

## 各種臨床材料から分離された *Pseudomonas aeruginosa* の $\beta$ -ラクタム系薬、アミノグリコシド系薬、ニューキノロン系薬耐性と耐性要因について

竹山 ゆり花

杏林大学保健学部臨床検査技術学科4年（微生物学分野）

### 【目的】

*Pseudomonas* 属で病原性を有するもののうち *Pseudomonas aeruginosa* は日和見感染の原因菌であり、免疫力が非常に低下した患者において肺炎、尿路感染症および菌血症や敗血症などを引き起こす。近年、各抗菌薬に対する耐性機構を発現・獲得し、これまでに治療効果の認められていたカルバペネム系、アミノグリコシド系およびニューキノロン系抗菌薬のすべてに耐性を示す多剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistant *P.aeruginosa* ; MDRP) 株が医療関連感染において問題となっている。本研究では  $\beta$ -ラクタム系薬、アミノグリコシド系薬、ニューキノロン系薬に対する感受性試験を実施し、PCR法による耐性関連遺伝子の検出およびプラスミドの分析を行った。

### 【材料と方法】

菌株は、2017年の1月から12月の間に各種感染症の患者検体から分離された *P. aeruginosa* 29株を使用した。プラスミド検出におけるサイズマーカーとして *Escherichia coli* V517, *E.coli* J53 (R478), *E.coli* J53 (NR1) を使用した。Mueller-Hinton broth (MHB, BBL) を用いて薬剤感受性試験にて最小発育濃度 (MIC) を測定し、耐性を示した株についてPCR法による遺伝子の検出を行った。耐性遺伝子が検出された株についてプラスミドDNAの検出と電気泳動による分類を行った。

### 【結果及び考察】

薬剤感受性試験の結果、 $\beta$ ラクタム系薬の全てまたは一部に耐性を示した株は93%であった。PCR法による

ClassB, ClassD  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の検出を行ったところ、 $\beta$ -ラクタム系薬の全てに高度耐性を示した3株から *bla* IMP-1と *bla* IMP-2が検出され、ペニシリン系薬とセフェム系薬に高度耐性を示した2株から *bla* OXAが検出された。*bla* OXAは海外では *P.aeruginosa* と *Acinetobacter baumannii* に多く認められており、わが国でも *bla* OXA 遺伝子が *P.aeruginosa* の菌種間において伝播・拡散しつつある可能性が示唆された。アミノグリコシド系薬の全てまたは一部に耐性を示した株は59%であった。各種のアミノグリコシド修飾酵素遺伝子の検出を行ったところ、*aac*(6)-Icと *ant*(2")を同時に保有する株が15株、*ant*(2")と *aphA1*を同時に保有する株が1株、*aphA1*のみを保有する株が1株であった。*aphA1*によるアミノグリコシドの修飾、不活化能は単独では低く、他の修飾酵素との相乗効果を示しているものと思われた。ニューキノロン系薬耐性株では、標的酵素であるDNAジャイレースならびにDNAポリメラーゼIVの変異、および外膜における菌体内への薬剤透過性低下や排出ポンプの亢進による菌体内薬剤濃度の低下が耐性要因であることが示唆された。

耐性傾向分析から、6株が耐性菌の定義にもとづくMDRPであることが確認された。また、これらのMDRP株では4株に分子サイズ50~343kbの大型プラスミドの保有が認められ、これらをドナーとした耐性関連遺伝子の水平伝播の可能性が示唆された。

MDRPの増加を防ぐためには、臨床現場において適切な薬剤の選択・使用に留意することが必要であり、耐性菌の伝播・拡散防止のためには、感染対策の徹底と多剤耐性菌分離状況の定期的なサーベイランスが必要である。