

令和5年度 感染症（細菌）の分子疫学解析結果

保健科学課 感染症担当

1 腸管出血性大腸菌（EHEC）

表1 菌株情報

No.	菌株番号	血清型	毒素型	MLVA type	備考
1	23-008	O121:H19	VT2	23m5004	R5年5月分離
2	23-032	O121:H19	VT2	23m5007	R5年7月分離
3	23-061	O121:H19	VT2	23m5011	R5年9月分離
4	23-065	O121:H19	VT2	23m5011	R5年9月分離, No.3と共通事項なし

表2 パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法の検査条件

プロテイナーゼK処理	(濃度, 反応温度, 反応時間)	1mg/mL, 50°C, 20hr (overnight)
制限酵素処理	(使用酵素, 酵素量, 反応温度, 反応時間)	Xba I, 30U/プラグ, 37°C, 3hr
電気泳動条件	(アガロース濃度, 電圧, 泳動buffer温度, 電圧角度)	1%, 6V/cm, 14°C, 120°
	(スイッチング時間, 泳動時間)	2.2s~54.2s, 19hr

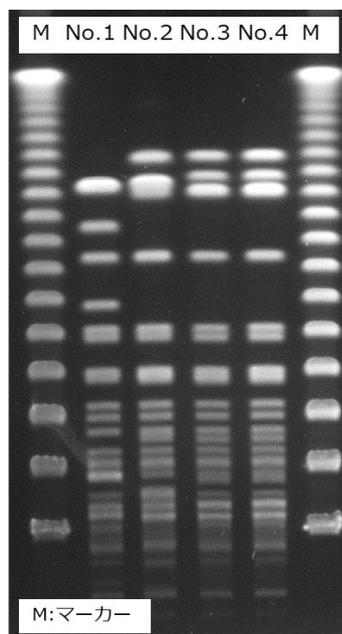


図1 EHECのPFGE泳動像

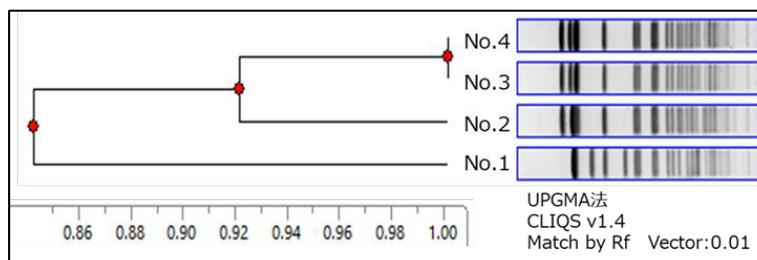


図2 EHECのPFGEデンドログラム

表3 EHEC 4株の類似度（Dice法）

検体	No.1	No.2	No.3	No.4
No.1	1.00	0.74	0.74	0.74
No.2	0.74	1.00	0.87	0.87
No.3	0.74	0.87	1.00	1.00
No.4	0.74	0.87	1.00	1.00

分子疫学解析結果：検体No.3とNo.4は同一由来

2 レジオネラ属菌

表4 菌株情報

No.	検体名	菌種	備考
1	患者分離株	<i>Legionella pneumophila</i> SG1	気管支洗浄液から分離
2	患者利用施設シャワー水 分離株①	<i>Legionella pneumophila</i> SG1	出し始めの水, 貯湯槽
3	患者利用施設シャワー水 分離株②	<i>Legionella pneumophila</i> SG1	流水安定後の水, 貯湯槽

表5 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法の検査条件

プロティナーゼK処理	(濃度, 反応温度, 反応時間)	0.1mg/mL, 50°C, 1hr
制限酵素処理	(使用酵素, 酵素量, 反応温度, 反応時間)	Sfi I, 50U/プラグ, 50°C, 4hr
電気泳動条件	(アガロース濃度, 電圧, 泳動buffer温度, 電圧角度)	1%, 6V/cm, 14°C, 120°
	(スイッチング時間, 泳動時間)	5.0s~50s, 21hr

