

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

喜多 正和

京都府立医科大学大学院医学研究科実験動物センター

要 約

緑膿菌はグラム陰性のブドウ糖非発酵菌であり、土壌、淡水、海水中など、自然環境のいたるところに生息する環境中の常在微生物の一種である。本菌は、通常、免疫が正常な動物に対する病原性はないが、免疫不全動物が感染すると菌血症により死亡することもある日和見感染症の原因菌であるので、これらの動物においては排除対象病原体とすべきである。一方、ヒトの感染症としては、現在、多剤耐性緑膿菌の院内感染が問題になっており、感染症法においては定点報告対象となる5類感染症に分類されている。また、緑膿菌感染動物から動物実験を実施している研究者への伝搬が起り得ることが報告されており、今後、医療従事者が動物実験を実施する場合には、多剤耐性緑膿菌の伝搬が問題になる可能性が否定できないので注意が必要である。

1. 病原体

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) はシュードモナス属に属する、 $0.7 \times 2 \mu\text{m}$ 程度の大きさのグラム陰性好気性桿菌である。芽胞は形成せず、菌体の一端に1本の鞭毛(まれに2-3本)を持ち活発に運動する。細菌学的には、大腸菌や肺炎桿菌と同じくグラム陰性桿菌に分類されるが、ブドウ糖を発酵できない点などでそれらとは区別される。近縁の菌種として、蛍光菌 (*P. fluorescens*) や *P. putida* などがある。ピオシアニン、ピオベルジン、ピオルピン、ピオメラニンなどの色素を産生し、また、*o*-アセトアミノフェノンの産生により、甘酸っぱい特有の強い臭気を発する。緑膿菌という和名は、本菌が傷口に感染(創傷感染)したときに、しばしば緑色の膿が見られることから名付けられた。学名である *Pseudomonas aeruginosa* の種名の *aeruginosa* も「緑青に満ちた」を意味するギリシア語に由来し、本菌が作る緑色色素(ピオシアニン)に因んだ名称であるが、赤色、茶色、黄色などの色素を産生する菌株もある。本菌の中には、アルギネート(アルギン酸)という粘液性の多糖を多量に産生するものがあり、ムコイド型緑膿菌とよばれる。このアルギネートはバイオフィルムを形成し、環境中でも人体内でも重要な感染源となる。

本菌は、土壌、淡水、海水中など、自然環境のいたるところに生息する環境中の常在微生物の一種で

あり、湿潤な環境を特に好む。またヒトや動物の消化管内部にも少数ながら存在し、健康な成人の約15%、病院内では30-60%が本菌を保有していると言われる。本菌は他の病原細菌と比べて、発育には特殊な栄養を必要としない(栄養要求性が低い)ため、増殖しやすい細菌である。微量の有機物でも増殖が可能であり、長期保存している蒸留水の容器にすら、混入したわずかな有機物を栄養源として本菌が増殖することがある。人工的に培養する場合にも、アンモニウム塩を含む無機塩培地に、炭素源となる種類の有機物があれば培養が可能である。至適発育温度は37℃前後で、42℃程度の高温でも増殖可能であるが、低温(4℃以下)では増殖しない。有機物を分解して、アミンの一種であるトリメチルアミンを産生するため、独特の臭気(腐った魚のような臭い)を生じる。熱に対する抵抗性は他の細菌と同程度で比較的弱い部類に属する(55℃1時間処理で死滅)が、消毒薬や抗生物質などに対しては、広範囲強い抵抗性を有している。このため、長期間放置されている手洗い用の消毒液などの中からも分離されることがあり、院内感染の重要な原因菌である。

