 2009 Dec 8.
- 44) Mugnier, P.D., L. Poirel, T. Naas, et al. 2010. Worldwide dissemination of the *bla*<sub>OXA-23</sub> carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis.* 16 (1): 35-40. doi: 10.3201/eid1601.090852.



- 45) Penwell, W.F., A.B. Shapiro, R.A. Giacobbe, et al. 2015. Molecular mechanisms of sulbactam antibacterial activity and resistance determinants in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 59 (3): 1680-1689. doi: 10.1128/AAC.04808-14. Epub 2015 Jan 5.
- 46) Krizova, L., L. Poirel, P. Nordmann, et al. 2013. TEM-1  $\beta$ -lactamase as a source of resistance to sulbactam in clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 68 (12): 2786-2791. doi: 10.1093.
- 47) Kuo, S.C., Y.T. Lee, T.L. Yang Lauderdale, et al. 2015. Contribution of *Acinetobacter*-derived cephalosporinase-30 to sulbactam resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 25; 6: 231. doi: 10.3389/fmicb.2015.00231. eCollection 2015.
- 48) Wachino, J., Y. Arakawa. 2012. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resist Updat.* 15 (3): 133-148. doi: 10.1016/j.drug.2012.05.001. Epub 2012 Jun 4.
- 49) Doi, Y., J. Wachino, Y. Arakawa. 2016. Aminoglycoside resistance: The emergence of acquired 16S ribosomal RNA methyltransferases. *Infect Dis Clin North Am.* 30: 523-537.
- 50) Yamada, Y., A. Suwabe. 2013. Diverse carbapenem-resistance mechanisms in 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii*. *J Med Microbiol.* 62 (4): 618-622. doi: 10.1099/jmm.0.048991-0. Epub 2012 Dec 21.
- 51) Tada, T., T. Miyoshi-Akiyama, Y. Kato. 2013. Emergence of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in hospitals in Vietnam. *BMC Infect Dis.* 13: 251.
- 52) Yamane, K., J. Wachino, S. Suzuki, et al. 2007. 16S rRNA methylase-producing, gram-negative pathogens, Japan. *Emerg Infect Dis.* 13 (4): 642-646.
- 53) Tojo, M., M. Mawatari, K. Hayakawa. 2015. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from a traveler returned from Brunei. *J Infect Chemother.* 21 (3): 212-214. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.029. Epub 2014 Oct 23.
- 54) Asai, S., K. Umezawa, H. Iwashita. 2014. An outbreak of *bla*<sub>OXA-51-like</sub>- and *bla*<sub>OXA-66</sub>-positive *Acinetobacter baumannii* ST208 in the emergency intensive care unit. *J Med. Microbiol.* 63: 1517-1523. doi: 10.1099/jmm.0.077503-0.
- 55) 山根一和. 2015. プラスミドによる薬剤耐性の菌種間伝播と施設内感染. 各論 3. グラム陰性菌におけるプラスミド媒介性の薬剤耐性の特長. 2) キノロン耐性. *化学療法の領域* 31 (7): 93-99.
- 56) Coyne, S., N. Rosenfeld, T. Lambert, et al. 2010. Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54 (10): 4389-4393. doi: 10.1128/AAC.00155-10. Epub 2010 Aug 9.
- 57) Chiu, C.H., H.Y. Lee, L.Y. Tseng, et al. 2010. Mechanisms of resistance to ciprofloxacin, ampicillin-sulbactam and imipenem in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents.* 35 (4): 382-386. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.009. Epub 2010 Feb 6.
- 58) Caniaux, I., A. van Belkum, G. Zambardi, et al. 2017. MCR: modern colistin resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 36 (3): 415-420. doi: 10.1007/s10096-016-2846-y. Epub 2016 Nov 21.
- 59) コリスチンの適正使用に関する指針作成委員会 二木芳人, 館田一博, 藤村 茂, 他. 2012. コリスチンの適正使用に関する指針—改訂版—. *日治療誌* 60 (4): 446-468.
- 60) Olaitan, A.O., S. Morand, J.M. Rolain. 2014. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 26 (5): 1-18. doi: 10.3389/fmicb.2014.00643. eCollection 2014.
- 61) Moffatt, J.H., M. Harper, P. Harrison, et al. 2010. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother.* 54 (12): 4971-4977. doi: 10.1128/AAC.00834-10. Epub 2010 Sep 20.
- 62) Li, J., C.R. Rayner, R.L. Nation, et al. 2006. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 50 (9): 2946-2950.
- 63) Liu, Y.Y., Y. Wang, T.R. Walsh, et al. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 16 (2): 161-168. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7. Epub 2015 Nov 19.
- 64) EUCAST. EUCAST Warning concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures—Antimicrobial susceptibility testing of colistin—problems detected with several commercially available products. 2016. [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/warnings/#c13111](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/#c13111). 2017年12月29日現在.

