

令和6年度 薬剤耐性菌の分子疫学解析結果

保健科学課 感染症担当

1 事例1

1.1 概要

令和6年4月から6月にかけて、福岡市内の医療機関Aから *Enterobacter cloacae* によるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）感染症の発生届出が4件あった。4名は全て同一病棟の患者で分離された菌種も同一であったことから、院内感染が疑われた。関連性を調べるため、患者及び施設から分離された菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による分子疫学解析（以下、「PFGE解析」とする。）を実施した（解析1）。また、同年11月にも当該病棟から同一菌種による CRE 感染症の

発生届出があった。解析1との関連性を調べるため、患者から分離された菌株について PFGE 解析を実施した（解析2）。さらに、同時期の当該病棟内のスクリーニング検査により、保菌者2名と施設からカルバペネム耐性を示す同一菌種の菌株が分離された。解析1との関連性を調べるため、分離された菌株について PFGE 解析を実施した（解析3）。

1.2 解析1

PFGE 法は既報¹⁾に従って実施した。検体情報を表1に示す。また、泳動像を図1に、検体の類似度を表2に示す。分子疫学解析の結果、5検体全てのバンドパターンが一致した。

表1 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルバペネム耐性遺伝子	AmpC遺伝子	
1	患者分離株①	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年4月分離
2	患者分離株②	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年5月分離
3	患者分離株③	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年5月分離
4	患者分離株④	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年6月分離
5	施設分離株①	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年5月シンク a から分離

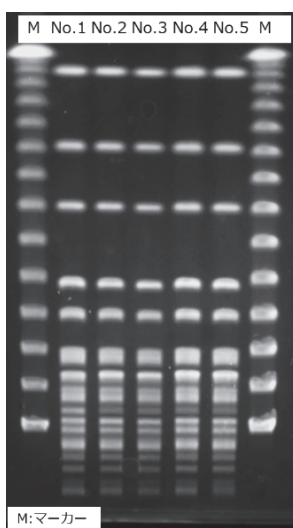


図1 PFGE 泳動

表2 検体の類似度（Dice 法）

検体	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
No.1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
No.2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
No.3	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
No.4	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
No.5	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

分子疫学解析結果：検体 No.1～5 は同一由来

1.3 解析2

PFGE 法は既報²⁾ に準じて実施した。検体情報を表 3 に、検査条件を表 4 に示す。また、泳動像を図

2 に、検体の類似度を表 5 に示す。分子疫学解析の結果、2 検体全てのバンドパターンが一致した。

表 3 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルバマペネマーゼ遺伝子	AmpC 遺伝子	
1	患者分離株⑤	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年11月分離
2	患者分離株①	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年4月分離

表 4 PFGE 検査条件

菌体処理	80℃, 1 時間
制限酵素	FastDigest Bcu I, 37℃, 15 分間
泳動条件	アガロース濃度: 1%, 電圧: 6 V/cm
	泳動 Buffer 温度: 14℃, 電圧角度: 120°
	スイッチング時間: 12.6 秒~40.1 秒
	泳動時間: 19 時間

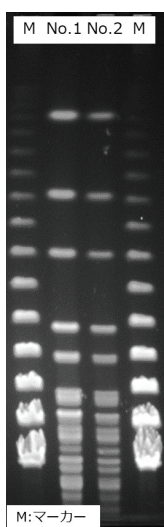


図2 PFGE泳動像

表 5 検体の類似度 (Dice 法)

検体	No.1	No.2
No.1	1.00	1.00
No.2	1.00	1.00

分子疫学解析結果: 検体No.1, 2は同一由来

1.4 解析 3

PFGE 法は既報²⁾に準じて実施した。検体情報を表 6 に、検査条件を表 7 に示す。また、泳動像を図

3 に、検体の類似度を表 8 に示す。分子疫学解析の結果、4 検体全てのバンドパターンが一致した。

表 6 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルハ [△] ヘ [△] ネマーゼ [△] 遺伝子	AmpC 遺伝子	
1	保菌者分離株①	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年11月分離
2	保菌者分離株②	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年11月分離
3	施設分離株②	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年11月シンク b から分離
4	患者分離株①	<i>E. cloacae</i>	検出せず	EBC型	R6年4月分離

