



A rapid and simple detection method for phenotypic antimicrobial resistance in *Escherichia coli* by loop-mediated isothermal amplification

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2021-04-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 太田, 悠介 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003826

論文審査の結果の要旨

2015 年 WHO で薬剤耐性 (antimicrobial resistance: AMR) に関する国際行動計画が採択され、我が国でも「AMR 対策アクションプラン」に基づいた対策が推進されている。抗菌薬の適正使用には、高精度かつ迅速な AMR 検出が求められるが、現行の薬剤感受性検査は迅速性に欠けている。Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法は、一定温度で全ての反応を行う迅速、簡便な遺伝子増幅法であり、4 種類のプライマーを用いるため特異性が高く反応液の濁度で遺伝子増幅が判定できること、特別な装置を必要としないことなどの利点がある。臨床検査において特定の病原微生物の検出に活用されているが、LAMP 法を利用した病原微生物の薬剤感受性測定系は確立されていない。

申請者らは、抗菌薬曝露下で培養した細菌及び非曝露菌について遺伝子レベルを LAMP 法で測定し両者を比較することにより薬剤感受性が評価できるかを検証した。まず、標準大腸菌株を用いて使用菌数、抗菌剤処理時間などの条件を最適化し、次に 46 種類の臨床分離株について DNA シークエンシングにより菌種を決定した後、LAMP 法による薬剤感受性検査を実施した。得られた結果について、微量液体希釈法による標準的な薬剤感受性検査との比較解析を行った。調べた 4 種類の抗菌剤 (levofloxacin、ampicillin、sulfamethoxazole-trimethoprim、fosfomycin) に対する感受性、耐性の判定はいずれも LAMP 法と微量液体希釈法でよく一致した。LAMP 法による薬剤感受性検査が高い特異性と検出感度を有することが示された。数時間で感受性検査が可能な本法は、判定に 1 昼夜要する微量液体希釈法に比べ明らかに時間短縮となる。実用化が期待できる迅速薬剤感受性検査法を初めて実証したこと、大腸菌だけでなく多様な病原微生物の薬剤感受性検査への応用・展開も期待できることを審査委員会では高く評価した。以上により、本論文は博士 (医学) の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 鈴木 哲朗

副査 本田 哲也 副査 新村 和也