

学位番号甲第 489 号

学位申請者 : こう やま ゆう いち
 神 山 裕 一

主 論 文 : Molecular characterization of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter* spp. in Japan; Predominance of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 92 and IMP-type metallo- β -lactamase-producing non-*baumannii* *Acinetobacter* species

(本邦におけるカルバペネム非感受性アシネトバクター属菌の分子疫学調査; クローナルコンプレックス 92 に属する多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* と IMP 型メタロ β ラクタマーゼを産生する non-*baumannii* アシネトバクター属菌の本邦における分離状況)

著 者 : Yuichi Kouyama, Sohei Harada, Yoshikazu Ishii, Tomoo Saga, Ayumi Yoshizumi, Kazuhiro Tateda, Keizo Yamaguchi

公 表 誌 : Journal of Infection and Chemotherapy 18 (4): 522-528, 2012

論文内容の要旨 :

《背景および目的》

アシネトバクター属菌は様々な薬剤耐性機構を持ち、カルバペネムによる治療が推奨される菌である。しかしながら近年、多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* による難治感染症の報告が欧米をはじめアジア諸国においても急速に拡大している。特にクローナルコンプレックス (CC) 92 と呼ばれる共通した遺伝背景をもつ一群が各国から分離されている。

本邦においてはアシネトバクター属菌に対する十分な疫学調査は行われていない。その要因として、アシネトバクター属菌は臨床で行われる生化学的な特徴に基づく方法では菌種同定が困難であり、分子疫学的手法が要求さ

れる。また、アシネトバクター属菌の主要カルバペネム耐性因子である OXA 型カルバペネマーゼの検出を日常検査で実施することは困難である。

以上の背景から本研究ではカルバペネム非感受性アシネトバクター属菌に対し、分子疫学的手法を用いた同定を行い、さらに OXA 型カルバペネマーゼについての検討を行い、本邦における過去の疫学報告と、近年の各国の疫学情報と比較した。

《方法》

供試菌株には 2007 年に行われた全国サーベイランスで集められた 598 株のアシネトバクター属菌を用いた。菌の同定は生化学的同定に加え、菌の 16SrDNA の切断パターンに基づいた Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA) を行ない genomic species に至る同定を行った。菌の遺伝的背景は DNA 切断パターンに基づくパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) と 7 つの保有遺伝子のシーケンス配列に基づく Multilocus sequence typing (MLST) を用いて確認した。産生する β ラクタマーゼは PCR を用いて遺伝子とプロモーターの存在を確認した。

《結果》

2007 年に臨床分離されたアシネトバクター属菌 598 株の内、27 株 (4.5%) がカルバペネムに非感受性を示した。この 27 株について詳細な研究を行った結果、菌種の内訳は、*A. baumannii* が 14 株、*A. calcoaceticus* が 4 株、*A. nosocomialis* が 4 株、*A. pittii* が 3 株、*A. lwoffii* が 2 株であった。

薬剤感受性試験ではカルバペネム非感受性アシネトバクター属菌 27 株はいずれもセフェム系の β ラクタムに低い感受性を示した。一方でアンピシリン・スルバクタム合剤に対してはカルバペネム非感受性の *A. baumannii* では感受性が低く、non-*baumannii* に分類されるアシネトバクター属菌では感受性が保たれていた。カルバペネム非感受性の *A. baumannii* 14 株中 13 株が CC92 に属し、プロモーターを有する挿入配列、IS*Aba1* 配列の下流にカルバペネム分解酵素をコードする *bla*_{OXA-51-like} 遺伝子を保有していた。また、*bla*_{OXA-51} ファミリーに属する新規配列 *bla*_{OXA-206} を発見した。カルバペネム非感受性 *A. baumannii* 14 株は PFGE により 2 つのグループに分類され、そのうち一方は *bla*_{OXA-51-like} 遺伝子に加えて *bla*_{OXA-23} を有していた。CC92 に属さない *A. baumannii* 1 株は *bla*_{OXA-58} 遺伝子と *bla*_{IMP-1} 遺伝子を保有していた。non-*baumannii* に分類されるアシネトバクター属菌では、13 株中 12 株が IMP タイプのメタロ β ラクタマーゼを産生していた。

