

Serratia marcescens 消毒薬耐性変異株の分離と耐性系の解析

○芳賀 仁美^{1,2}, 朝熊 弘樹¹, 小川 和加野¹, 黒田 照夫¹, 後藤 直正³,
土屋 友房¹(¹岡山大院医歯薬, ²岡山大薬, ³京都薬大)

【目的】消毒薬耐性の *Serratia marcescens* 株による院内感染が多数報告されている。*S. marcescens* による院内感染の防止を考える上で、この菌が持つ消毒薬耐性系の全貌を明らかにすることは意義深い。しかし現在までのところ、*S. marcescens* の消毒薬耐性系の解析報告は少ない。そこで私達はこの菌の消毒薬耐性系の解析を試みた。【方法】*S. marcescens* KS24 株より RND 型多剤排出ポンプ遺伝子 *sdeXY* を破壊した KS24 Δ *sdeXY* 株を用いて、消毒薬耐性変異株を分離した。最小生育阻止濃度(MIC)の1/8倍の濃度から、2倍ずつ消毒薬の濃度を上げ、KS24 Δ *sdeXY* 株の継代培養を行った。そしてその結果得られた耐性株の、消毒薬・抗菌薬のMICを測定した。また、それら耐性株について、RND型多剤排出ポンプ遺伝子の発現をRT-PCR法により調べた。【結果と考察】*S. marcescens* KS24 Δ *sdeXY*株から、Chlorhexidine, Benzalkonium, Triclosan 存在下での継代培養により、それぞれ親株のMICの128倍、32倍、8倍の濃度で生育できる耐性株を分離した。最終的に得られた耐性株について種々の抗菌薬などのMICを測定した結果、分離に用いた消毒薬だけでなく、他の消毒薬や複数の抗菌物質のMICも大幅に上昇していた。そこでRT-PCR法によりRND型多剤排出ポンプ遺伝子の発現変化を調べたところ、*sdeQ*の発現が上昇していた。さらに、これらの耐性株は継代培養により得られたため、複数の変異が積み重なっている可能性が考えられた。そこで、まずChlorhexidineを用いて分離した耐性株に関して、継代培養の途中段階の株についてもMICの上昇パターンと多剤排出ポンプの遺伝子発現変化を調べた。その結果、二つの段階でMICの顕著な上昇と*sdeQ*の発現上昇が見られた。得られた耐性変異株の多剤耐性パターンと遺伝子発現上昇から、RND型多剤排出ポンプSdePQ-OmsAは*S. marcescens*の主要な消毒薬耐性系の一つであると考えられる。