

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究
「アシネトバクター属菌の鑑別法に関する研究」

研究分担者 佐多徹太郎（富山県衛生研究所）
研究協力者 綿引 正則（富山県衛生研究所）
研究協力者 清水美和子（富山県衛生研究所）
研究協力者 八柳 潤（秋田県健康環境センター）
研究協力者 鈴木 匡弘（愛知県衛生研究所）

研究要旨

Acinetobacter 属菌、特に *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex を構成する 4 つの *genospecies* (*A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*) を迅速に鑑別する遺伝子検査法を検討した。昨年度は、*gyrB* 遺伝子をターゲットとしたが、今年度は *rpoB* 遺伝子を対象とした MultiplexPCR 法を考案し、その鑑別能力を検討した。その結果、*A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* を鑑別することが可能であった。また、*A. calcoaceticus* については検討の余地が残されている結果となったが、今年度医療機関から分離された 69 株の *Acinetobacter* 属菌の鑑別を行い評価したところ、*rpoB* 遺伝子配列の同定結果と本法の一致度は 97% であり、ほぼ、実用レベルの鑑別法として使用できると考えられた。今後は、さらに医療機関から分離される *Acinetobacter* 属菌の鑑別法として評価するとともに、地方衛生研究所における利用について検討したい。

A. 研究目的

地方衛生研究所（地研）は、公衆衛生領域で発生する様々な健康危機事例に際し、検査を通じて科学的エビデンスを提供し、健康危機事例の早期探知や拡大防止に資することを目的の一つとする。従って、近年問題となりつつある医療関連機関における薬剤耐性菌の広がりに対して、地研の役割が期待されるなかで、検査機能の強化が望まれている。

アシネトバクター属菌は、ブドウ糖非発酵グラム陰性短桿菌で、ヒトに病原性を示す菌種としては *Acinetobacter baumannii* がよく知られている。さらに、ヒトに対して感染症を起こす可能性がある *A. calcoaceticus*, *Acinetobacter* *genospecies* 13TU (*A. nosocomialis*)、*Acinetobacter* *genospecies* 3 (*A. pittii*) とは、ほぼ同様な生化学的性状を示すため、医療機関等で汎用されている自動同定機器や一般の検査法では正しく鑑別することは難しく、そのため *A. calcoaceticus-baumannii* complex (ACBC) と呼ばれている。さらに、アシネトバクター属菌の高い形質転換能をもち外来遺伝子を取り込むシステムを有していることに関連して、*A. baumannii* の多剤耐性化と医療機関でしばしば検出される *A. nosocomialis* や *A. pittii* との関連性など不明な点が多いのも事実である。アシネトバクター属菌は、医療機関内で院内感染や日和見感染

を起こすことが知られており、特に *A. baumannii*、多剤耐性化しやすく、しばしば集団発生による死亡例も報告されている。このような状況下で 2011 年 1 月、薬剤耐性アシネトバクターは感染症法の 5 類感染症に追加され、報告基準が設けられた。従って、*A. baumannii* の院内対策をするうえで、アシネトバクター属菌の分離状況を把握することは重要である。それには、ACBC 構成菌種を簡便に鑑別する方法が必要である。

アシネトバクター属菌は、DNA-DNA 分子交雑法で区別された遺伝子型 (*genospecies*) で歴史的には分類されており、ACBC は生化学的性状での鑑別が難しいため、遺伝子型による簡便な鑑別法が利用されている。例えば *bla*_{OXA51-like} を検出するアシネトバクター属菌は、*A. baumannii* とほぼ判定できる。しかし、この方法は極めて簡便ではあるが、細菌の鑑別法としての意味づけは不明である。また、16SrRNA 配列による分類も DNA-DNA 分子交雑法による分類には及ばず、極めて近縁な細菌の鑑別法として、蛋白質をコードしている遺伝子配列の多型を利用した鑑別法が開発されており、その対象遺伝子は、*recA*, *gyrB*, *rpoB* などがよく利用される。

本研究では、ACBC を構成する上記 4 つの菌種を迅速に鑑別することを可能にする PCR ベースの方法を開発することを目的とし、昨年度は *gyrB*

配列を対象とした。今年度はよりアシネトバクター属菌の鑑別に有効であるとされる *rpoB* の配列多型を複数のプライマーで検出する Multiplex PCR 法を考案し、評価したので報告する。