- 65) Vourli, S., K. Dafopoulou, G. Vriani, et al. 2017. Evaluation of two automated systems for colistin susceptibility testing of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother.* 72 (9): 2528-2530. doi: 10.1093/jac/dkx186.
- 66) Simner, P.J., B.N.A. Opene, K.K. Chambers, et al. 2017. Carbapenemase Detection among Carbapenem-Resistant Glucose-Nonfermenting Gram-Negative Bacilli. *J Clin Microbiol.* 55 (9): 2858-2864. doi: 10.1128/JCM.00775-17. Epub 2017 Jul 12.
- 67) Anderson, K.F., D.R. Lonsway, J.K. Rasheed, et al. 2007. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 45 (8): 2723-2725. Epub 2007 Jun 20.
- 68) Bonnin, R.A., T. Naas, L. Poirel, et al. 2012. Phenotypic, biochemical, and molecular techniques for detection of metallo- $\beta$ -lactamase NDM in *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 50 (4): 1419-1421. doi: 10.1128/JCM.06276-11. Epub 2012 Jan 18.
- 69) 村 竜輝, 川村久美子, 荒川宜親. 2015. Modified Hodge Test におけるエルタベナムディスクの有用性の評価および検査精度向上の試み. 2015. 日微誌 25 (1): 42-50.
- 70) Lee, W., H.S. Chung, Y. Lee, et al. 2013. Comparison of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry assay with conventional methods for detection of IMP-6, VIM-2, NDM-1, SIM-1, KPC-1, OXA-23, and OXA-51 carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 77 (3): 227-230. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.005. Epub 2013 Aug 28.
- 71) Sun, K., X. Xu, J. Yan, et al. 2017. Evaluation of six phenotypic methods for the detection of carbapenemases in gram-negative bacteria with characterized resistance mechanisms. *Ann Lab Med.* 37 (4): 305-312. doi: 10.3343/alm.2017.37.4.305.
- 72) Pasteran, F., L.J. Gonzalez, E. Albornoz, et al. 2016. Triton Hodge test: Improved protocol for modified Hodge test for enhanced detection of NDM and other carbapenemase producers. *J Clin Microbiol.* 54 (3): 640-649. doi: 10.1128/JCM.01298-15. Epub 2015 Dec 30.
- 73) Nordmann, P., L. Poirel, L. Dortet. 2012. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 18 (9): 1503-1507. doi: 10.3201/eid1809.120355.
- 74) Dortet, L., L. Poirel, C. Errera, et al. 2014. CarbAcinet NP test for rapid detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol.* 52 (7): 2359-2364. doi: 10.1128/JCM.00594-14. Epub 2014 Apr 23.
- 75) Pires, J., A. Novais, L. Peixe. 2013. Blue-carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures. *J Clin Microbiol.* 51 (12): 4281-4283. doi: 10.1128/JCM.01634-13. Epub 2013 Oct 9.
- 76) Srisrattakarn, A., A. Lulitanond, C. Wilailuckana, et al. 2017. A novel GoldNano Carb test for rapid phenotypic detection of carbapenemases, particularly OXA type, in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother.* 72 (9): 2519-2527. doi: 10.1093/jac/dkx156.
- 77) Bakour, S., V. Garcia, L. Loucif, et al. 2015. Rapid identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbes New Infect.* 7: 89-93. doi: 10.1016/j.nmni.2015.07.001. eCollection 2015 Sep.
- 78) Poirel, L., P. Nordmann. 2015. Rapidec Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase Producers. *J Clin Microbiol.* 53 (9): 3003-3008. doi: 10.1128/JCM.00977-15. Epub 2015 Jun 17.
- 79) Aktaş, E., G. Malkoçoğlu, B. Otlı, et al. 2017. Evaluation of the carbapenem inactivation method for detection of carbapenemase-producing gram-negative bacteria in comparison with the RAPIDEC CARBA NP. *Microb Drug Resist.* 23 (4): 457-461. doi: 10.1089/mdr.2016.0092. Epub 2016 Aug 30.
- 80) Bernabeu, S., L. Dortet, T. Naas. 2017. Evaluation of the  $\beta$ -CARBA™ test, a colorimetric test for the rapid detection of carbapenemase activity in Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother.* 72 (6): 1646-1658. doi: 10.1093/jac/dkx061.
- 81) van der Zwaluw, K., A. de Haan, G.N. Pluister, et al. 2015. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS. One.* 10 (3): e0123690.
- 82) Pierce, V.M., P.J. Simner, D.R. Lonswaym, et al. 2017. Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 55 (8): 2321-2333. doi: 10.1128/JCM.00193-17. Epub 2017 Apr 5.
- 83) Uechi, K., T. Tada, K. Shimada, et al. 2017. A modified carbapenem inactivation method, CIMTris, for carbapenemase production in *Acinetobacter* and

