

平成 28 年 3 月 22 日現在

機関番号：32607

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659306

研究課題名(和文) 特異抗体を利用した多剤耐性菌の迅速検出法の確立と臨床応用に関する研究

研究課題名(英文) Studies on rapid detection methods for multi-drug resistant bacteria by using specific antibodies

研究代表者

岡本 了一 (OKAMOTO, Ryoichi)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：30224083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：多剤耐性を示す緑膿菌、アシネトバクター、腸内細菌群などのグラム陰性桿菌の多くはカルバペネマーゼを産生することが多い。これら多剤耐性菌は世界的に増加傾向にあり臨床上の大きな問題となっている。カルバペネマーゼにはいろいろな種類があるが、中でもIMP型、VIM型、NDM型、KPC型などのカルバペネマーゼが広く分布していると考えられている。そこで、IMP型およびKPC型に対する特異抗体を用いてカルバペネマーゼ産生菌を簡便かつ迅速に検出する方法の開発を試みた。

研究成果の概要(英文)：Multidrug-resistant gram-negative rods including *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and Enterobacteriaceae has become one of the most serious public health worldwide. These pathogens often produce carbapenemase including IMP-, VIM-, NDM- and KPC-types. We tried (attempted) to develop a easy and rapid detection method of carbapenemase-producing Gram-negative rods by using specific-antibodie.

研究分野：医歯薬学

キーワード：カルバペネマーゼ 特異抗体 多剤耐性菌 迅速診断法

## 1. 研究開始当初の背景

新規抗菌薬の開発スピードが遅くなった今日、薬剤耐性菌の増加は臨床現場において感染症治療上の重大な問題をもたらしており、日本化学療法学会や日本感染症学会などでも薬剤耐性菌のまん延を防ぐために、抗菌薬の適正使用を盛んに呼びかけている。中でも、世界的規模で緑膿菌やアシネトバクター等の多剤耐性菌のまん延が問題となりつつある。

多剤耐性緑膿菌や多剤耐性アシネトバクターとは、β-ラクタム系、アミノグリコシド系およびフルオロキノロン系の3系統の抗菌薬に同時に耐性を示す菌株であり、臨床的に大きな問題となっている。また、このような多剤耐性化は大腸菌や肺炎桿菌等の腸内細菌科の菌においても検出されるようになり新聞・テレビに報道されるとともに、厚生労働省も強い関心を持っている。

β-ラクタム薬は、その安全性の高さから最も多く使用されている抗菌薬であるが、近年、緑膿菌を含むグラム陰性桿菌の中にβ-ラクタマーゼ産生によるβ-ラクタム薬耐性菌が増加しており、臨床現場では抗菌薬の選択に苦慮している。β-ラクタマーゼは、β-ラクタム薬を分解する酵素の総称で、生化学性状の違いから分類され、約900種類の酵素が報告されている (Bush K et al. *Antimicrob Agents Chemother* 54:969,2010)。これらの酵素の中にあって、カルバペネム系β-ラクタム薬を加水分解する酵素はカルバペネマーゼと呼ばれ、最も基質特異性が広く、ペニシリン系、第1・2・3世代セフェム系、第4世代セフェム系、セファマイシン系、モノバクタム系、カルバペネム系のほとんどを分解することから、臨床で最も注意を要するβ-ラクタマーゼである。今日、臨床的に問題になっている多剤耐性緑膿菌、多剤耐性アシネトバクターおよび多剤耐性腸内細菌(大腸菌や肺炎桿菌等)と呼ばれるものの多くの場合、カルバペネマーゼを産生している場合がほとんどである。ただし、多剤耐性緑膿菌、多剤耐性アシネトバクターの場合にはカルバペネマーゼを産生するとそのMICが高く耐性を示すが、多剤耐性腸内細菌群の場合には、カルバペネマーゼを産生していてもMICが低く感受性菌として判定される場合が多く、いわゆる「隠れ多剤耐性菌」となる場合が多い。この点がアミノグリコシド耐性やフルオロキノロン耐性と異なる点である。従って、カルバペネマーゼ産生菌をきちんと検出・同定することが、多剤耐性菌のまん延を防ぐ上でも重要になってくる。カルバペネマーゼには、多くの種類が存在する。Amblerが提唱した分類法では、クラスAではSME型、IMI型、KPC型、GES型など、クラスBではIMP型、VIM型、SPM型、GIM型、SIM型、NDM型など、クラスDではOXA型など報告されている。それぞれの型の酵素には複数の亜型が存在する。これらの酵素のうち、世

