

[原 著]

近畿大学病院におけるカルバペネム非感性グラム陰性桿菌に対するセフィデロコルの  
薬剤感受性評価：微量液体希釈法とディスク拡散法の比較検討

古垣内美智子<sup>1)2)</sup>・上裕俊法<sup>1)3)</sup>・吉田耕一郎<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 近畿大学病院中央臨床検査部

<sup>2)</sup> 近畿大学病院安全管理センター感染対策部

<sup>3)</sup> 近畿大学医学部臨床検査医学

(令和7年5月22日受付, 令和7年7月7日受理)

近年、カルバペネム耐性グラム陰性桿菌の増加が大きな問題となっている。2023年11月にセフィデロコル(cefiderocol, 以下CFDC)が国内で承認され、その臨床的有用性が期待されている。今回、当院で分離されたカルバペネム非感性グラム陰性桿菌60株を用いてCFDCの微量液体希釈法とディスク拡散法による感受性測定の見直しを行った。CLSI M100-Ed35に従って測定し、評価した。微量液体希釈法の試験に供した全60株に対するMIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub>は各々0.25、2 µg/mL、感性率は95.0% (57/60)、中間耐性率は3.3% (2/60)、耐性率は1.7% (1/60)であった。腸内細菌目細菌とブドウ糖非発酵菌の各々の結果は、MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub>はいずれも0.25、2 µg/mL、感性率は93.3%、96.7%、中間耐性率は6.7%、0.0%、耐性率は0.0%、3.3%であった。ディスク拡散法では全株感性であった。2法間のカテゴリー一致率は95.0% (57/60)であった。カテゴリー不一致の3株のうち2株は、微量液体希釈法で中間耐性、ディスク拡散法で感性であった。*Acinetobacter baumannii* 1株では2法間で感性和耐性の乖離となり、追加試験を行ったが原因は特定できなかった。*Acinetobacter* spp.は今後更なる検討が必要であると考えられた。

**Key words:** cefiderocol, trailing 現象, *Acinetobacter*, セフィデロコル, カルバペネム非感性グラム陰性桿菌

序 文

カルバペネム耐性グラム陰性桿菌の増加は世界中で問題となっている。World Health Organization (以下, WHO) は新規抗菌薬の開発が必要とされる「WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024」のcritical groupにカルバペネム耐性 *Acinetobacter baumannii*, カルバペネム耐性腸内細菌目細菌(carbapenem-resistant Enterobacterales, 以下CRE)を、high groupにカルバペネム耐性 *Pseudomonas aeruginosa* を分類している<sup>1)</sup>。

薬剤耐性菌が世界的に増加する一方、新規抗菌薬の開発は停滞している。その中で、新規のシデロフォアセファロスポリン系抗菌薬であるセフィデロコル(cefiderocol, 以下CFDC)が2023年11月に国内で承認された。CFDCはCRE、カルバペネム耐性 *P. aeruginosa*, カルバペネム耐性 *Acinetobacter* などのカルバペネム耐性グラム陰性桿菌に対して幅広い抗菌活性を示し<sup>2)</sup>、その高い有効性が期待される。

今回、当院で検出された臨床分離カルバペネム非感性グラム陰性桿菌の、CFDCに対する薬剤感受性と、trailing 現象

が疑われ、判定に苦慮した *A. baumannii* 1株の見直しを行ったので報告する。

材料と方法

1) 対象株

当院で2016年2月～2025年1月に各種臨床材料から分離されたカルバペネム非感性グラム陰性桿菌60株を対象とした。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-Ed35<sup>3)</sup>に準拠して腸内細菌目細菌に対してはimipenem/cilastatin (IPM/CS) またはmeropenem (MEPM) のMIC値が $\geq 2$  µg/mL、*P. aeruginosa* および *Acinetobacter* spp. に対しては $\geq 4$  µg/mLの場合をカルバペネム非感性と判定した。*Stenotrophomonas maltophilia* は、カルバペネム系抗菌薬に内因性耐性を示すため、MICによる定義は行わなかった。内訳は腸内細菌目細菌30株、ブドウ糖非発酵菌30株、カルバペネマーゼ産生性についてTable 1に示した。対象株は-80℃でスキムミルクに保存していたものを数回継代培養後に使用した。耐性表現型の確認のため、腸内細菌目細菌はVITEK 2 AST-N268カード(バイオメリュージャパン社)を、ブドウ糖非発酵菌はVITEK 2 AST-N229カード(バイオメリュージャパン社)を用いてVITEK 2(バイオメリュージャパン社)で再度感受性を測定した。精度管理株として、*Escherichia coli* ATCC 25922と *P. aeruginosa* ATCC 27853を用いた。

著者連絡先：(〒589-8511) 大阪府大阪狭山市大野東 377-2  
近畿大学病院中央臨床検査部  
古垣内美智子  
TEL: 072-366-0221 内線 2193  
FAX: 072-366-0201  
E-mail: michiko-furugaito@med.kindai.ac.jp