《結語》

各国で臨床上問題となっている *A. baumannii* と遺伝背景を同一にする *A. baumannii* が本邦においても確認され、その主なカルバペネム耐性機構として OXA 型カルバペネマーゼを産生していることが確認された。一方で non-*baumannii* は全国から分離されており、そのカルバペネム耐性にはメタロ型 β ラクタマーゼが関与していた。また、カルバペネム非感受性 *A. baumannii* と non-*baumannii* のアシネトバクター属菌ではアンピシリン・スルバクタム合剤への感受性に差があり治療方法の区別化が必要なことが示唆された。

我々の研究は日本で分離されたカルバペネム非感受性を示すアシネトバクター属菌に対し、菌の genomic species に及ぶ詳細な分類を基に、分子疫学調査を全国規模で行った初めての報告である。

1. 論文審査の要旨および担当者

学位番号甲第 489 号	氏 名	神 山 裕 一
論文審査担当者	主 査	草 地 信 也
	副 査	澁 谷 和 俊
	副 査	西 脇 祐 司
	副 査	宮 崎 修 一
	副 査	杉 山 篤
<p>論文審査の結果の要旨 :</p> <p>本研究は、近年臨床で問題となっているカルバペネム非感受性アシネトバクター菌属の日本における分子学検討を行ったものである。対象は、2007年に臨床分離されたアシネトバクター属 598 菌株のうち、カルバペネム系抗菌薬に対して非感受性を示した 27 株 (4.5%) である。これらの菌は気道および喀痰から分離されることが多かった。解析の結果、カルバペネム非感受性 <i>Acinetobacter baumannii</i> 14 株中 13 株はクロールコンプレックス (CC) 92 に属し、プロモーターを有する挿入配列、ISAba1 配列の下流にカルバペネム分解酵素をコードする <i>bla_{OXA-51-like}</i> 遺伝子を保有していた。また、<i>bla_{OXA-51-like}</i> ファミリーに属する新規配列 <i>bla_{OXA-206}</i> が発見された。これらの株は主に関東地方から分離されていた。さらに、カルバペネム非感受性 <i>A. baumannii</i> 14 株は分子疫学的手法であるパルスフィールドゲル電気泳動法により 2 つのグループに分かれ、そのうち一方は <i>bla_{OXA-51-like}</i> 遺伝子に加えて <i>bla_{OXA-23}</i> を有する特徴を備えていた。CC92 に属さない <i>A. baumannii</i> 1 株は <i>bla_{OXA-58}</i> 遺伝子と <i>bla_{IMP-1}</i> 遺伝子を保有していた。</p> <p>一方、<i>A. baumannii</i> 以外のアシネトバクター菌属 (non-<i>baumannii</i>) である <i>A. pittii</i> と <i>A. nosocomialis</i> (それぞれ 以前は <i>Acinetobacter genomic species 3</i>、<i>Acinetobacter genomic species 13 TU</i> と呼称されていた菌種) では、13 株中 12 株が IMP タイプのメタロ β ラクタマーゼを産生していた。また、SBT/ABPC に対して感性であるなど、カルバペネム非感受性 <i>A. baumannii</i> とは異なった薬剤感受性パターンを示した。これらの菌は日本各地から分離されていた。</p> <p>本研究は、日本で分離されたカルバペネム非感受性を示すアシネトバクター属菌に対し、初めて行われた genomic species に及ぶ詳細な分類である。その結果から、アシネトバクターは、<i>A. baumannii</i> と non-<i>baumannii</i> では分子生物学的に異なった遺伝子的特徴を有していること、薬剤感受性パターンが異なっていたことが明らかとなった。臨床分離菌の分子生物学的解析は短時間で菌の薬剤感受性を推測する手段として治療抗菌薬の選択に有用であり、その普及が望まれている。本研究結果は将来的な抗菌化学療法の発達の一助となるものであり、学位に値する研究と判定した。</p> <p>申請者は、細菌学一般、臨床微生物学、薬剤感受性、院内感染等の関連領域に対する十分な知識と研究歴を有し、学位授与者にふさわしい研究者と判定した。</p>		