界的に問題になっている酵素は、IMP型(日本を中心)、VIM型(欧州を中心)およびKPC型(米国を中心)がその主なものである (Hawkey PM et al., *J Antimicrob Chemother* 64(Suppl.1): i3-i10, 2009)。

## 2. 研究の目的

今日、世界的規模で多剤耐性緑膿菌や多剤耐性アシネトバクター等の多剤耐性菌の増加が問題となりつつあり、わが国も例外ではない。多剤耐性菌とは、β-ラクタム系、アミノグリコシド系およびフルオロキノロン系の3系統の抗菌薬に同時に耐性を示す菌株であり、治療薬がほとんどなく、そのまん延は社会的にも大きな問題である。薬剤耐性菌の検出は、一般的に感受性測定法やPCR等による遺伝子検査法によることが主流であり、抗体を利用した耐性菌の検出法はほとんどない状況である。

本研究の目的は、特異抗体を用いたイムノクロマト法やラテックス凝集法等の免疫学的検出法によるカルバペネマーゼの迅速検出法を確立し、施設の整っていない中小病院の細菌検査室でも安価かつ簡便に用いることのできるようキット化することである。そこで、平成23~25年度の3年間で、カルバペネマーゼのイムノクロマト法やラテックス凝集法等による免疫学的検出法のキット化の可能性を探る研究計画を立案した。さらに、本研究計画が達成された場合には、アミノグリコシド修飾酵素やジャイレース・トポイソメラーゼ等へと応用範囲を広げ、最終的には多剤耐性菌を迅速に検出できるキットの実用化を目指した。

臨床分離菌からのカルバペネマーゼを含むβ-ラクタマーゼ検出法としては、β-ラクタマーゼ阻害剤を用いた薬剤感受性測定法、等電点電気泳動法、DNAハイブリダイゼーション法、PCR法(RT-PCR法を含む)、⑤酵素特異的抗体を用いる免疫学的方法などが報告されている。阻害剤を用いる方法は、実際に細菌検査室で行われているが、複数の異なる酵素を産生している場合には、正確に検出できないなど検出法としては限界がある。及びの方法は、操作が繁雑であることや特殊な機器を用いるためルーティンワークとして実施するには限界がある。PCR法を用いた検出法は、迅速・簡便な方法ではあるが、個々の産生遺伝子に特異的なプライマーを用いるために、特定のβ-ラクタマーゼ産生遺伝子の検索には有用であるが、いろいろな種類の産生遺伝子を一度に検出する方法としては限界がある。また、迅速とはいえ、RT-PCR法でも検出までに2~3時間かかる。さらに、PCR法では産生遺伝子を検出することから、何らかの原因により酵素を産生していなくても、遺伝子が存在するだけで検出してしまう危険性がある。加えて、PCR法は特殊な機器を必要とすることから、大学病院など施設の整った細菌検査室では