Table 1. Strains used for Cefiderocol (CFDC) antimicrobial susceptibility

Strains	n	Carbapenemase-producing strains
Enterobacterales		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CRE (non-CPE)	18	0
<i>Escherichia coli</i> CRE (CPE)	6	5 (IMP-type), 1 (NDM-1)
<i>Klebsiella aerogenes</i> CRE (non-CPE)	4	0
<i>Enterobacter cloacae</i> complex CRE (non-CPE)	2	0
Total of Enterobacterales	30	6 (20.0%)
Glucose non-fermenting bacteria		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Carbapenem and quinolone or aminoglycoside resistant strains/MDRP)	15 (9/6)	1 (VIM-2)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	13	13 (L-1: chromosomal)
<i>Acinetobacter baumannii</i> / <i>Acinetobacter soli</i>	1/1	1 (ISAba1 insertion upstream of bla <sub>OXA-51-like</sub> )/1 (NDM-1)
Total of glucose non-fermenting bacteria	30	16 (53.3%)

CRE: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CPE: carbapenemase-producing Enterobacteriaceae

MDRP: multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, Resistant to carbapenems, quinolones, and aminoglycosides

Table 2. Breakpoints for CFDC in CLSI M100-Ed35

Species	Broth microdilution method MIC (μg/mL)			Disk diffusion method zone diameter (mm)		
	S	I	R	S	I	R
Enterobacterales	≤4	8	≥16	≥16	9-15	≤8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤4	8	≥16	≥18	13-17	≤12
<i>Acinetobacter</i> spp.	≤4	8	≥16	≥15	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	≤1	-	-	≥15	-	-

S: susceptible, I: intermediate, R: resistant

## 2) CFDC の薬剤感受性試験

CLSI M100-Ed35<sup>3)</sup>に準拠した。微量液体希釈法は、鉄欠乏ミューラーヒントンプロスとセフィデロコルが固相化されたMICドライブプレートセフィデロコル(極東製薬工業)を用いた。ディスク拡散法は栄研化学のポアメディアミューラーヒントンS寒天培地とKBディスク栄研セフィデロコル(30 μg(力価))を用いた。培養条件は35°C ± 2°Cで大気培養した。培養時間は、腸内細菌目細菌と*P. aeruginosa*の微量液体希釈法は16~20時間、ディスク拡散法は16~18時間、*S. maltophilia*, *Acinetobacter* spp.はいずれも20~24時間とした。感受性の判定はCLSI M100-Ed35<sup>3)</sup>のブレイクポイント(Table 2)を用いた。CFDCに対する*Acinetobacter* spp.のブレイクポイントは*A. baumannii* complexのみに適応とされているが、本検討では*A. baumannii* complexに含まれない*Acinetobacter soli*にもブレイクポイントを適用した。

## 3) 検討内容

①全体ならびに菌種別の微量液体希釈法とディスク拡散法の感受率、中間耐性率、耐性率の算出

微量液体希釈法はMIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> (μg/mL), ディスク拡散法は阻止円径(mm)の平均値 ± 標準偏差(SD)を算出した。

②全体ならびに菌種別の微量液体希釈法とディスク拡散法のカテゴリー一致率の算出

カテゴリー一致率の定義は、微量液体希釈法とディスク拡散法間の菌種別の感性、中間耐性、耐性の一一致率とした。

また、微量液体希釈法をreferenceとして、微量液体希釈法が耐性、ディスク拡散法が感性の場合をvery major error(以下VME)、微量液体希釈法が感性、ディスク拡散法が耐性の場合をmajor error(以下ME)、微量液体希釈法とディスク拡散法の間で感性と中間耐性、中間耐性と耐性の違いが生じる場合をminor error(以下mE)とした。各指標(VME, ME, mE)の割合(%)は、それぞれ該当する株数を全60株で除し、100を乗じて算出した(VME% = VME株数 ÷ 60 × 100。ME%, mE%も同様に算出した)。

③カルバペネム非感性グラム陰性桿菌におけるカルバペネマーゼ産生菌(carbapenemase-producing, 以下CP)と非産生菌(non-CP)菌のMIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub>の算出

non-CP-腸内細菌目細菌の24株と、non-CP-*P. aeruginosa* 14株についてMIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub>を算出した。CP産生菌は株数が少ないため、算出できなかった。

④VMEと判定された*A. baumannii* 1株の追加試験

追加試験として、微量液体希釈法とディスク拡散法を再測定した。さらに、最小殺菌濃度(minimum bactericidal concentration, 以下MBC)とMICドライブプレートセフィデロコルの各wellからのグラム染色とサブカルチャーを行った。

MBCは生残菌量が接種菌量の0.1%以下となる最小濃度と定義されている。すなわち各well(100 μL)には終濃度5 × 10<sup>4</sup> CFU/wellの菌液を接種しているため、1 μL中では5 × 10<sup>2</sup> CFUとなる。この培養液のwell内の菌量が1 CFU/2 μL以下となる最小の抗菌薬濃度がMBCである。その手順