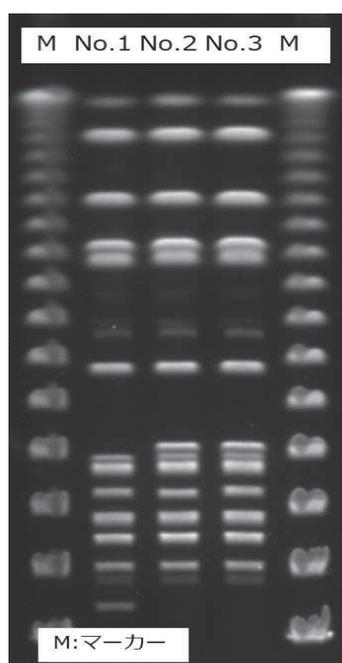


図3 レジオネラ属菌の PFGE 泳動像

表6 レジオネラ属菌 3 株の類似度 (Dice 法)

検体	No.1	No.2	No.3
No.1	1.00	0.94	0.94
No.2	0.94	1.00	1.00
No.3	0.94	1.00	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

3 バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）

表7 菌株情報

No.	菌株番号	菌種	耐性遺伝子	備考
1	23-0012	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>vanA</i>	R5に市内医療機関で分離
2	23-0022	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>vanA</i>	R5にNo.1と同じ医療機関で分離
3	23-0023	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>vanB</i>	R5に市内医療機関で分離
4	21-0005	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>vanA</i>	R3に市内医療機関で分離（参考に実施）

表8 パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法の検査条件

リゾチーム処理	(濃度, 反応温度, 反応時間)	2mg/mL, 37°C, 20hr (overnight)
プロティナーゼK処理	(濃度, 反応温度, 反応時間)	1mg/mL, 50°C, 20hr (overnight)
制限酵素処理	(使用酵素, 酵素量, 反応温度, 反応時間)	Sma I, 30U/プラグ, 30°C, 3hr
電気泳動条件	(アガロース濃度, 電圧, 泳動buffer温度, 電圧角度)	1%, 6V/cm, 14°C, 120°
	(スイッチング時間, 泳動時間)	2.98s~17.33s, 20hr

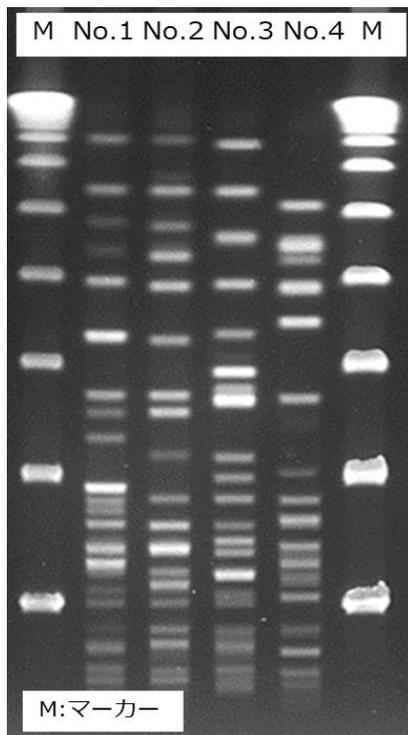


図4 VREのPFGE泳動像

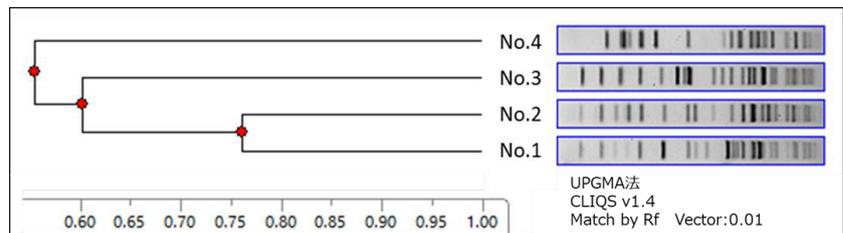


図5 VREのPFGEデンドログラム

表9 VRE 4株の類似度（Dice法）

検体	No.1	No.2	No.3	No.4
No.1	1.00	0.76	0.64	0.67
No.2	0.76	1.00	0.57	0.49
No.3	0.64	0.57	1.00	0.51
No.4	0.67	0.49	0.51	1.00