可能であるが、中小の病院の細菌検査室では自前で検査を行うことは難しい。これらの点を考慮すると、の抗体を用いる免疫学的検出方法は、直接酵素を検出するため、より正確な情報を提供する。また、検出時間も5～15分と非常に短い。しかしながら、免疫学的方法は1980年代に酵素特異的な抗体を用いて、酵素活性阻害を指標に分類していたが、今ではほとんど行われていない。なぜ特異抗体を利用した検出法がカルバペネマーゼを含むβ-ラクタマーゼの検出法として確立されていないか、その理由は定かではない。近年、抗CMY-2特異抗体（酵素特異的ポリクローナル抗体）とELISA法を用いた方法により、抗CMY-2特異抗体は近縁の酵素（アミノ酸相同性50%以上）と反応することが報告されている（Hujer AM et al. *Antimicrob Agents Chemother* 40:1947,2004）。このことは、IMP型（1～28亜型が存在）、VIM型（1～26亜型）およびKPC型（1～11亜型）には、それぞれ複数の亜型が存在しても、共通の抗原が存在するために特異抗体による検出の可能性を示している。この点が、本研究計画の独創的な着眼点であり、かつ本研究計画が実現可能な計画であることを示唆しており、挑戦的萌芽研究としてチャレンジした。

### 3. 研究の方法

#### (1) カルバペネマーゼ特異抗体の作製

当初の計画では、DDBJ/EMBL/GenBankデータベースに登録されている3種類のカルバペネマーゼ（IMP型、VIM型、KPC型）のアミノ酸を検索することにより特異性を示す抗原ペプチドを検索・合成し、それを用いてポリクローナル抗体を作製する予定であった。しかし、東日本大震災により甚大な被害が生じたことにより緊急財源確保のために、本年度は研究費の減額支給の可能性の通達を受けたことから、研究費不足が懸念されたため、特異的抗体作製計画を見直し、その一部の変更を行った。すなわち、当初の計画で作製した抗体の特性性を検定するためのレファレンスとなるカルバペネマーゼを大量に精製した後に、精製酵素を用いて特異的抗体を作成することに計画変更した。精製する酵素は、IMP-1およびKPC-1の2種類とした。

カルバペネマーゼを精製するための産生遺伝子の大腸菌発現ベクターへのクローニング

大腸菌の発現ベクターシステムであるGST Gene Fusion Systemを用いてベクターpGEX-6P-1(GE Healthcare)のクローニングサイトに制限酵素BamH1およびEcoR1を用いてIMP-1およびKPC-1のカルバペネマーゼ産生遺伝子をそれぞれPCRクローニングして、*E. coli* BL21に形質転換し、GST融合蛋白質として効率よく発現させ、固定化グルタチオンで簡単に精製することとした。

PCRクローニング方法についてはGET Gene Fusion Systemハンドブック(GE Healthcare)に従った。

GST融合蛋白質として発現したカルバペネマーゼの精製

ベクターpGEX-6P-1にクローニングしたIMP-1およびKPC-1産生遺伝子をもつプラスミドを*E. coli* BL21に形質転換し、大量培養を行った。すなわち、35℃培養した後IPTGを添加してさらに培養することによりGET融合蛋白質を高発現させた。集めた菌体からGET Gene Fusion Systemハンドブックに従って、GET融合蛋白質および目的酵素を精製した。すなわち、超音波処理による細胞抽出液の調整→GSTTrap FFカラムによるGST蛋白質の精製→GET蛋白質のPreScissionプロテアーゼ処理による切断→GSTTrap FFカラムによる目的酵素とGSTの分離により精製した。

#### 抗体の作製

精製したIMP-1 (IMP72)およびKPC-1 (KPC84)に対する特異的抗体の作製は、スクラム株式会社に委託した。IMP-1についてはウサギを用いたポリクローナル抗体作製を、KPC-84についてはマウスを用いたモノクローナル抗体の作製を依頼した。

#### (2) カルバペネマーゼ産生菌の収集

多剤耐性緑膿菌や多剤耐性アシネトバクターなどのカルバペネマーゼ産生菌では、カルバペネム系抗菌薬に対して明らかに耐性を示す。一方、腸内細菌科ではカルバペネマーゼを産生しているにもかかわらず明らかな耐性を示さない場合がある。これらに関連して、近年、CLSIなどのガイドラインでもブレイクポイントの改正が行われている。我々は、当院の腸内細菌におけるカルバペネマーゼ産生菌の分離状況について調査した。2006年1月から2012年12月に、北里大学病院細菌検査室で分離された、*E. coli*、*K. pneumoniae*、*E. cloacae*、*C. freundii*、*S. marcescens*の中で、CAZのMIC 16μg/mlを示す菌株を対象とし、分離菌の背景、薬剤感受性及びカルバペネマーゼ産生菌の分離率を確認した。