Table 3. Results of broth dilution and disk diffusion methods for CFDC

Species	n	Broth microdilution method					Disk diffusion method	
		MIC <sub>50</sub> (μg/mL)	MIC <sub>90</sub> (μg/mL)	S (%)	I (%)	R (%)	zone diameter (mm)	S (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CRE (non-CPE)	18	0.25	2	17 (94.4)	1 (5.6)	0 (0.0)	22.8 ± 3.2	18 (100.0)
<i>Escherichia coli</i> CRE (CPE)	6	≤0.03-8*		5 (83.3)	1 (16.7)	0 (0.0)	23.7 ± 4.0	6 (100.0)
<i>Klebsiella aerogenes</i> CRE (non-CPE)	4	0.12-2*		4 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	23.8 ± 2.5	4 (100.0)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex CRE (non-CPE)	2	0.5*		2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	22.5 ± 0.7	2 (100.0)
Total of Enterobacterales	30	0.25	2	28 (93.3)	2 (6.7)	0 (0.0)	23.1 ± 3.1	30 (100.0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	0.25	2	15 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	30.7 ± 3.5	15 (100.0)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	13	0.12	0.25	13 (100.0)	NA**	NA**	31.1 ± 2.1	13 (100.0)
<i>Acinetobacter baumannii</i> / <i>Acinetobacter soli</i>	1/1	>32/4*		1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	22.5 ± 0.7	2 (100.0)
Total of glucose non-fermenting bacteria	30	0.25	2	29 (96.7)	0 (0.0)	1 (3.3)	30.3 ± 3.5	30 (100.0)
Total	60	0.25	2	57 (95.0)	2 (3.3)	1 (1.7)	26.7 ± 4.9	60 (100.0)

\*: Results of less than 10 strains were indicated MIC range., \*\*: not available, S: susceptible, I: intermediate, R: resistant  
CRE: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CPE: carbapenemase-producing Enterobacteriaceae

Table 4. Three strains with category discrepancies between broth microdilution and disk diffusion methods

Species	n	Broth microdilution method MIC (μg/mL)	Disk diffusion method zone diameter (mm)	Category mismatch error
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CRE	1	8 (I)	16 (S)	minor error
<i>Escherichia coli</i> CPE (NDM-1)	1	8 (I)	16 (S)	minor error
<i>Acinetobacter baumannii</i> (ISAbal insertion upstream of bla <sub>OXA-51-like</sub> )	1	>32 (R)	23 (S)	very major error

CRE: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CPE: carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, S: susceptible, I: intermediate, R: resistant

は、MIC ドライプレート セフィデロコルの CFDC 0.03~32 μg/mL の 11 の well とコントロール well の計 12 の well から 2 μL をアキュレート羊血液寒天培地（以下羊血液寒天培地、鳥津ダイアグノスティクス）に滴下し、36℃ 炭酸ガス培養 1 晩後に発育を観察し、1 CFU 以下となった well の最小濃度を MBC と判定した。

グラム染色は CFDC 0.03~32 μg/mL の 11 の well とコントロール well の計 12 の well から 2 μL をスライドガラスに滴下しメタノール固定後にパーミー法（武藤化学）で染色後、鏡検した。

各 well の発育能を確認するためのサブカルチャーは、CFDC 0.03~32 μg/mL の 11 の well とコントロール well の計 12 の well から 2 μL を羊血液寒天培地に滴下し画線後、36℃ 炭酸ガス培養 1 晩後に観察した。

## 結 果

### 1) 全体ならびに菌種別の CFDC における微量液体希釈法とディスク拡散法の感性率、中間耐性率、耐性率の算出 (Table 3)

微量液体希釈法による全体の MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> は各々 0.25、2 μg/mL、感性率は 95.0% (57/60)、中間耐性率は 3.3% (2/60)、耐性率は 1.7% (1/60) であった。腸内細菌目細菌とブドウ糖非発酵菌の各々の結果は、MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> はいずれも 0.25、2 μg/mL、感性率は 93.3%、96.7%、中間耐性率は 6.7%、0.0%、

耐性率は 0.0%、3.3% であった。

ディスク拡散法は全株感性であった。全体の阻止円径は、26.7 ± 4.9 mm、腸内細菌目細菌 23.1 ± 3.1 mm、ブドウ糖非発酵菌 30.3 ± 3.5 mm であった。

### 2) 全体ならびに菌種別の微量液体希釈法とディスク拡散法のカテゴリー一致率の算出

全体のカテゴリー一致率は 95.0% (57/60) であった。VME は 1.7% (1/60)、ME 0.0% (0/60)、mE 3.3% (2/60) であった。2 法間でカテゴリーが不一致となった 3 株を Table 4 に示した。微量液体希釈法で耐性 (>32 μg/mL)、ディスク拡散法では感性 (23 mm) の結果となり、VME と判定された *A. baumannii* (bla<sub>OXA-51-like</sub> の上流に ISAbal 挿入、カルバペネム系、キノロン系薬に耐性の多剤耐性株) の結果を Figure 1 に示した。Well 11 (CFDC 0.03 μg/mL)、10 (CFDC 0.06 μg/mL) はコントロール well と同等の発育であった。一方、well 9~1 (CFDC 0.12~32 μg/mL) の発育は well 11 (CFDC 0.03 μg/mL)、10 (CFDC 0.06 μg/mL) と比較して縮小していた。CFDC の濃度が高い well でも一定の大きさの菌塊であり trailing 現象が考えられたが、菌塊が 1 mm 以上のため、CLSI M100-Ed35<sup>3)</sup> に基づき MIC は >32 μg/mL と判定した。