分子疫学解析結果：検体 No.1～No.4 は異なる由来

4 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE)

表 10 菌株情報

No.	菌株番号	菌種	カルバペネマーゼ遺伝子型	備考
1	23-0009	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC型	R5年6月分離
2	23-0030	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC 型	R5年12月にNo.1と同じ人物から分離

表11 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法の検査条件

プロテイナーゼK処理	(濃度, 反応温度, 反応時間)	1mg/mL, 50°C, 20hr (overnight)
制限酵素処理	(使用酵素, 酵素量, 反応温度, 反応時間)	Xba I, 30U/プラグ, 37°C, 3hr
電気泳動条件	(アガロース濃度, 電圧, 泳動buffer温度, 電圧角度)	1%, 6V/cm, 14°C, 120°
	(スイッチング時間, 泳動時間)	12.6s~40.1s, 19hr

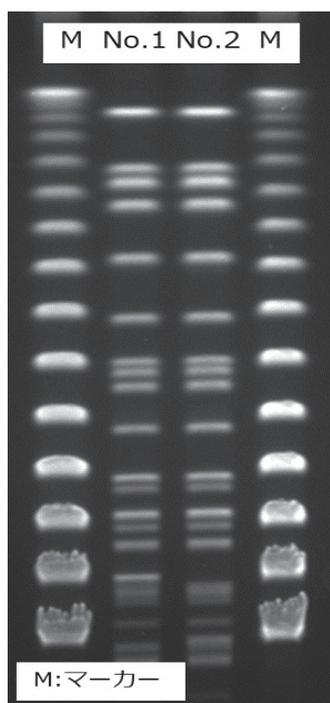


図 6 CRE の PFGE 泳動像

表 12 CRE 2 株の類似度 (Dice 法)

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

分子疫学解析結果：検体 No.1 と No.2 は同一由来の可能性が高い

5 サルモネラ属菌

表 13 菌株情報

検体No.	検体名	菌種	備考
1	患者分離株①	<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	保育園児
2	患者分離株②	<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	保育園児, No.1と同じ施設
3	患者分離株③	<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	保育園児, No.1と同じ施設

表14 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法の検査条件

プロティナーゼK処理	(濃度, 反応温度, 反応時間)	1mg/mL, 50°C, 1hr
制限酵素処理	(使用酵素, 酵素量, 反応温度, 反応時間)	Xba I, 30U/プラグ, 37°C, 3hr
泳動条件	(アガロース濃度, 電圧, 泳動 buffer 温度, 電圧角度)	1%, 6V/cm, 14°C, 120°
	(スイッチング時間, 泳動時間)	2.2s~54.2s, 19hr

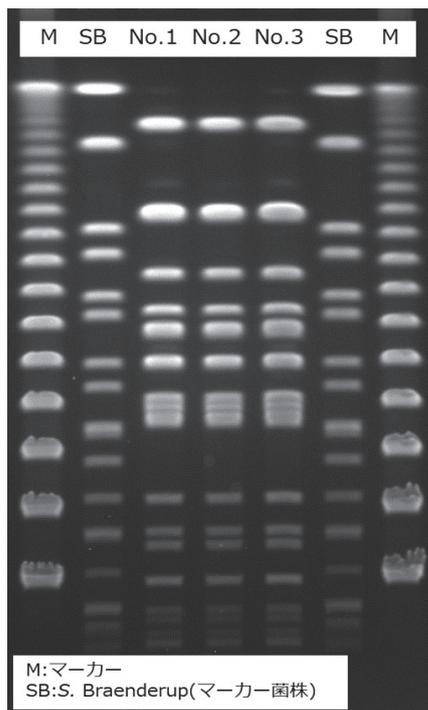


図 7 サルモネラ属菌の PFGE 泳動像

表 15 サルモネラ属菌 3 株の類似度 (Dice 法)

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

分子疫学解析結果：検体 No.1~No.3 は同一由来