B. 研究方法

B-1 供試菌株および供試 DNA

臨床分離 *A. baumannii* 8 株 (Ab1~8) は、感染症研究所から分与を受けた。また、型別法の開発と評価のために、*Acinetobacter* spp. 50 株 (Ab25~74, 民間検査会社より買上、詳細は昨年度報告書参照) の一部を用いた。

Acinetobacter 属菌の陽性コントロールとして、感染症研究所から分与された *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, 及び *A. calcoaceticus* 由来のゲノム DNA を用いた。

また、富山県の医療機関のうち、細菌検査室を持つ 6 つの施設から *Acinetobacter* 属菌として分離された 69 株 (AcT001~069) を用いた。

B-2. 培養と DNA 抽出

トリプチケースソイ寒天培地で生育させた新鮮コロニーの一部を 100 μ L 5% (W/V) キレックス 100 に懸濁し、100 10 分間処理を行い、遠心上清を分取し、TE 緩衝液を用いて 50ng/ μ L 濃度に希釈し、PCR の鋳型とした。保管は、凍結保管とした。

B-3. 感受性試験

富山県の医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の薬剤感受性試験は、センシディスク (日本ベクトン・ディッキンソン) を用い、判定はディスクの判定法に従った。使用した 12 ディスクは以下の通りである: セフォタキシム (CTX), セフトジジム (CAZ), イミペネム (IPM), メロペネム (MEPM), アズトレオナム (AZT), セフェピム (CFPM), ピペラシリン (PIPC), アミカシン (AMK), シプロフロキサシン (CPFX), ミノサイクリン (MINO), コリスチン (CL), スルフィソキサゾール (G)。

B-4. PCR と DNA sequencing

供試菌株から抽出した DNA を用いた PCR は、*bla*_{OXA51-like}, *bla*_{OXA23-like} 及び *integron* マーカーである *integrase* 遺伝子を検出するプライマーを用いて

実施した (表 1)。PCR は、QIAGEN Multiplex PCR Kit (Qiagen, Inc.) を用いて、増幅産物は、1.5% アガロース S (ニッポンジーン) で電気泳動し、臭化エチジウムで染色、脱色後、写真撮影した。

ACBC 鑑別 PCR は、KODFX (Toyobo) を使用した。増幅産物の検出は、2% NuSieve®3:1 Agarose (Takara) で電気泳動し、臭化エチジウムで染色、脱色後、写真撮影した。

rpoB の部分配列決定は、La Scola らの報告 (J.Clin.Microbiol., 44:827-832, 2006) を参照して、*rpoB* 内の Zone1 及び Zone2 の配列解析を行った。配列決定用の鋳型調製は、プライマー Ac696F、Ac1598R にて、PCR 後、増幅物を QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製し、これを鋳型として、BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit Ver3.1 で、プライマー Ac696F, Ac1598R, Ac1093R 及び Ac1055F を用いて、サイクルシーケンシング反応を行い、Sephadex-G50 ゲル濾過液を ABI 3130xl Genetic Analyzer を用いて解析した。得られたデータは、Sequencher® で塩基配列の品質チェック、トリミング後、Web ベースの Blast 検索を実施し、菌種を推定し、*rpoB* 塩基配列による鑑別結果とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者情報を切り離れた臨床分離株のみを用いているため、倫理上の問題は発生しない。

C. 研究結果

C-1. *A. calcoaceticus*-*baumannii* complex (ACBC) 鑑別のための Multiplex PCR 用プライマーの設計と PCR 条件

昨年度は、*gyrB* 遺伝子をターゲットとして、Line PCR 法により、菌種同定が可能となるか検討し、完全には ACBC の鑑別を行うことは難しいことを報告した。今年度は *rpoB* 遺伝子をターゲットとして、プライマーの設計を行った (図 1)。La Scala, B ら (J.Clin.Microbiol., 44:829, 2006) の論文に記載されている *rpoB* 遺伝子の Zone1 と Zone2 をほぼカバーする 861bp を含む、*A. baumannii* 由来 26、*A. calcoaceticus* 由来 13、*A. nosocomialis* 由来 19、及び *A. pittii* 由来 21 配列を公的 DNA バンクから得た。これらの配列から、ACBC の構成各菌種を PCR で区別可能か検討したが、いずれも種特異的な 4 つのプライマーの設計は困難であった。そこで、この 861bp の配列中、4 種のアシネトバ