表 7 PFGE 検査条件

菌体処理	80℃，1 時間
制限酵素	FastDigest Spe I，37℃，15 分間
泳動条件	アガロース濃度：1%，電圧：6 V/cm
	泳動 Buffer 温度：14℃，電圧角度：120°
	スイッチング時間：12.6 秒～40.1 秒
	泳動時間：19 時間

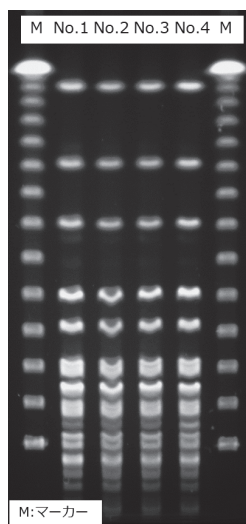


図3 PFGE泳動像

表 8 検体の類似度（Dice 法）

検体	No.1	No.2	No.3	No.4
No.1	1.00	1.00	1.00	1.00
No.2	1.00	1.00	1.00	1.00
No.3	1.00	1.00	1.00	1.00
No.4	1.00	1.00	1.00	1.00

分子疫学解析結果：検体No.1～4は同一由来

2 事例 2

2.1 概要

令和 6 年 8 月，市内の医療機関 B から *Klebsiella aerogenes* による CRE 感染症の発生届出があった．当該医療機関では，令和 6 年 2 月に当該患者と同一病棟からカルバペネム耐性を示す同一菌種の保菌者 1 名が確認されており，令和 6 年 8 月にも当該保菌者から，同様にカルバペネム耐性を示す同一菌種であるがコロニー形状の異なる 2 つの菌株が新たに分離された（保菌者 A）．患者と保菌者の関連性

を調べるために，分離された菌株について PFGE 解析を実施した．

2.2 解析 1

PFGE 法は既報²⁾に準じて実施した．検体情報を表 9 に，検査条件を表 10 に示す．また，泳動像を図 4 に，PFGE デンドログラムを図 5 に，検体の類似度を表 11 に示す．検体 No.1 を基準とすると，検体 No.2 は全てのバンドパターンが一致，検体 No.3 は異なるバンド数が 1，検体 No.4 は異なるバンド数が 3 であった．

表 9 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルバペネム耐性遺伝子	その他	
1	患者分離株⑥	<i>K. aerogenes</i>	検出せず	検出せず	R6 年 8 月分離
2	保菌者分離株③	<i>K. aerogenes</i>	検出せず	検出せず	R6 年 2 月分離（保菌者 A）
3	保菌者分離株④	<i>K. aerogenes</i>	検出せず	検出せず	R6 年 8 月分離（保菌者 A）※
4	保菌者分離株⑤	<i>K. aerogenes</i>	検出せず	検出せず	R6 年 8 月分離（保菌者 A）※

※No.3 と No.4 はコロニー形状が異なる菌株

表 10 PFGE 検査条件

菌体処理	80℃，1 時間
制限酵素	FastDigest Xba I，37℃，15 分間
泳動条件	アガロース濃度：1%，電圧：6 V/cm
	泳動 Buffer 温度：14℃，電圧角度：120°
	スイッチング時間：12.6 秒～40.1 秒
	泳動時間：19 時間

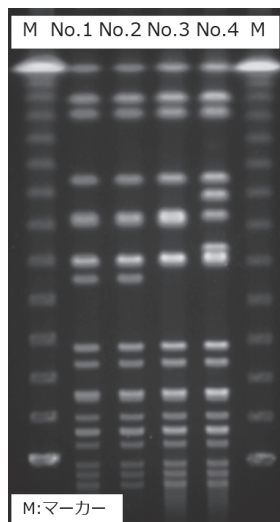


図 4 PFGE 泳動像

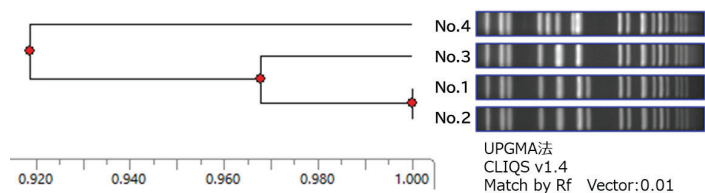


図 5 PFGE デンドログラム

表 11 検体の類似度（Dice 法）

検体	No.1	No.2	No.3	No.4
No.1	1.00	1.00	0.97	0.91
No.2	1.00	1.00	0.97	0.91
No.3	0.97	0.97	1.00	0.94
No.4	0.91	0.91	0.94	1.00

