

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

金山明子より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 515 号

学位申請者 : かな 山 あき こ
金 山 明 子

学位審査論文 : Distribution and antimicrobial susceptibility profile of extended-spectrum β -lactamase-producing *Proteus mirabilis* strains recently isolated in Japan

(近年日本において分離された基質拡張型 β -lactamase 産生 *Proteus mirabilis* の地域分布および抗菌薬感受性)

著 者 : Akiko Kanayama, Intetsu Kobayashi, Kazutoshi Shibuya

公 表 誌 : International Journal of Antimicrobial Agents 45(2):113-118, 2014

論文内容の要旨 :

【背景】近年、世界的に基質拡張型 β -lactamase (ESBL) 産生株の分離頻度が増加している。日本においては、*Proteus mirabilis* における ESBL 産生株の割合は増加傾向にあり、その頻度は *Escherichia coli* や *Klebsiella* 属菌よりも高いことが報告されている。しかし、これまでの報告は施設単位や狭い地域における調査や、少数の株を対象としたものに限定されている。申請者は 2006 年に日本の 54 医療機関の患者から分離された *P. mirabilis* を対象に調査し、38%の菌株が ESBL 産生株であったことを報告したが、菌株数が少なく、日本全体の傾向を十分に反映しているものとは言い難かった。本研究は 1 年間に収集された *P. mirabilis* の多数株を対象とした、ESBL 産生性および抗菌薬感受性に関する日本における初めての報告である。

【方法】 1) 対象菌株および背景 : 2009 年から 2010 年に日本の 314 医療機関において、細菌検査を目的として検査機関に提出された各種検体より分離された *P. mirabilis* 799 株を対象とした。菌株の由来検体は尿 : 405 株、喀痰 : 209 株、褥瘡 : 77 株、創部 : 49 株、central venous catheter (CVC) : 14 株、その他 : 45 株である。799 株のうち、患者の入院外来が不明であった 90 例を除き、557 株 (69.7%) が入院患者からの分離株で、患者の平均年齢は 76.6 歳であった。2) 抗菌薬感受性および ESBL 産生性 : CLSI M100-S22 に従い、寒天平板希釈法により各種抗菌薬の MIC を測定した。Cefotaxime (CTX) および ceftazidime (CAZ) ディスクの阻止円径と比較し、クラブラン酸含有 CTX および CAZ ディスク阻止円径が 5mm 以上拡大した菌株を ESBL 産生株とした。

3) ESBL type の決定 : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9 group, TEM-, SHV-ESBL 遺伝子を PCR 法にて検出し、TEM-, SHV-型は塩基配列の決定後 Lahey Clinic Website データベースと比較し、タイプを決定した。4) ESBL 産生株の分布 : ESBL 産生株の一部を無作為に抽出し、制限酵素 Sfi I を用い、Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 解析を行った。

【結果】本研究に供与した *P. mirabilis* 799 株のうち 364 株 (45.6%) が ESBL 産生株であった。このうち入院患者由来株が 92.8% を占めた。ESBL 産生株の ciprofloxacin に対する非感受性株の割合は 74.2% であり、ESBL 非産生株の 17.7% と比べ明らかに高い割合を示した。Meropenem の MIC が $2\mu\text{g}/\text{mL}$ を示し、CLSI の判定基準より intermediate と判定された株が認められた。ESBL 産生株 364 株中 354 株 (97.3%) が CTX-M-2 group であり、SHV-および TEM 型 ESBL 遺伝子検出株はなかった。

尿および喀痰からの分離株における ESBL 産生株の割合はそれぞれ 39.3% (159/405 株) および 56.9% (119/209 株) で褥瘡、創部、および CVC からの分離株においてはそれぞれ、54.5% (42/77 株), 40.8% (20/49 株), および 85.7% (12/14 株) が ESBL 産生株であった。

北海道・東北地域の医療機関における ESBL 産生株の頻度は 52.8% (57/108 株) と他の地域より高く、近畿、四国・九州地域では約 21% と最も低い頻度であった。ESBL 産生株 364 株より無作為に抽出した 66 株は、PFGE 解析により 21 グループに分布し、同じ地域の分離株は、同一もしくは近縁のグループに分布する傾向が認められた。