### 4. 研究成果

#### (1) カルバペネマーゼ特異抗体の作製

カルバペネマーゼ産生遺伝子のクローニング

IMP-1 酵素産生菌である *E. coli* X1037<sup>nal</sup>/pMS361 および KPC-1 酵素産生菌である *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 を用いてそれぞれの産生遺伝子を GST Gene Fusion System のベクター pGEX-6P-1(GE Healthcare) に制限酵素 BamH1 および EcoR1 を用いて PCR クローニングした。目的の遺伝子を持つクローンからプラスミド

を精製し、シーケンスを行って目的の遺伝子であることを確認した。IMP-1 酵素産生遺伝子をもつプラスミドを pIMP72、および KPC-1 酵素産生遺伝子をもつプラスミドを pKPC84 とした。

### GST 融合蛋白質として発現したカルバペネマーゼの精製

#### -1: IMP-1 酵素について

*E. coli* BL21/pIMP72 を 35 °C で大量培養および IPTG により発現誘導して集菌した菌体を用いて、IMP-1 酵素を精製した。GETTrap FF カラムを用いて GST Gene Fusion System ハンドブックに従い精製を行った。精製過程の各ステップの標品の純度は図 1 に示した。最終的に分子量 25,000 の蛋白を精製・濃縮して抗体作製の抗原として使用できる精製度であることが確認されたので、カルバペネマーゼ IMP-1 標品とした。本標品の β-ラクタマーゼ活性はニトロセフィンを用いて確認した。

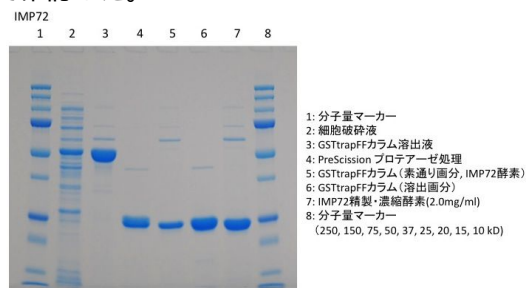


図 1 IMP-1 酵素の精製

#### -2: KPC-1 酵素について

*E. coli* BL21/pKPC84 を同様に 35 °C で大量培養および IPTG により発現誘導して集菌した菌体を用いて精製を試みたが、超音波破砕液には GST 活性が認められず、封入体を形成していることが明らかになった。そこで *E. coli* BL21/pKPC84 の場合には、35 °C で大量培養し、IPTG を添加した後、25 °C で発現誘導して集菌した菌体を用いて KPC-1 酵素を精製した。さらに、封入体を可溶化し、リフォールディングするために、Rapid GET Inclusion Body Solubilization and Renaturation Kit (CELL BIOLABS, INC.) を用いた。封入体を可溶化・リフォールディングした後は、IMP-1 の精製と同様に GETTrap FF カラムを用いて GST Gene Fusion System ハンドブックに従い精製を行った。精製過程の各ステップの標品の純度は図 2 に示した。

最終的に分子量 28,000 の蛋白を精製・濃縮して抗体作製の抗原として使用できる精製度であることが確認されたのでカルバペネマーゼ KPC-1 標品とした。

本標品の β-ラクタマーゼ活性はニトロセフィンを用いて確認した。

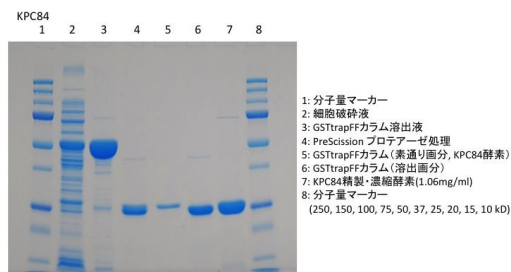


図 2 KPC-1 酵素の精製

### 抗体の作製および特異性

#### -1: 抗 IMP-1 抗体について

ウサギ 2 羽に抗原感作してポリクローナル抗体を作製した。試験採血して感作抗原を用いて ELISA を行って抗体価の上昇を確認した。その結果、5 回の抗原感作で十分な抗体価が得られたので全採血・血清分離を行った。さらに、ウサギ No.2 の血清についてはアフィニティーカラムを用いて IgG 分画を精製し、濃度 0.4 mg/ml の IgG 分画を得た。

