

氏名	かわむら まさと 河村 真人
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成30年9月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学 専攻
学位論文題目	黄色ブドウ球菌および緑膿菌に対する Mutant selection window を用いた消毒薬抵抗性に関する研究
論文審査委員	主査 教授 賀来 満夫 教授 児玉 栄一 教授 館 正弘

## 論文内容要旨

医療関連感染症の主な原因菌には、黄色ブドウ球菌および緑膿菌が挙げられる。特に、抗菌薬に耐性を獲得したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) および多剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistance *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) は感染症治療に難渋する。さらに、消毒薬のクロルヘキシジングルコン酸塩や塩化ベンザルコニウムに抵抗性を示す各種細菌の出現も報告されている。薬剤耐性菌は、菌に対する薬物濃度が最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) と完全に死滅する耐性菌出現阻止濃度 (mutant prevention concentration: MPC) に挟まれた耐性菌選択濃度域 (mutant selection windows: MSW) を推移する場合に出現しやすい。このような MSW の考え方は、消毒薬においてこれまで検討されていない。本研究は、黄色ブドウ球菌および緑膿菌に対する各種消毒薬の MSW を決定し、臨床使用濃度の妥当性評価、消毒薬抵抗性の獲得に関する検討をした。

本検討で使用した菌株は、2012年に東北地方の13病院から収集されたMRSA 30株を含む黄色ブドウ球菌 60株および緑膿菌 30株 (MDRP 2株を含む) を対象とした。これらの臨床分離株に対して、クロルヘキシジングルコン酸塩、塩化ベンザルコニウムおよび次亜塩素酸ナトリウムのMSWを決定した。また、黄色ブドウ球菌の薬剤排出ポンプをコードする *qacA/B* と *smr* 遺伝子の有無を検討した。さらに、各消毒薬のMSWに生残した黄色ブドウ球菌の *qacA/B* および *smr* 遺伝子、緑膿菌の *mexAB* 遺伝子の mRNA 発現量を比較した。

全ての黄色ブドウ球菌に対するクロルヘキシジングルコン酸塩のMSWは、日本の推奨使用濃度0.1-0.5%を下回っていた。しかし、0.1%クロルヘキシジングルコン酸塩では、そのMSW内に緑膿菌が18株(64.3%)およびMDRPが2株(100%)含まれ、抵抗性を獲得する可能性があった。また、塩化ベンザルコニウムの推奨使用濃度0.2%は、緑膿菌が12株(42.9%)およびMDRP 2株(100%)がMSWに含まれていた。最後に、次亜塩素酸ナトリウムの推奨使用濃度である0.02-0.05%は、そのMSWに全ての株が含まれており、殺菌されない可能性があった。

MRSA 30株中の4株(13.3%)が *qacA/B*、異なる3株(10.0%)が *smr* 陽性株であった。クロルヘキシジングルコン酸塩のMSWに生残した *qacA/B* または *smr* 陽性MRSAにおけるそれらの遺伝子の発現量は、各々2.47-5.30倍、4.06-6.28倍であった。また、塩化ベンザルコニウムのMSW生残 *smr* 陽性MRSAは、3.41-5.09倍の発現量であった。一方、*qacA/B* 陽性株および *smr* 陽性株に対する次亜塩素酸ナトリウム負荷による mRNA 発現量は、変化が認められなかった。緑膿菌の *mexAB* 発現量は、クロルヘキシジングルコン酸塩のMSW生残株で1.83-2.12倍であった。また、塩化ベンザルコニウムに生残した緑膿菌における *mexAB* 発現量は、3.12倍が最も

(書式12)

高かった。しかし、次亜塩素酸ナトリウムのMSW生残緑膿菌は、*mexAB*の発現量が2倍未満と低かった。

クロルヘキシジングルコン酸塩は*qacA/B*および*smr*遺伝子の発現、塩化ベンザルコニウムは*smr*遺伝子の発現に関与した。一方、緑膿菌の*mexAB*がコードする薬剤排出ポンプは、クロルヘキシジングルコン酸塩および塩化ベンザルコニウムを排出すると考えられた。しかし、次亜塩素酸ナトリウムの抵抗性は、本研究で対象とした遺伝子発現に関与しないことから、異なるメカニズムにより抵抗性を獲得すると考えられる。

本研究は、クロルヘキシジングルコン酸塩および塩化ベンザルコニウムの臨床使用濃度において緑膿菌の一部が殺菌されないことを示した。さらに、次亜塩素酸ナトリウムの臨床使用濃度は、全ての黄色ブドウ球菌および緑膿菌を殺菌できない可能性がある。したがって、各消毒薬を高濃度使用することが望ましいと考えられる。特に、日本における次亜塩素酸ナトリウムの環境使用濃度は低く、海外で用いられている0.4-0.5%濃度に設定すること必要がある。

## 審査結果の要旨

博士論文題名 黄色ブドウ球菌および緑膿菌に対する Mutant selection window を用いた  
消毒薬抵抗性に関する研究

所属専攻・分野名 医科学 専攻・ 感染制御・検査診断学 分野

学籍番号 B4MD5139 氏名 河村 真人

抗菌薬に耐性を獲得したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) および多剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistance *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) は、感染症治療や感染対策において臨床的に重要な病原微生物である。また、消毒薬のクロルヘキシジングルコン酸塩や塩化ベンザルコニウムに抵抗性を示す黄色ブドウ球菌および緑膿菌の出現も報告されている。近年では、セラチア菌による0.005%クロルヘキシジン含侵綿や50%イソプロパノール酒精綿汚染による院内感染死亡例の報告がある。また、国内の大学病院において経食道エコーの不十分な消毒により重大な MDRP の院内感染が発生している。

耐性菌選択濃度域 (mutant selection window: MSW) は、耐性菌出現阻止濃度 (mutant prevention concentration: MPC) と最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) に挟まれた濃度域である。MSW に生残する菌株は耐性変異株として検出されうるため、細菌感染症の治療に用いられる抗菌薬は、理論的に MSW を超える濃度で投与することが望ましいとされる。このように、抗菌薬の適正使用により耐性菌出現を抑制する知見は蓄積されてきたが、医療機関で日常的に多用される消毒薬において、MSW の理論は十分に検討されていない。本研究では、薬剤耐性菌が選択される MSW を消毒薬に応用し、黄色ブドウ球菌と緑膿菌に対する消毒薬の臨床使用濃度の妥当性評価、抵抗性獲得に関する検討を行った。0.1%クロルヘキシジングルコン酸塩では、その MSW 内に緑膿菌が 18 株 (64.3%) および MDRP が 2 株 (100%) 含まれ、抵抗性を獲得している可能性があった。また、塩化ベンザルコニウムの推奨使用濃度 0.2% は、緑膿菌が 12 株 (42.9%) および MDRP 2 株 (100%) が MSW に含まれていた。さらに、推奨使用濃度である 0.02-0.05%次亜塩素酸ナトリウムは、その MSW に全ての株が含まれていた。

これらの結果から、臨床使用濃度のクロルヘキシジングルコン酸塩および塩化ベンザルコニウムに抵抗性のある緑膿菌の選択、さらに、臨床使用濃度における次亜塩素酸ナトリウム抵抗性の黄色ブドウ球菌および緑膿菌を選択する可能性があることが示された。本研究は、MSW 理論の観点から消毒薬抵抗性に関する新しい知見をもたらした。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。