2. 病原性

1) ヒトにおける病原性

本緑膿菌は、健常なヒトに感染することはほとん

どない毒性の低い細菌であるが、免疫力が低下したヒトに日和見感染すると、緑膿菌感染症を引き起こす。院内感染によって発生することも多く、発症した場合、緑膿菌の持つ薬剤耐性のために薬剤による治療が困難であることも多い。 β -ラクタム系、アミノグリコシド系、ニューキノロン系の3系統の抗菌薬にそれぞれ有効なものがあるが、これらの系統すべてに対して耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌感染症も出現している。本菌はグラム陰性桿菌でありエンドトキシンを産生するため、何らかの原因で血液中に侵入し、菌血症や敗血症を引き起こすと、エンドトキシンショックが誘発され、多臓器不全により死亡することがある。その他、エキソエンザイムS(GTP-結合蛋白のADP-リボシル化酵素)やエキソトキシンA(蛋白合成に重要な役割を果たす伸長因子(EF-2)のADP-リボシル化による阻害)、さらに、コラゲナーゼ、フィブリノリジン、ホスホリパーゼなどの各種有害酵素を産生し、褥創などでは感染部位の細胞や組織を傷害する。

(1) 内因性感染症

癌などの悪性消耗性疾患などの末期には、腸管内などに生息する菌が、腸管の膜を通過し血液中に侵入することで、しばしば菌血症や敗血症などを続発する。このような事態は、患者の感染防御能力の低下に伴うものであり、防ぐことが困難な場合も多い。また、高齢者の慢性呼吸器疾患患者では、口腔や気管内の分泌粘液中に緑膿菌が定着している事も多く、肺炎などが重症化した際に増殖し、2次的に敗血症やエンドトキシンショックなどを続発する事がある。

(2) 外因性感染症

緑膿菌は、環境中に広く分布する細菌であるため、輸液用の製剤や点滴回路が汚染された場合、人為的に血中に菌が送り込まれる事態も発生しうる。同時多発的に、複数の患者から緑膿菌が分離される場合には、そのような事態も想定し緊急に原因の解明や対策を講じる必要がある。

2) 実験動物における病原性

本菌はマウス、ラットなど多くの実験動物から分離され、まれにマウスに中耳炎を起こし旋回症状を起こすことがあるが、通常、免疫が正常な動物に対する病原性はなく、免疫抑制処置や特殊な実験処置によるストレスなどにより発病することがある日和見病原体である。特に免疫不全動物が感染すると菌血症により死亡することがあるので、これらの動物に対しては排除対象病原菌とすべきである。また、緑膿菌感染動物から動物実験を実施している研究者への伝搬が起こり得ることが報告されており、今後、

医療従事者が動物実験を実施する場合には、多剤薬剤耐性菌が問題になる可能性は十分に考えられる。

本菌の伝播は、主に糞便を介した接触感染や、飲水を介して起こる。飲水を介する伝播防止には、塩素添加(5~10 ppm)が有効であるとされている。

3. 薬剤耐性菌と薬剤耐性機構

多剤耐性緑膿菌(Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP)は、我が国においては、カルバペネム薬(IPM: $\geq 16 \mu\text{g/ml}$)、アミノグリコシド薬(AMK: $\geq 32 \mu\text{g/ml}$)、キノロン薬(CPFX: $\geq 4 \mu\text{g/ml}$)の3系統の薬剤に対する耐性を獲得した緑膿菌とされている。現在、MDRPに対する有効な抗菌薬はきわめて少ないのが現状であり、MDRP感染症患者は易感染性や重症度の高い患者であることが多いことから死亡率も高い。抗菌薬としては、まず薬剤感受性の評価により、カルバペネム薬やアミノグリコシド薬、キノロン薬などのなかで感受性を有する薬剤を検討する。2系統耐性の場合ではアミノグリコシド薬が比較的、感受性のことがある。我が国で最も多く分離されるメタロ β -ラクタマーゼであるIPM型の産生の有無は、SMAディスク法を用いて判定することができる。また、MDRPに対する抗菌薬の併用効果がある組み合わせについて、ブレイクポイント・チェッカーボード法などで検討することが可能である。

