

Acinetobacter baumannii における 耐性菌出現阻止濃度(MPC)の検討

藤 井 彩 音*[§] 眞 野 容 子* 古 谷 信 彦*

I. 研究の概要

【背景目的】

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*) はブドウ糖非発酵好気性グラム陰性桿菌であり、自然環境中に広く存在し、免疫力の低下した易感染者に対して日和見感染症を引き起こす。近年では Multi-Drug Resistant *Acinetobacter* spp. (MDRA) も出現しており、通常の治療薬が使えず難治化することが問題となっているが、日本の分離率は諸外国と比較し低い。そのため、抗菌薬の不適切な使用法による耐性化や海外からの持込み菌によるアウトブレイクが懸念されている。

MDRA の判定薬剤の一つであるフルオロキノロン系抗菌薬に対する耐性機序には、キノロン耐性決定領域 (QRDR) の変異による薬剤親和性の変化や efflux pump の亢進による菌体内キノロン濃度の低下等が関わっているが、*A. baumannii* におけるキノロン系抗菌薬濃度と遺伝子変異の関連性は明らかになっていない。そこで本研究は、遺伝子変異による耐性化の指標である耐性菌出現阻止濃度 (MPC) を用いて、*A. baumannii* の Ciprofloxacin 耐性における MPC と耐性遺伝子発現の牽連性について検討をした。

【方 法】

A. baumannii ATCC 19606 を供試菌とした。

薬剤感受性試験は Clinical and Laboratory Standard Institute M100-S28 に準拠した微量液体希釈法で行い、抗菌薬は Ciprofloxacin を用いた。MPC の評価は一晩振盪培養した菌液を 1.0×10^{10} CFU/mL 以上に調整し、Ciprofloxacin 含有ミュラー・ヒントン寒天培地 (MHA) に塗り広げ、37℃で 72 時間インキュベートし、24 時間ごとにコロニーの有無を確認した。その後耐性基準濃度の Ciprofloxacin 含有 MHA に塗布した際に確認されたコロニーを検討対象とし、耐性機構の解析に移った。遺伝子変異の有無は *HinfI* を用いて PCR-RFLP 法にて評価した。efflux pump の評価は微量液体希釈法に CCCP を加えた方法で測定した。

【結 果】

MPC の検討の結果、MPC は 16 µg/mL になり、MIC - MPC 間に生存が確認された検討対象は 13 株となった。そのうち全ての株に QRDR 遺伝子の変異は認められなかった。Carbonyl Cyanide m-Chloro Phenylhydrazon (CCCP) による efflux pump 阻害では、通常の MIC と 2 管差以上の差がある株が数株認められた。

【考 察】

本研究では、遺伝子変異が認められていなかったことから、今回の MPC の検討では遺伝子に対する影響が少ないことが示唆された。CCCP を

* 文京学院大学大学院保健医療科学研究科 [§] ayane.robamaru@gmail.com

用いて efflux pump について評価したところ一部の株で効果が認められたことから MIC – MPC 間で生じた耐性株は未発達であり、遺伝子変異以外の機構による耐性化であることが示唆された。今後、そのほかの機構についてさらなる検討を進める必要がある。

II. 受賞の感想

この度は第 18 回日本臨床検査学教育学会学術大会における学生優秀発表賞に選出、ならびに本誌への投稿の機会を頂きまして誠にありがとうございます。今回の学会発表に際しまして、関わっていただきました皆様にこの場を借りて感謝申し上げます。初の学会発表において、優秀発表賞という賞をいただけたことは大変光栄であり、今後

の自信につながると思っております。今後も臨床検査学における多くの知識を得ると共に、自身の研究に励んでいきます。

III. 将来への抱負

本学会を通し、様々な分野の研究発表を拝聴させていただきましたこと、とても良い経験となりました。発表に際して、先生方より貴重なご意見を頂き、自分の研究を客観的に評価する機会を得ることができました。頂いた意見を反映させながら、今後の研究に励んでいきたいと考えております。将来、臨床検査技師として職に就く際には、日々進歩している医療に少しでも寄与できるよう、より一層精進していきます。