分子疫学解析結果：検体 No.1～No.4 は同一由来の可能性が高い

3 事例 3

ついて PFGE 解析を実施した。

3.1 概要

令和 6 年 8 月と 9 月に、市内の医療機関 C から *Enterobacter cloacae* による CRE 感染症の発生届出が 2 件あった。当該医療機関では令和 5 年 11 月にも同一菌種による CRE 感染症が 2 件発生しており、これらの関連性を調べるために、分離された菌株に

3.2 解析 1

PFGE 法は既報²⁾に準じて実施した。検体情報を表 12 に、検査条件を表 13 に示す。また、泳動像を図 6 に、PFGE デンドログラムを図 7 に、検体の類似度を表 14 に示す。検体 No. 1 を基準とすると、検体 No.2～4 は異なるバンド数が 7 以上あった。

表 12 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルバペネマーゼ遺伝子	その他	
1	患者分離株⑦	<i>E. cloacae</i>	検出せず	検出せず	R6年8月分離
2	患者分離株⑧	<i>E. cloacae</i>	検出せず	検出せず	R6年9月分離
3	患者分離株⑨	<i>E. cloacae</i>	検出せず	検出せず	R5年11月分離
4	患者分離株⑩	<i>E. cloacae</i>	検出せず	検出せず	R5年11月分離

表 13 PFGE 検査条件

菌体処理	80℃, 1 時間
制限酵素	FastDigest Bcu I, 37℃, 15 分間
泳動条件	アガロース濃度: 1%, 電圧: 6 V/cm
	泳動 Buffer 温度: 14℃, 電圧角度: 120°
	スイッチング時間: 12.6 秒～40.1 秒
	泳動時間: 19 時間

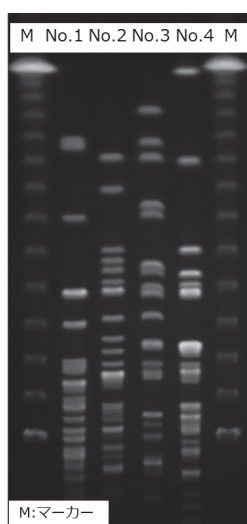


図 6 PFGE泳動像

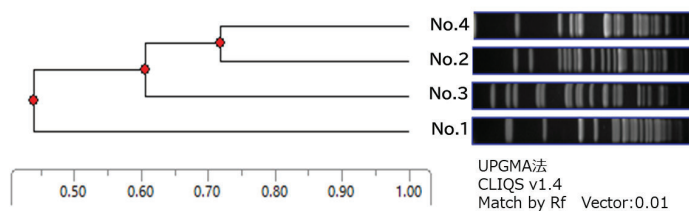


図 7 PFGE デンドログラム

表 14 検体の類似度 (Dice 法)

検体	No.1	No.2	No.3	No.4
No.1	1.00	0.43	0.40	0.49
No.2	0.43	1.00	0.62	0.72
No.3	0.40	0.62	1.00	0.59
No.4	0.49	0.72	0.59	1.00

分子疫学解析結果: 検体 No.1～No.4 は異なる由来

4 事例 4

4.1 概要

令和 6 年 11 月, 市内の医療機関 D から *Klebsiella pneumoniae* による CRE 感染症の発生届出があった (患者 A)。分離された菌株はカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (CPE) であり, カルバペネマーゼ遺伝子は KPC 型であった。当該医療機関では令和 5 年 6 月と 12 月にも KPC 型の同一菌種による CRE 感染症が発生しており (患者 B), これらの関連性を調べるために, 分離された菌株について PFGE 解析を実施した (解析 1)。その後, 令和 6 年