薬剤耐性菌は染色体上に存在するampC遺伝子に依存して、セファロスポリナーゼ(AmpC)を産生し、アンピシリンなどのペニシリン系抗生物質やセファロスポリン系抗生物質に耐性を示す。また、臨床分離される株の大半が、修飾不活化酵素の産生や薬剤排出機構によりエリスロマイシン、クリンダマイシン、ミノサイクリンなどにも耐性を示す。一方、プラスミド依存性にゲンタミシンやアミカシンなどのアミノ配糖体系抗生物質の修飾不活化酵素を産生し、これらに耐性を示すものがある。さらに、染色体上に存在するDNAジャイレースやトポイソメラーゼの遺伝子に変異し、シプロフロキサシンやレボフロキサシンなどのフルオロキノロン系抗菌薬に耐性を獲得した株も多くなっている。一方、大腸菌などの他の細菌に比べ、緑膿菌では抗菌薬が細菌の膜を透過し菌体内に侵入する効率が低いため、抗菌薬が効きにくいと言われてきた。さらに、菌体内へ侵入した抗菌薬を菌対外へ排出する機構(能動排出ポンプ, active efflux pump)などの関与により、各種の抗菌薬や消毒薬に対し、より耐性を獲得しやすいと言われてきている。

4. 検査法および診断法

実験動物における緑膿菌感染の診断法は、盲腸内容物、糞便からの菌分離が最適である。緑膿菌は普通寒天培地、BTB培地、血液寒天培地などほとんどの培地でも発育するが、一般的には緑膿菌の分離培地として開発されたNAC寒天培地を用いる。本培地は、緑膿菌の蛍光色素（ピオシアニン、フルオレセイン）産生能を強化することで鑑別を容易にしており、グラム陽性菌および緑膿菌以外のグラム陰性菌は大部分が抑制される。NAC寒天培地に検体（糞便、盲腸内容物等）を接種し、37℃、48時間培養すると、緑膿菌は青緑色あるいは黄緑色の蛍光性あるいは非蛍光性の集落を形成し、ムコイド型の集落は正円形、盛り上がった透明な粘張性のある集落を形成する。菌の同定には、アピ20NEなどの同定キットが用いられるが、近年、PCR法やLAMP法による遺伝子診断法も開発されている。

5. ヒトに対する治療および予防

緑膿菌は、「流し台」などの「水回り」からしばしば分離される常在菌であるため、この菌が、医療施設内の環境を広範に汚染しないよう、日常的に病室病棟の清掃や流し台、入浴施設などの清潔や消毒に心掛ける。また、人工呼吸器、ネブライザー、吸痰チューブなどの汚染にも注意し、処置時の手袋の着用などにより、菌の拡散や伝播を抑制する。本菌は、

口腔や腸管内にも棲息する菌であるため、喀痰や便などから少量菌が分離された場合でも、呼吸器感染症などの感染症症状を呈していない場合や感染症の主起因菌となっていない場合には、除菌の目的で積極的な抗菌薬投与は行わない。菌量が多く、しかも、喀痰中などの好中球による貪食像が見られ、気管支炎や肺炎などの主起因菌と考えられる場合や、血液、腹水など無菌的であるべき臨床材料から菌が分離された場合には、遅滞無く、有効性が期待できる抗菌薬による化学療法を実施する。また、「内因性感染症」か「外因性感染症」かの判定を行い、外因的な感染源が想定または特定された場合には、その対策を講じる。

参考文献

1. 荒川宜親. 薬剤耐性緑膿菌感染症.
http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k00-g45/k00_367.html
2. 浦野 徹. 緑膿菌の実験動物とヒト間の伝播及びその防除対策.
https://kaken.nii.ac.jp/d/p/03680041_ja.html
3. ウィキペディア：緑膿菌.
<http://ja.wikipedia.org/wiki/緑膿菌>
4. ICLAS モニタリングセンター：緑膿菌.
http://www.iclasmonic.jp/microbiology/category/category_d.html
5. 嶋田高弘, 村松 到. 2014. 緑膿菌の免疫回避機構, *Jpn. J. Clin. Immunol.* 37: 33-41.