クター属菌を鑑別可能とするためのプライマー結合部位を検索した。4種に共通、*A. baumannii* と *A. nosocomialis* に共通、*A. calcoacticus* と *A. pittii* に共通、あるいは種特異的な鑑別プライマーの結合部位として、領域1～5（図1の rpoB-1～5と表示、ただし、rpoB-1, 4は省略、また、rpoB-45は、rpoB-4と5の間の部位であることを示している）を選択し、いくつかの組合せで、種特異的な Multiplex PCR の泳動パターンが得られるかを検討した。最終的に、2つの反応チューブを用いる Multiplex PCR で、*A. baumannii* と *A. nosocomialis* を主に鑑別する PCR-A と *A. calcoacticus* と *A. pittii* を鑑別する PCR-B として設計した。また、今回反応は2反応として実施するため、2つの反応を泳動後、確認できるようにアシネトバクター属菌を共通に増幅する 16SrRNA 配列を検出し、異なる増幅サイズとなるようにプライマーを新たに設計し、それぞれ加え、前者についての混合プライマーMC-6、後者については混合プライマーMD-6を構築した（表1）。このPCRの条件は、以下の通り実施した。

鋳型 DNA 溶液	2μL
混合プライマー	4μL
2mM dNTP	μL
2 × KODFX master mix	10μL
KODFX (Toyobo)	0.4μL
Total	(up to) 20μL

サイクル条件

94°C, 2min.
(98°C, 10sec.- 55°C, 30sec.- 68°C, 1min.), 30 cycles
68°C, 2min.

C-2. プライマーの評価

混合プライマーMC-6 (PCR-A) 及び MD-6 (PCR-B) を用いて、ACBC 構成アシネトバクター属菌の標準株DNAと一部臨床分離株を用いて、PCRを実施した（図2）。その結果、PCR-Aで、数本の増幅物が検出されるなかで600bp増幅物が検出された場合には、*A. baumannii*、120bpと700bp増幅物が検出された場合には、*A. nosocomialis*、PCR-Bでは、同じく複数の増幅物が検出されるなかで、120bp付近と700bp増幅物が検出された場合は、*A. pittii*と判定することが可能であることを確認した。ここで、PCR-Bで120bp付近に2バンド検出された。

一方で、*A. calcoacticus*については、積極的に

鑑別する増幅物が得られなかった。

C-3. 医療機関で分離されたアシネトバクター属菌を用いたPCR鑑別法の評価

今年度、富山県の医療機関に協力を依頼し、アシネトバクター属菌の収集した69株を用いて、MC-6/MD-6混合プライマーを用いたPCRを評価した。供試した69株の薬剤感受性試験、PCRによる遺伝子保有状況、及びrpoB配列による菌種の同定結果を示した（表2）。この69株のrpoB配列から同定された株の分離頻度は、*A. baumannii*、25/69(36%); *A. nosocomialis*、12/69(17%); *A. pittii*、10/69(15%); *A. spp.*、9/69(13%); *A. soli*、4/69(6%); *A. bereziniae*、2/69(3%); *A. radioresistens*、2/69(3%); *A. grimontii*、2/69(3%); *A. calcoacticus*、1/69(1.5%); *A. guillouiae*、1/69(1.5%); *A. junii*、1/69(1.5%)であった（図3）。

この69株を用いた、MC-6/MD-6を用いたPCRを実施し、その結果は表3に示した。

*A. baumannii*については、rpoB配列結果とPCRの結果は完全に一致した。*A. nosocomialis*については、rpoB配列では、12株が*A. nosocomialis*となったが、PCRでは13株であり、1株のみ結果は一致しなかった。また、rpoB配列でACBC構成菌種に該当しない場合は、*A. spp.*にカウントしたが、PCRの結果、PCR-Aの反応物に*A. nosocomialis*の鑑別点である120bp増幅物を検出した株が5株存在していた（図4）。従って、rpoB配列とPCRの結果の一致率は97%であった。