11 月に患者 A と同一病棟から KPC 型の同一菌種による CRE 感染症の発生届出があった (患者 C)。患者 A, 患者 B 及び患者 C との関連性を調べるために, 分離された菌株について PFGE 解析を実施した (解析 2)。

4.2 解析 1

PFGE 法は既報²⁾に準じて実施した。検体情報を表 15 に, 検査条件を表 16 に示す。また, 泳動像を図 8 に, 検体の類似度を表 17 に示す。検体 No.1 を基準とすると, 検体 No.2 は全てのバンドパターンが一致, No.3 は異なるバンド数が 2 であった。

表 15 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルバペネマーゼ遺伝子	ESBL 遺伝子	
1	患者分離株⑪	<i>K. pneumoniae</i>	KPC型	CTX-M-9, TEM, SHV型	R6年11月分離 (患者A)
2	患者分離株⑫	<i>K. pneumoniae</i>	KPC 型	CTX-M-9, TEM, SHV型	R5年6月分離 (患者B)
3	患者分離株⑬	<i>K. pneumoniae</i>	KPC 型	CTX-M-9, SHV型	R5年12月分離 (患者B)

表 16 PFGE 検査条件

菌体処理	80℃, 1 時間
制限酵素	FastDigest Xba I, 37℃, 15 分間
泳動条件	アガロース濃度: 1%, 電圧: 6 V/cm
	泳動 Buffer 温度: 14℃, 電圧角度: 120°
	スイッチング時間: 12.6 秒~40.1 秒
	泳動時間: 19 時間

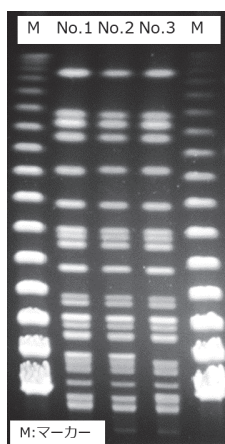


図8 PFGE泳動像

表 17 検体の類似度 (Dice 法)

検体	No.1	No.2	No.3
No.1	1.00	1.00	0.95
No.2	1.00	1.00	0.95
No.3	0.95	0.95	1.00

分子疫学解析結果: 検体 No.1~No.3 は同一由来の可能性が高い

4.3 解析 2

PFGE 法は 4. 2 と同じ方法で実施した．検体情報を表 18 に示す．また，泳動像を図 9 に，検体の

類似度を表 19 に示す．検体 No. 1 を基準とすると，検体 No.2 は全てのバンドパターンが一致，No.3 は異なるバンド数が 2 であった．

表 18 検体情報

No.	検体名	菌種	薬剤耐性遺伝子		備考
			カルバペネマーセ [®] 遺伝子	ESBL 遺伝子	
1	患者分離株⑭	<i>K. pneumoniae</i>	KPC型	CTX-M-9, TEM, SHV型	R6年12月分離（患者C）
2	患者分離株⑪	<i>K. pneumoniae</i>	KPC 型	CTX-M-9, TEM, SHV型	R6年11月分離（患者A）
3	患者分離株⑬	<i>K. pneumoniae</i>	KPC 型	CTX-M-9, SHV型	R5年12月分離（患者B）

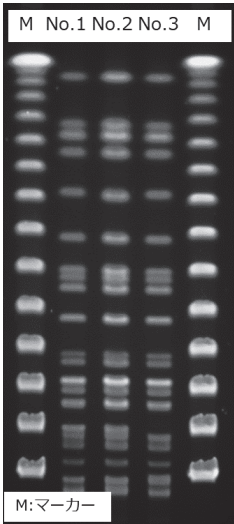


図9 PFGE泳動像

表 19 検体の類似度（Dice 法）

検体	No.1	No.2	No.3
No.1	1.00	1.00	0.95
No.2	1.00	1.00	0.95
No.3	0.95	0.95	1.00

分子疫学解析結果：検体 No.1～No.3 は同一由来の可能性が高い

文献

- 1) 下田由布子，他：パルスフィールドゲル電気泳動法による薬剤耐性菌の分子疫学解析法の検討，福岡市保健環境研究所報，49，86～90，2024
- 2) 白木豊：非酵素法の改良による迅速・簡便なパルスフィールドゲル電気泳動法の開発，獣医公衆衛生研究，22，71～74，2019