これら作製したポリクローナル抗体については、オクタロニー法によるゲル内沈降反応を行い、特異的に反応して沈降線を形成することが確認された (図 3)。

#### IMP72のゲル内沈降反応

Ag: IMP72 (1.08 mg/ml 精製標品) を 5 倍希釈 (Ag 量: 5 μg)  
Ab: 抗 IMP72  
液量: 25 μl/well

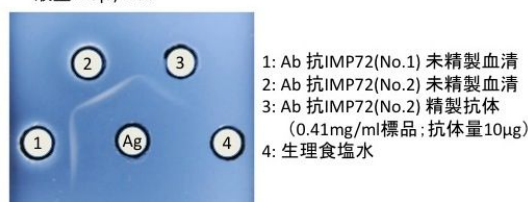


図 3 ゲル内沈降反応

#### -2: 抗 KPC-1 抗体について

マウス 3 匹を用いて抗原感作を行った後、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの確立を行った。確立された合計 14 クローンのハイブリドーマについて、これらが産生するモノクローナル抗体のエピトープについて検討を行った。本研究計画では、少なくとも 2 種類の異なるエピトープに対するモノクローナル抗体が必要であることから、抗原感作に用いた精製 KPC-1 酵素および KPC-1 のアミノ酸配列からエピトープとして予測される 3 種類の合成ペプチド (133-172aa, 180-204aa および 240-260aa) を抗原とした ELISA 法により、得られたハイブリドーマが産生するモノクローナル抗体の分類を試みた。その結果、すべてのモノクローナル抗体は精製 KPC-1 抗原および 133-172aa ペプチドに陽性反応を示したが、180-204aa および 240-260aa のいずれにも反応を示さなかった。すなわち、得られたすべてのハイブリドーマが、同一エピトープに対するモノクローナル抗体を産生しているこ

とを強く示唆しており、少なくとも異なる 2 種類のモノクローナル抗体を必要とする検出法の開発には用いることができないことが判明した。精製 KPC-1 酵素を用いて抗原感作を行ったにもかかわらず、確立されたモノクローナル産生ハイブリドーマがなぜ同一エピトープに対するものであったかは現時点では不明である。今後、抗 KPC-1 モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの確立には、予想されるエピトープを含む合成ペプチドにより抗原感作を行う方法を検討する必要がある。

### (2) カルバペネマーゼ産生腸内細菌の収集

2006 年 1 月から 2012 年 12 月に、北里大学病院細菌検査室で分離された 417 株中同一検体同一感受性株を除いた 374 株とした。内訳は *E. coli* 204 株 (54.5%)、*E. cloacae* 95 株 (25.4%)、*K. pneumoniae* 61 株 (16.3%)、*C. freundii* 12 株 (3.2%)、*S. marcescens* 2 株 (0.5%) であった。分離材料は尿 133 例、血液 85 例、喀痰 40 例、便 39 例、カテーテル類 20 例、膿 12 例、ドレーン・浸出液各 7 例、髄液 6 例、その他 25 例であった。

PCR を用いて *bla*<sub>IMP-1</sub> の検索を行ったところ、11 株 (2.9%) が陽性であり、*E. cloacae* 6 株、*K. pneumoniae* 3 株、*E. coli* 2 株であった。IPM の MIC が 2 $\mu$ g/ml を示す 60 株のうち 6 株 (10.0%)、4 $\mu$ g/ml を示す 4 株のうち 3 株 (75.0%)、8 $\mu$ g/ml を示す 5 株のうち 2 株 (40.0%) が *bla*<sub>IMP-1</sub> 陽性であった。1 $\mu$ g/ml には認められなかった。