### 3) カルバペネム非感性グラム陰性桿菌におけるカルバペネマーゼ産生菌 (CP) と非産生菌 (non-CP) の MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> の算出

カルバペネム非感性グラム陰性桿菌の CP と non-CP にお

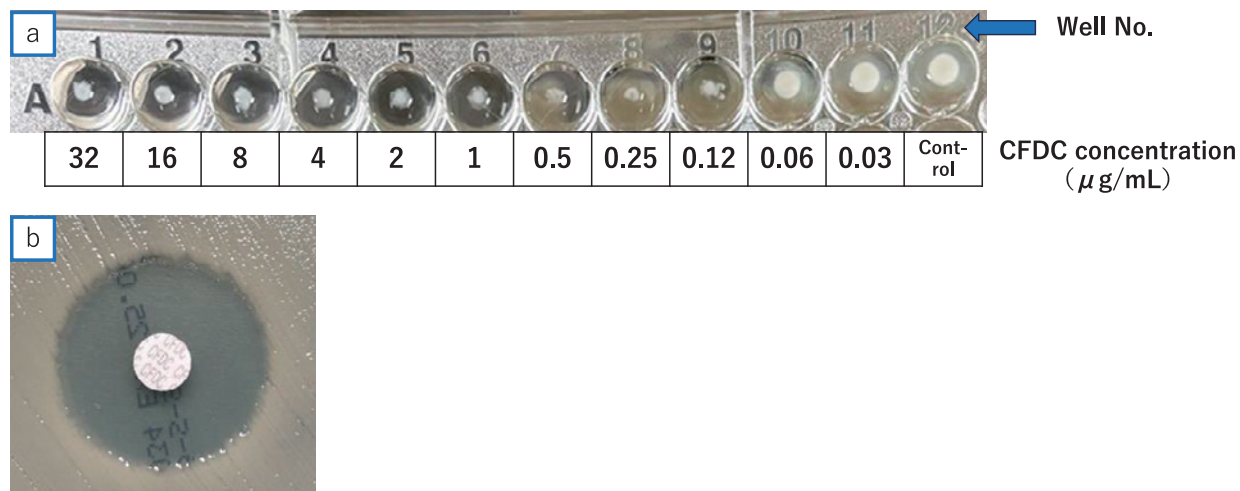


Figure 1. Results of broth dilution method (a) and disk diffusion method (b) for *Acinetobacter baumannii* (ISAbal insertion upstream of *bla*<sub>OXA-51-like</sub>) were determined to be a very major error.

a: The growth in wells 9-1 was weaker than in wells 12-10.

In wells 9-1, growth did not change with Cefiderocol (CFDC) concentration.

b: The CFDC inhibition zone diameter was 23 mm; no colonies were observed within the inhibition zone diameter.

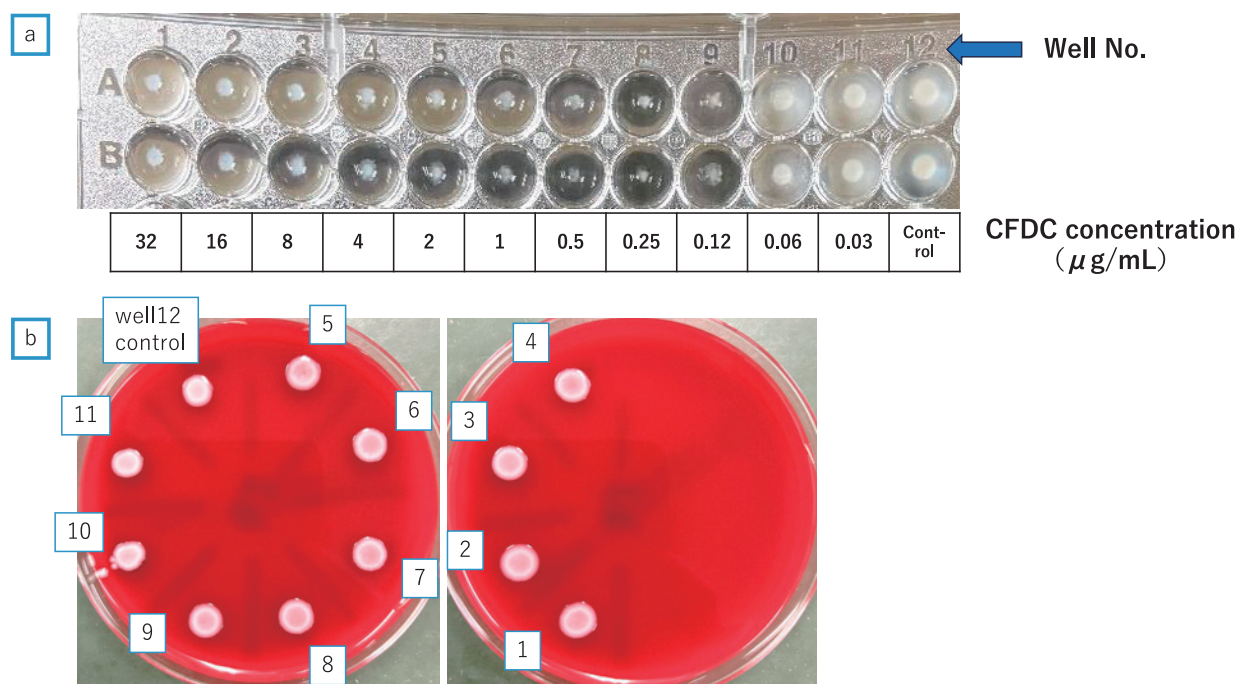


Figure 2. Results of the broth dilution method retest and minimum bactericidal concentration (MBC).

a: Broth dilution method retest results.

b: MBC results.

