

# 論文内容要旨

## Disinfectant Susceptibility of Third-Generation-Cephalosporin/Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria Isolated from the Oral Cavity of Residents of Long-Term-Care Facilities

(長期療養施設入居者から分離した第三世代セファロスポリン/  
カルバペネム耐性グラム陰性菌の消毒剤感受性)

Applied and Environmental Microbiology, 2022,  
in press.

主指導教員：津賀 一弘教授  
(医系科学研究科 先端歯科補綴学)  
副指導教員：柿本 直也教授  
(医系科学研究科 歯科放射線学)  
副指導教員：内藤 真理子教授  
(医系科学研究科 公衆口腔保健学)

春田 梓

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

薬剤耐性菌（ARB）は世界的に深刻な問題である。ARBのうち、第三世代セファロスポリン耐性あるいはカルバペネム耐性腸内細菌科細菌、*Pseudomonas* 属、*Acinetobacter* 属を含むグラム陰性耐性菌（GN-ARB）は近年、耐性率の増加が問題視されている。GN-ARBは人体の様々な部位や病院環境などから分離される。口腔においては、長期療養施設（LTCF）の入居者の口腔からGN-ARBが分離されたとのLeら（2020）やKajiharaら（2022）の報告があるが、他に口腔由来のGN-ARBに関する報告はない。

一方で、主な死因の一つである肺炎には誤嚥性肺炎があり、特に高齢者において問題視される。誤嚥性肺炎を含む肺炎の起炎菌として、GN-ARBが報告されている。高齢者における肺炎予防として、口腔ケアの効果が報告されている。口腔ケアにおいて、使用される洗口剤の一部には消毒剤が含まれる。薬剤耐性菌は抗菌薬のみならず消毒剤にも耐性を有することも報告されているが、GN-ARBに対する消毒剤の効果は明らかでない。

本研究では、LTCF入居者の口腔から分離されたGN-ARBに対する、口腔内で使用される洗口剤に含まれる消毒剤の感受性を明らかにすることを目的とした。

#### 1：薬剤耐性菌の分離

LTCF6施設の入居者178名の口腔および便から2種類の選択培地（CHROMagar™ ESB, CHROMagar™ mSuperCARBA™ 寒天培地）を用いて第三世代セファロスポリンおよびカルバペネム耐性グラム陰性菌の分離を行った。口腔からは*Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* など口腔分離株52株（38名）を得た。便分離株については、口腔と同様の菌種をランダムに75株を本研究に使用した。

#### 2：消毒剤感受性試験

主に洗口剤に含まれる消毒剤である、ポビドンヨード（PVPI）、塩化セチルピリジニウム（CPC）、塩化ベンザルコニウム（BZK）およびグルコン酸クロルヘキシジン（CHX）を用いて微量液体希釈法にて最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。

その結果、PVPIでは菌種・菌株間で感受性に差は認められなかった。CPC、BZKおよびCHXでは菌種や菌株間で多様なMIC値を示した。菌種別では、*E. coli*や*Acinetobacter*, *Enterobacter* 属では高感受性を認め、一方で、*P. aeruginosa* ではCPCやBZKに対する低感受性を認めた。便分離株の感受性は口腔と同様の傾向を示した。

#### 3：消毒剤耐性遺伝子解析

分離菌のゲノム解析を行い、グラム陰性菌で報告されている消毒剤耐性遺伝子の有無を調べた。またMulti Locus Sequencing Type (MLST) 解析による遺伝子型 (ST) の同定や菌種における系統樹解析を行った。*P. aeruginosa* では*qacEΔ1* 遺伝子とCPCおよびBZK耐性に相関を認めた。また、*qacEΔ1* 遺伝子保有株は高いバイオフィーム形成能を示す遺伝子型ST235であった。*P. aeruginosa* では別の消毒剤耐性遺

伝子である *Mex* 遺伝子も全株で認めた。一方で、*E. coli* 分離株にも一部 *qacEΔ1* 遺伝子保有株は認められたが、消毒剤感受性との相関は認めなかった。*P. mirabilis* 分離株では全株に *qacEΔ1* 遺伝子と *smvA* 遺伝子を認め、CHX 耐性を示した。他菌種では感受性に関連する耐性遺伝子は認められなかった。さらに、口腔 GN-ARB の分離された 38 名のうち、9 名から同一菌種の薬剤耐性菌が口腔および便から分離され、6 名は同じ遺伝子型を示した。

#### 4：口腔における薬剤耐性菌の有無と臨床情報の関連

口腔 GN-ARB の分離株で臨床情報が入手できた 30 名について解析を行った。評価項目は、年齢・性別、全身状態を評価する Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG-PS)、入所前の状況、過去 1 か月以内の通院歴の有無、過去 6 か月以内の抗菌薬使用歴の有無、栄養摂取方法、既往歴の有無、歯数および口腔衛生状態を示す Oral health assessment tool-Japanese (OHAT-J) とした。単変量解析として Fischer の正確確率検定を用いた後、有意であった項目と年齢、性別を用いて、多変量解析としてロジスティック回帰分析を行った。その結果、CPC 耐性菌の保有と経管栄養の関連が認められた。

以上の結果から、LTCF 入居者の口腔から分離されたグラム陰性耐性菌の一部は、抗菌薬だけでなく消毒剤にも耐性を示すことが明らかとなった。LTCF などの高齢者施設において、洗口剤を用いた日常的な口腔ケアが行われることがあるため、特に周術期の高齢者に対して、有効な消毒剤の選択には消毒剤耐性への注意が必要であることが示唆された。