【考察】対象とした *P. mirabilis* のうち 45.6% が ESBL 産生株であり CTX-M-2 group がほとんどであった。また、ESBL 産生株が分離された患者の多くが高齢の入院患者で、CVC 由来株に最も高い割合で分離された。また、ESBL 産生株において、フルオロキノロン系抗菌薬に対し非感性の株が高率に認められた。以上の成績は、ESBL 産生菌による感染症のリスクファクター (基礎疾患、長期入院、高齢、侵襲性デバイスの使用、フルオロキノロンなどの抗菌薬使用歴) を裏付けるものであった。PFGE により、様々なクローンの ESBL 産生 *P. mirabilis* が確認されたが、限定された地域においては、単一クローンの拡大が生じている可能性が示唆された。

【結語】国内で患者から分離される *P. mirabilis* の半数近くの株が ESBL 産生性のフルオロキノロン耐性株であり、地域において水平伝播が生じている可能性があることを認識すべきである。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 515 号	氏 名	金 山 明 子
学位審査担当者	主 査	宮 崎 修 一
	副 査	舘 田 一 博
	副 査	石 井 良 和
	副 査	武 城 英 明
	副 査	盛 田 俊 介
<p>学位審査論文の審査結果の要旨 :</p> <p>Extended-spectrum β-lactamase (ESBL) という酵素はβラクタム環を持つ抗菌薬を分解して耐性を獲得する。この ESBL 産生遺伝子は、菌種を越えて伝達可能なプラスミド上に存在することから蔓延の可能性が高くなる。つまり、早期に発見し対策を講じることが重要となる。現在 ESBL 産生が問題となっている菌種は、<i>Escherichi coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> 及び <i>Proteus mirabilis</i> である。その中で ESBL 産生 <i>P. mirabilis</i> が増加しているにもかかわらず全国的な疫学調査報告がなされていないことから、本研究では日本全域の臨床材料から分離された <i>P. mirabilis</i> を用いて、その抗菌薬感受性、ESBL 産生能、さらに ESBL 型および PFGE 解析を試みている。</p> <p>臨床分離 <i>P. mirabilis</i> 799 株中 364 株から ESBL 遺伝子を検出し、その中で 354 検体の ESBL 型は CTX-M-2 であった。この ESBL 産生株と非産生株の抗菌薬感受性成績を比較すると、ESBL 産生株は cefotaxime に対して非感受性であるが、ESBL 非産生株は感受性であった。Meropenem の抗菌活性は ESBL 産生株・非産生株のどちらに対しても高かったが、ESBL 産生の 1 株の MIC は 2 mg/L と低感受性であった。Ciprofloxacin に非感受性の割合は ESBL 産生菌で 74.2% であり、ESBL 非産生菌での 17.7% に比べ高かった。ESBL 阻害剤との合剤である piperacillin/tazobactam に対して耐性を示す ESBL 産生株は認められなかった。この感受性解析の結果は、meropenem が ESBL 産生株に対する第一選択抗菌薬であること、及び 90% 以上の ESBL 産生株が入院患者から分離されており、入院患者は頻りに ciprofloxacin に曝されることにより ciprofloxacin 耐性を獲得し易いことを裏付けているとの考察がなされていた。全国を 5 区域にわけて ESBL 産生株の分離頻度を調べたところ、東北・北海道地域、関東地域、中部地域、近畿地域、次いで四国・九州地域の順に分離頻度が低くなった。さらに PFGE 解析を行ったところ、地域毎に単一クローンの ESBL 産生遺伝子が確認される傾向がみられ、介護者が伝搬している可能性があるが、今後更なる解析が必要との考察であった。</p> <p>1 月 27 日の学位審査会において、各審査委員より①ESBL 産生菌の割合が従来の報告に比べ多いこと ②ESBL 産生菌検出率の地域差 ③実験方法 ④ESBL 産生菌が同時に ciprofloxacin 耐性である機序などについて質問があった。申請者は文献や本研究での限界も含めて的確に返答した。本論文の成績を基に、ESBL 産生 <i>P. mirabilis</i> 出現増加要因及びその対策など、更なる検討が必要であるが、十分な新見解があり今後研究の発展が望めると判断し、審査委員全員が学位に値するとの意見で一致した。</p>		