ける CFDC の MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> (µg/mL) は、non-CP-腸内細菌目細菌 (n=24) は (0.5/2 µg/mL), non-CP-*P. aeruginosa* (n=14) は (0.25/2 µg/mL) であった。

#### 4) VME と判定された *A. baumannii* 1 株の追加試験 (Figure 2~4)

追加試験の結果, MIC 値は >32 µg/mL で耐性 (Figure 2-a), ディスク拡散法は 23 mm で感性であり 1 回目 (Figure

1) と同じ結果であった。MBC はすべての well で多数の集落が発育し >32 µg/mL であった (Figure 2-b)。各 well からのグラム染色は、コントロール well と比較し well 内で弱い発育を示した well 9 (CFDC 0.12 µg/mL) ~well 1 (CFDC 32 µg/mL) のグラム染色はほとんどがフィラメント化した菌体を認めた (Figure 3)。各 well の発育能を確認するためのサブカルチャーの結果, すべての well から同等の発育を

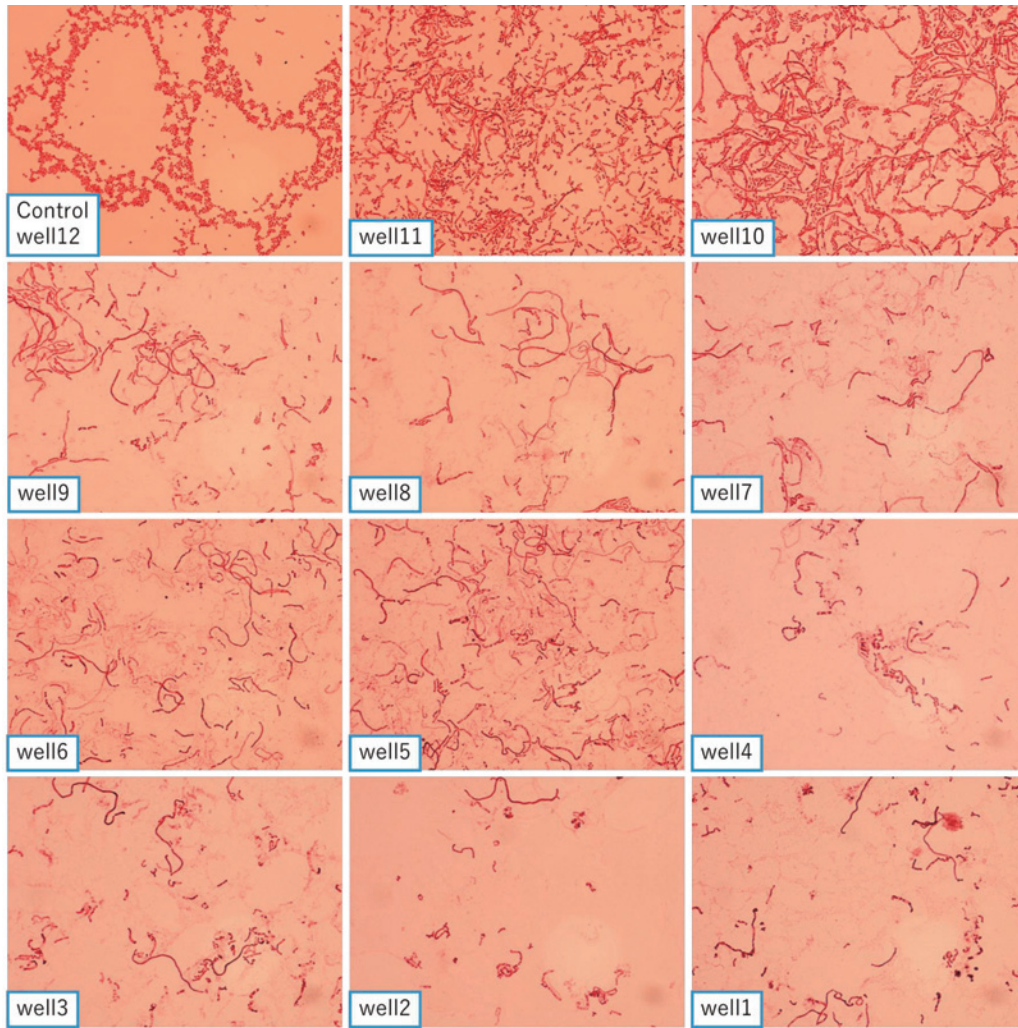


Figure 3. Results of Gram stain findings for each well.