- Pseudomonas* species. J Clin Microbiol. 55 (12): 3405-3410. doi: 10.1128/JCM.00893-17. Epub 2017 Sep 27.
- 84) Wachino, J., M. Matsui, H.H. Tran, et al. 2014. Evaluation of a double-disk synergy test with a common metallo- $\beta$ -lactamase inhibitor, mercaptoacetate, for detecting NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii*. Jpn J Infect Dis. 67 (1): 66-68.
- 85) Kempf, M., S. Bakour, C. Flaudrops, et al. 2012. Rapid detection of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. PLoS One. 7 (2): e31676. doi: 10.1371/journal.pone.0031676. Epub 2012 Feb 16.
- 86) Lin, H.R., A. Hu, M.J. Lai, et al. 2016. Rapid and sensitive detection of carbapenemase activity in *Acinetobacter baumannii* using superficially porous liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Microbiol Immunol Infect. 49 (6): 910-917. doi: 10.1016/j.jmii.2015.08.001. Epub 2015 Aug 14.
- 87) Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, the O'Neill Commission, UK, December 2014.

### Drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ~ An overview of methods for detecting their carbapenemase production ~

Kohei Uechi<sup>1) 2)</sup>, Teruo Kirikae<sup>3) 4)</sup>, Jiro Fujita<sup>2)</sup>, Shiro Maeda<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Clinical Laboratory and Blood Transfusion, University Hospital of the Ryukyus, Okinawa, Japan

<sup>2)</sup>Department of Infectious Diseases, Respiratory, and Digestive Medicine, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

<sup>3)</sup>Department of Microbiology, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>4)</sup>Department of Infectious Disease, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine, Tokyo, Japan

The emergence and dissemination of drug-resistant Gram-negative bacilli, i.e. carbapenem-resistance, have been recognized as a serious health concern worldwide. *Acinetobacter baumannii*, a known nosocomial pathogen isolated in hospitals, is particularly important showing the highest incidence rate of isolation among *Acinetobacter* species and the propensity to acquire early antibiotic resistance. Many outbreaks of multidrug-resistant *Acinetobacter* species (MDRA) and the spread of OXA-23-like carbapenemase producing *Acinetobacter* species have been reported worldwide, with outbreaks of MDRA also reported sporadically in Japan. According to Japanese Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) 2016, the susceptibility of *Acinetobacter* species to carbapenem and other antimicrobial drugs is relatively good, but it is necessary to make close attention for the dissemination of MDRA in Japan. The main mechanism of carbapenem-resistance in *A. baumannii* is explained by a production of carbapenem hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase (CHDL), including OXA-51-like, OXA-23-like and OXA-58-like CHDL. It is acknowledged that current phenotypic tests for carbapenemase-production of *Acinetobacter* species have sensitivity and specificity shortfalls. An accurate detection method is required to avoid the spread of this pathogen in the future. In this review, we focus on *A. baumannii* to discuss the current situation of drug-resistance and detection methods in carbapenemase-producing *Acinetobacter* species.