### (3) ラテックス粒子を用いた迅速検出法の確立

抗体作製の項で述べたように、抗 IMP-1 ポリクローナル抗体はウサギを用いて作製・精製することができた。しかしながら、抗 KPC-1 モノクローナル抗体の作製を試みたが、1 種類のエピトープに対するモノクローナル抗体産生ハイブリドーマの確立しかできていない可能性が高く、イムノクロマト法やラテックス粒子を用いた迅速検出法には、少なくとも異なる 2 種類に抗体が必要であることから、本研究で確立したモノクローナル抗体は現時点では使用できない。従って、異なった 2 種のモノクローナル抗体が必要であるイムノクロマト法の確立ではなく、ポリクローナル抗体でも可能なラテックス粒子を用いた凝集反応系の確立を、抗 IMP-1 ポリクローナル抗体を用いて行うこととした。

#### ラテックス粒子を用いた凝集反応系

ラテックス粒子として Estapor® White Microsphere K1-030(ミリポア)を用いた。ラテックス粒子への精製した抗 IMP-1 ポリクローナル抗体の吸着は、使用マニュアルに従った。抗 IMP-1 抗体吸着ラテックス粒子 20 $\mu$ l を凝集板に取り、タンパク量として 0.1, 0.2, 0.4 $\mu$ g/20 $\mu$ l となるように調整した精製

IMP-1 酵素 (IMP72) をそれぞれ凝集板に取り混和した。対照としてバッファー 20 $\mu$ l を用いた。その結果、図 4 に示した通り、バッファーのみでは自然凝集が起こらず、精製酵素 0.1 $\mu$ g で凝集が認められた。凝集反応は酵素タンパク量が増加するにつれて強陽性反応を示した。

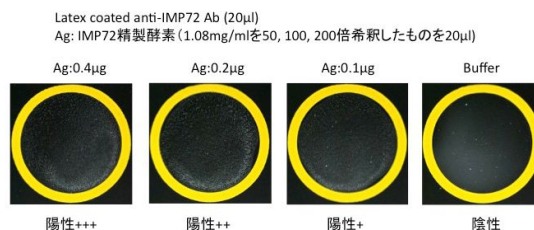


図 4 ラテックス凝集反応

#### 試験菌からのカルバペネマーゼ酵素抽出

IMP-1 特異抗体を吸着させたラテックス粒子と精製酵素の間では、特異的な凝集反応が認められることから、次にカルバペネマーゼ産生菌から直接酵素を抽出して、凝集反応を行う系の検討を行った。

試験菌からの酵素の抽出には、ポリミキシン B(1mg/ml)/0.1% Triton X-100 を用いることとした。対照には市販されているタンパク質抽出用試薬 1xBugbuster (タカラバイオ) を用いた。すなわち、試験菌を楊枝で少量掻き取り、抽出用試薬 100 $\mu$ l に懸濁した。室温に 10 分間放置した後、12,000rpm, 5 分間遠心して、その上清を酵素液として、述べたラテックス凝集反応を行った。

その結果、表 1 に示したように、ポリミキシン B(1mg/ml)/0.1% Triton X-100 は 1xBugbuster と同様にカルバペネマーゼ産生菌から短時間で酵素タンパク質を抽出できることが明らかになった。さらに、試験菌として IMP-1 とは種類の異なるカルバペネマーゼである KPC-1 や NDM-1 産生菌を用いたが、これの酵素産生菌では凝集反応は陰性であり、本研究で確立したカルバペネマーゼ特異的抗体を用いたラテックス凝集反応の特異性を示すことができた。

表 1 ラテックス凝集反応

菌 株	カルバペネマーゼの種類	ラテックス凝集反応	
		ポリミキシン/0.1% Triton X-100	1xBugbuster
<i>E. coli</i> R-1823	IMP-1	+	+
<i>E. cloacae</i> R-1883	IMP-1	+	+
<i>E. cloacae</i> R-1888	IMP-1	+	+
<i>K. pneumoniae</i> R-1891	IMP-1	+	+
<i>P. aeruginosa</i> R-1656	IMP-1	+	+
<i>K. pneumoniae</i> R-1828	KPC-1	-	-
<i>K. pneumoniae</i> R-1829	NDM-1	-	-
<i>E. coli</i> ATCC25922	negative	-	-