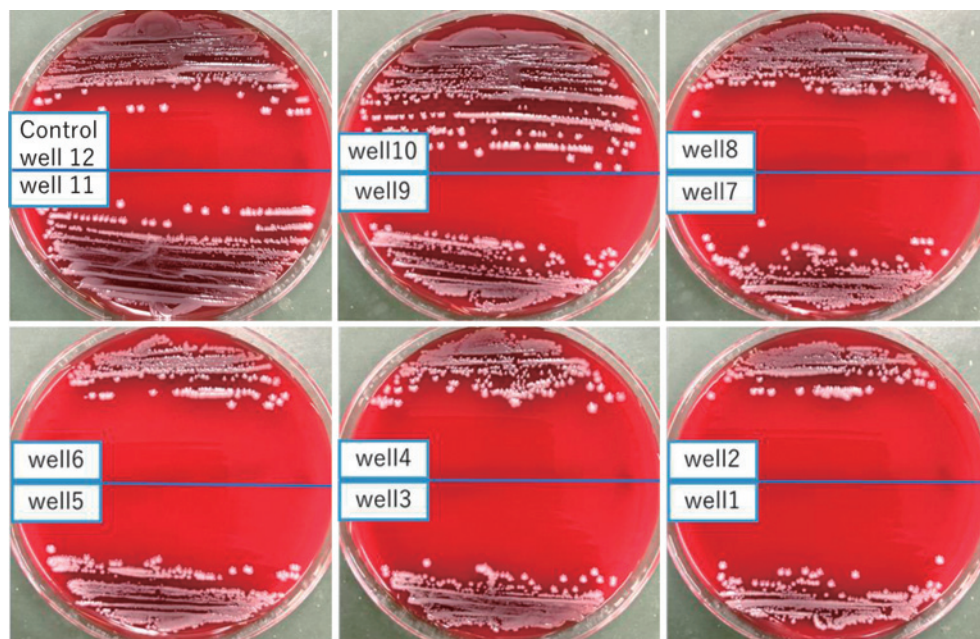


Figure 4. Results of the subculture from each well.

確認した (Figure 4)。

## 考 察

CFDC の MIC 値は、標準的な陽イオン調整ミューラーヒントンブロス (cation-adjusted Mueller-Hinton broth : 以下 CAMHB) で測定した場合、鉄欠乏 CAMHB ( $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ ) よりも高い MIC 値が認められる。これは、鉄欠乏状態では鉄の輸送とそれに伴う CFDC の取り込みが増加するためと考えられている<sup>4)</sup>。In vivo 薬効と相関することから、CLSI は CFDC の MIC を測定するための鉄欠乏 CAMHB の調整方法を推奨している<sup>3)</sup>。一方、CLSI M100-Ed35<sup>3)</sup>には CFDC のディスク拡散法に用いるディスクや培地の規定はないが、CFDC のブレイクポイントが設定されている各菌種のコメントにはメーカーによって結果が異なる場合があると記載がある。ディスク拡散法は寒天培地内で鉄が結合しているため、鉄を欠乏させる必要がないとされ<sup>5,6)</sup>、 $0.03\sim 10 \mu\text{g/mL}$  の濃度の鉄を含むミューラーヒントン寒天培地を用いた CFDC のディスク拡散法の結果のばらつきはわずかであったと報告されている<sup>4)</sup>。本検討で使用したポアメディアミューラーヒントン S 寒天培地 (栄研化学) における鉄濃度は、開示されていない。

今回の検討の結果、カルバペネム非感性のグラム陰性桿菌 (60 株) に対して CFDC の感性率は、全体 95.0%、腸内細菌目細菌 93.3%、ブドウ糖非発酵菌 96.7% であり高い感受性を示した。菌種別の CFDC の感性率 (%) と MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) は、腸内細菌目細菌 (93.3%,  $0.25/2 \mu\text{g/mL}$ )、*P. aeruginosa* (96.7%,  $0.25/2 \mu\text{g/mL}$ )、*S. maltophilia* (100%,  $0.12/0.25 \mu\text{g/mL}$ ) であった。過去の報告では、Karlowsky ら<sup>7)</sup> のカルバペネム非感性グラム陰性桿菌における CFDC の感性率 (%) と MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) は、腸内細菌目細菌で (96.7%,  $1/4 \mu\text{g/mL}$ )、*P. aeruginosa* (99.8%,  $0.25/1 \mu\text{g/mL}$ )、*S. maltophilia* (98.6%,  $0.06/0.25 \mu\text{g/mL}$ ) であり、感性率は同等であったが、MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> は我々の腸内細菌目細菌の結果よりも 1~2 管高値であった。一方、カルバペネム耐性グラム陰性桿菌を対象とした検討では、Nayak ら<sup>8)</sup> の CFDC の感性率 (%) と MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) は、腸内細菌目細菌 (81.3%,  $2/8 \mu\text{g/mL}$ )、*P. aeruginosa* (87.5%,  $1/8 \mu\text{g/mL}$ ) であった。Morris ら<sup>5)</sup> の CFDC の感性率 (%) と MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) は、腸内細菌目細菌 (88%,  $0.5/8 \mu\text{g/mL}$ )、*P. aeruginosa* (93%,  $1/8 \mu\text{g/mL}$ )、*S. maltophilia* (100%,  $0.12/0.25 \mu\text{g/mL}$ )、*A. baumannii* (86%,  $4/8 \mu\text{g/mL}$ ) であった。我々の結果と比較すると、*S. maltophilia* は同等であったが、その他の菌種の感性率は低値であり、MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> は 1~3 管高い結果であった。この理由は我々や Karlowsky ら<sup>7)</sup> の対象株はカルバペネム非感性であったのに対して、Nayak ら<sup>8)</sup> や Morris ら<sup>5)</sup> はカルバペネム耐性株であり、我々の対象株と比べてカルバペネムに高い耐性であったことが要因の一つと考えられた。

今回検討したカルバペネム非感性グラム陰性桿菌の CP と non-CP における CFDC の MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) は、non-CP-腸内細菌目細菌は ( $0.5/2 \mu\text{g/mL}$ )、non-CP-*P. aeruginosa* は ( $0.25/2 \mu\text{g/mL}$ ) であったが、CP 産生菌は株数が少なく算出できなかった。過去の報告における CP と non-CP の

MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ ) は、Nayak ら<sup>8)</sup> は CP-腸内細菌目細菌 ( $2/16 \mu\text{g/mL}$ ) よりも non-CP-腸内細菌目細菌 ( $2/>128 \mu\text{g/mL}$ ) で MIC<sub>90</sub> は 4 管以上高く、CP-*P. aeruginosa* と *A. baumannii* complex ( $2/8 \mu\text{g/mL}$ ) よりも non-CP-*P. aeruginosa* と *A. baumannii* complex ( $4/16 \mu\text{g/mL}$ ) の MIC<sub>90</sub> は 1 管高かった。Morris ら<sup>5)</sup> も同様に CP-腸内細菌目細菌 ( $0.25/4 \mu\text{g/mL}$ ) よりも non-CP-腸内細菌目細菌 ( $0.5/16 \mu\text{g/mL}$ ) において MIC<sub>90</sub> は 2 管高い結果であった。これらの報告<sup>5,8)</sup> の non-CP の MIC<sub>90</sub> は我々の結果よりも 3~7 管以上高い結果であった。CP 群よりも non-CP 群において CFDC の MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> が高い結果であった理由は不明であるが、カルバペネム耐性機序の違いによって CFDC の耐性が異なる可能性がある。

今回の微量液体希釈法とディスク拡散法のカテゴリー一致率は 95.0%、VME 1.7% (*A. baumannii* 1 株)、ME 0.0%、mE 3.3% (腸内細菌目細菌 2 株) であった。Humphries ら<sup>9)</sup> の指標 (カテゴリー一致率: 90% 以上、mE: 10% 未満、VME、ME: 3% 未満) と比較したところ、許容範囲内であり良好な結果であった。微量液体希釈法とディスク拡散法を検討した報告<sup>5,8)</sup> はあるが、使用した CFDC のブレイクポイントが異なるため比較できなかった。Morris ら<sup>5)</sup> は、使用する CFDC のディスクやブレイクポイントによって結果が異なることや、*A. baumannii* complex においてはディスク拡散法を微量液体希釈法の代替法にできないと報告している。

VME と判定された *A. baumannii* の微量液体希釈法の結果は、2 度の試験を行ったが、well 9 (CFDC  $0.12 \mu\text{g/mL}$ ) ~ well 1 (CFDC  $32 \mu\text{g/mL}$ ) において直径 1 mm 以上の同じ大きさの菌塊を形成しており、trailing 現象が疑われた (Figure 1-a, Figure 2-a)。CLSI M100-Ed35<sup>3)</sup>には、trailing 現象を認める株での MIC 判定方法として、直径 1 mm 未満の菌塊が続く場合は最小の値を MIC 値と判定することが記載されている。本株の菌塊は 1 mm 以上であったため trailing 現象と判断せず、MIC は  $>32 \mu\text{g/mL}$  と判定した。追加検討の結果、同様に VME と判定され、MBC は  $>32 \mu\text{g/mL}$  であった。各 well からのグラム染色は、コントロール well と比較して弱い発育を示した well 9 (CFDC  $0.12 \mu\text{g/mL}$ ) ~ well 11 (CFDC  $32 \mu\text{g/mL}$ ) において、ほとんどがフィラメント化した菌体を認めた。サブカルチャーの結果は、すべての well から *A. baumannii* が良好に発育した。このことから本 *A. baumannii* 株は CFDC により一定の作用を受けているが、死滅していないことがわかった。一方で、ディスク拡散法の結果は阻止円内に集落を形成するなどの所見はなく、感性であった。CFDC による本株に対する殺菌量が十分ではないため trailing が生じ、判定が困難になっていると思われるが、ディスク拡散法においてはクリアな阻止円が得られており、十分に増殖が抑制されているものと考えられた。このような乖離については既報告例<sup>10)</sup>もあるが、その機序は十分に解明されておらず、in vivo における薬効の検証が必要なところである。VME となった株は trailing 現象ではなかったが、CFDC の trailing 現象はカルバペネム耐性 *A. baumannii* complex の 21% で認めた報告<sup>5)</sup> や 30% が trailing 現象を示す報告<sup>4)</sup> がある。*Acinetobacter* spp. は微量液体希釈法で  $\beta$ -ラクタム薬の薬剤感受性を実施した場合、エンドポイント

が後を引く、あるいは異常な増殖パターンを示すことは珍しいことではなく、33% (64/195 株) で報告されている<sup>4)</sup>。今回検討した *Acinetobacter* spp. は2株と少なかったが、引き続き *Acinetobacter* spp. の CFDC の薬剤感受性の判定について検討が必要であると考えられた。

CLSI M100-Ed35<sup>3)</sup>には「ディスク拡散法および微量液体希釈法による CFDC の正確性および再現性は、鉄濃度および接種菌液の調整に大きく依存し、ディスクおよび培地のメーカーによって異なる場合がある。ばらつきによっては、偽耐性または偽感性となることがあり、その後に分離された株の検査が推奨される。そのため、医師や抗菌薬適正使用チームのメンバーと、不正確である可能性について議論することが推奨される」と記載がある。また、CLSI M100-Ed35<sup>3)</sup>には「ディスク拡散法で非感性と判定された場合は、微量液体希釈法で感受性を再確認することを推奨する」という記載もある。臨床検査において、微量液体希釈法とディスク拡散法を同時に行うことはあまりないと考えられるが、*Acinetobacter* spp. に対して注意喚起が発せられている現状を加味すると<sup>4)</sup>、微量液体希釈法もしくはディスク拡散法で非感性と判定された場合は、両法を用いて確認する場合があると考えられる。特に、微量液体希釈法で今回のような所見を示し、判定に悩んだ際にディスク拡散法でも確認する場合があると考えられる。その場合は、患者の治療失敗のリスクを回避するためには、耐性と判定された結果を優先して判断するべきであると考えられるが、患者の症状や他に有効性が期待できる薬剤の存在も考慮しながら判断することが重要であろう。

本研究のリミテーションとして、単一施設におけるカルバペネム非感性グラム陰性桿菌を対象株としているため検討した株数が少ないことが挙げられる。

今回検討したカルバペネム非感性グラム陰性桿菌 (60 株) は 95.0% 以上が CFDC に感性であり高い感受性を示した。微量液体希釈法とディスク拡散法のカテゴリー一致率は 95.0% と良好な結果であった。*Acinetobacter* spp. の CFDC の薬剤感受性の判定については更に検討が必要であると考えられた。

**謝辞**：本論文の執筆にあたり、塩野義製薬株式会社の山野佳則博士、山城 秀仁氏には、学術的なご助言を賜り、心より感謝申し上げます。

**利益相反**：申告すべき利益相反なし

## 文 献

- 1) 2024. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance, World Health Organization, Geneva.
- 2) フェトロージャ点滴静注用 1g 医薬品インタビューフォーム 第3版 (2024年6月改訂).
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100Ed 35: 2025. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 35th edition.
- 4) Simner, P.J., R. Patel. 2021. Cefiderocol antimicrobial susceptibility testing considerations: the achilles' heel of the trojan horse? J Clin Microbiol 59 (1): e00951-20.
- 5) Morris, P.C., Y. Bergman, T. Tekle, et al. 2021. Cefiderocol antimicrobial susceptibility testing against multidrug-resistant gram-negative bacilli: a comparison of disk diffusion to broth microdilution. J Clin Microbiol 59 (1): e01649-20.
- 6) Critchley, I.A., M.J. Basker. 1988. Conventional laboratory agar media provide an iron-limited environment for bacterial growth. FEMS Microbiol Lett 50: 35-39.
- 7) Karlowsky, J.A., M.A. Hackel, M. Takemura, et al. 2022. In vitro susceptibility of gram-negative pathogens to cefiderocol in five consecutive annual multinational SIDERO-WT surveillance studies, 2014 to 2019. Antimicrob Agents Chemother 66 (2): e01990-21.
- 8) Nayak, G., B. Behera, S. Mohanty, et al. 2022. Analysis of in vitro activity of cefiderocol against carbapenem-resistant gram-negative bacilli by broth microdilution and disk diffusion method: A single-center study in Odisha, India. Infect Drug Resist 15: 5887-5897.
- 9) Humphries, R.M., J. Ambler, S.L. Mitchell, et al. 2018. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. J Clin Microbiol 56 (4): e01934-17.
- 10) Pasteran, F., O. Wong, V. Mezcord, et al. 2024. Comparison of available methods to evaluate cefiderocol susceptibility in *Acinetobacter* spp. J Microbiol Methods 223: 106972.

## Cefiderocol antimicrobial susceptibility testing against carbapenem-non-susceptibility gram-negative bacilli in Kindai University Hospital: a comparison of broth microdilution and disk diffusion

Michiko Furugaito<sup>1) 2)</sup>, Toshinori Kamisako<sup>1) 3)</sup>, Koichiro Yoshida<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Clinical Laboratory, Kindai University Hospital

<sup>2)</sup> Division of Infection Control and Prevention, Department of Medical Safety Management, Kindai University Hospital

<sup>3)</sup> Department of Clinical Laboratory Medicine, Kindai University Faculty of Medicine

The recent increase in carbapenem-resistant gram-negative bacilli has become a significant clinical concern. Cefiderocol (CFDC) was approved in Japan in November 2023, and its clinical utility is highly anticipated. This study evaluated the susceptibility of 60 carbapenem-nonsusceptible, gram-negative bacilli isolated in our hospital, to CFDC, using broth microdilution and disk diffusion methods following the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-Ed35 guidelines. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values were 0.25 and 2 µg/mL, respectively. The overall susceptibility rate was 95.0% (57/60), with intermediate resistance observed in 3.3% (2/60) and resistance in 1.7% (1/60) of the isolates. When broken down by bacterial group, both Enterobacteriaceae and non-fermentative gram-negative bacilli exhibited MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values of 0.25 and 2 µg/mL, respectively. The susceptibility, intermediate resistance, and resistance rates were for Enterobacteriaceae and non-fermenters; were 93.3% and 96.7%, 6.7% and 0.0%, and 0.0% and 3.3%, respectively. All the isolates were categorized as susceptible using the disk diffusion method. The categorical agreement between the two methods was 95.0% (57/60). Among the three discrepant isolates, two were classified as intermediate by the broth microdilution method but were susceptible by disk diffusion. One *Acinetobacter baumannii* isolate showed discordant results: susceptibility to disk diffusion but resistance to broth microdilution; therefore, additional testing was performed, but the cause of the discrepancy could not be determined. Further studies are warranted, particularly for *Acinetobacter* spp.