本研究の目的は、作製した抗カルバペネマーゼ特異抗体を用いたカルバペネマーゼ産生菌の迅速簡便検出法の確立である。

抗 IMP-1 ポリクローナル抗体を吸着させたラテックス粒子とポリミキシン B を用いた簡便な酵素抽出法を組み合わせた迅速ラ

テックス凝集反応系を確立した。ポリクローナル抗体を用いる方法では、抗体を得るためには、その都度、抗原の免疫を行い、抗体を作製・精製することが必要である。そこで、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの確立を行えば、ハイブリドーマの培養上清から簡単にモノクローナル抗体を生成することが可能である。しかし、ラテックス凝集反応を行うには、少なくとも2種の異なるエピトープに対する特異抗体が存在しなければ、原理的にラテックス粒子の凝集は起こらない。今回の研究計画では、抗 KPC-1モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの確立を検討したが、残念ながら、2種以上の異なるエピトープに対する特異抗体を産生するハイブリドーマの確立はできなかった。現時点では、その原因は明ではないが、例えば酵素のアミノ酸配列から予想される複数のエピトープを選択し、それぞれのアミノ酸配列を含む合成ペプチドを作製し、感作抗原として用いることにより、異なったエピトープに対するモノクローナル抗体産生ハイブリドーマの確立が可能であると考えている。このようにして得られた2種以上のエピトープに対するモノクローナル抗体を組み合わせることによって、今回ポリクローナル抗体を用いて実証したと同様のラテックス凝集反応系を確立することが可能である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Takayama Y., Adachi Y., Nihonyanagi S., Okamoto R. Modified hodge test using Muller-Hinton agar supplemented with cloxacillin improved screening for carbapenemase-producing clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. J. Med. Microbiol. 64: 774-777, 2015. (査読有り) doi: 10.1099/jmm.0.000068

〔学会発表〕(計 5件)

高山陽子, 安達謙, 二本柳伸, 平田泰良, 中村正樹, 砂川慶介, 岡本了一: 当院の腸内細菌におけるカルバペネマーゼ産生菌の分離状況. 第62回日本化学療法学会総会, 2014年6月18日, 福岡市.

高山陽子, 安達謙, 二本柳伸, 平田泰良, 砂川慶介, 岡本了一: 当院における腸内細菌のカルバペネム系薬に対する感受性動向. 第60回日本化学療法学会総会, 2012年4月27日, 長崎市.

高山陽子, 平田泰良, 二本柳伸, 砂川慶介, 岡本了一: カルバペネマーゼ産生菌を検出する Modified Hodge TEST (MHT)の改良について. 第58回日本化学療法学会東日本支部総会, 2011年10月28日, 山形市.

Takayama Y., Adachi Y., Nihonyanagi S., Takagi Y., Fujiki K., Hirata Y., Sunakawa K., Okamoto R.: Improved

performance of the modified hodge test using the Mueller-Hinton agar supplemented with cloxacillin for Screening carbapenemase-producing isolates in Enterobacteriaceae. 51<sup>st</sup>Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011.9.19, Chicago (USA).

高山陽子, 安達謙, 二本柳伸, 中崎信彦, 平田泰良, 砂川慶介, 岡本了一: 当院におけるカルバペネム系薬剤に感受性を示すカルバペネマーゼ産生菌の動向. 第59回日本化学療法学会総会, 2011年6月25日, 札幌市.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

岡本 了一 (OKAMOTO, Ryoichi)  
北里大学・医学部・講師  
研究者番号: 30224083

### (2)研究分担者

高山 陽子 (TAKAYAMA, Yoko)  
北里大学・医学部・講師  
研究者番号: 80286278