D. 考察

アシネトバクター属菌、特にACBCを構成する4つの菌種を迅速に鑑別する遺伝子検査法を検討した。昨年度は、gyrB遺伝子をターゲットとしたが、今年度はrpoBを対象としたMultiplex PCR法を開発し、その型別能力を検討した。

rpoB配列によるアシネトバクター属菌の鑑別については、La Scola, Bらは、rpoB配列およびRpoB遺伝子の上流と下流のスペーサー領域の配列を用いると鑑別することが可能であることを報告している。ここで彼らの報告しているrpoB配列中のZone1およびZone2の領域は、鑑別能力が高く、*A. baumannii*のこの領域の配列を抽出してblast検索を行うと、公的データベースに登録されているrpoB配列が、*A. baumannii* - *A. nosocomialis* - *A. pittii* - *A. calcoacticus*のビットスコアの高い順にヒットした。これは、相同性の高さをビットス

コアで換算し、スコアの高い順に並べているが、菌種ごとにクラスターを形成していることがわかる(図5)。従って、この配列により、ほぼACBCを構成菌種が *rpoB* 配列で鑑別できる可能性を示している。しかし、*A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. calcoaceticus* の各クラスター内に、*A. spp* とされる配列が存在すること(図5 .白抜きの配列)、また *A. pittii* クラスター内に *A. calcoaceticus* の配列が存在しており(図5 .矢印で示した配列)、blast 検索に依存するアシネトバクター属菌の同定には注意が必要であることがわかる。以上のような問題点はあるもののACBCの鑑別を迅速に決定する方法の要望は高く、*rpoB* 配列上の種特異的な多型を検出するPCR法の開発を行った。

しかし、鑑別する対象のACBCの構成種は非常に近縁であるので、この4種の菌種を同定する単一のPCRプライマーの設計は困難を極めたので、昨年まで開発してきたLinePCR法の考え方を参考に、ACBCの *rpoB* 配列の Zone1 および Zone2 領域をカバーする領域を対象とした、プライマー効率の差を利用した multiplex PCR、さらに *A.baumannii*-*A.nosocomialis* と *A.pittii*

-*A.calcoaceticus* それぞれの検出能力を高めるため2反応系(PCR-AとPCR-B)として開発した。また、今回のPCR法は、アガロース電気泳動にてその増幅物を検出するため、アシネトバクター属菌特異的な16SrRNAを検出するプライマーを加え、サイズの異なる増幅物が検出できるように添加した、MC-6/MD-6混合プライマーを作製した。

MC-6/MD-6混合プライマーの評価を今年度、富山県の医療機関で分離された69株のアシネトバクター属菌を用いて行った。評価に用いた69株の感受性試験等の検査結果は表2に示した。この69株を用いたPCR鑑別結果を *rpoB* 配列解析と比較したところ、69株中67株は、*rpoB* 結果と一致し(97%)、ACBC構成菌種の鑑別がほぼ可能と思われた(表3)。

ここで一致しなかった2株を見ると、一株(AcT002)は、*rpoB* 配列からACBCには該当しなかったため、*A. spp* としたが、PCRでは *A. nosocomialis* と判定される結果となった(図6)。

しかし、その増幅物を見ると、*rpoB* 配列から *A. nosocomialis* とされた株の120bp増幅物よりも若干大きいこと、700bp増幅物の増幅量が少ないことなど *rpoB* 配列から *A. nosocomialis* とされた株と若干の配列が異なることが推定される。さらにもう一株(AcT037)は、*rpoB* 配列から *A. calcoaceticus* とされたが、この配列は、ゲノム解析株として登録されていたが、図5、7では *A. pittii* の配列に含まれる配列と同一であり、PCRの結果、*A. pittii* と判定されたことと矛盾しない。

以上のように、今回開発したMC-6/MD-6混合プライマーを用いた2反応系を用いることにより、*A. baumannii*, *A. nosocomialis* と *A. pittii* についてはほぼ鑑別できると思われる。現時点で *A. calcoaceticus* については、評価は終わっていないが、今後、多数の株を検討し、改良を加えることにより、ACBCの構成菌種の鑑別が可能になると思われる。しかし、*A. calcoaceticus* は、それほど医療機関の分離率は高くなく、現時点でも実用的には問題ないと考える。

今回開発したMC-6/MD-6混合プライマーを用いたACBC構成菌種の鑑別法について、今後、実用的評価を行いたい。

E. 結論

ACBC構成アシネトバクター属菌をPCRで鑑別する実用的な方法を開発した。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

【データ保護のため非表示】

表2. 医療機関から分離されたアシネトバクター属菌69株の検査結果

Strains	CTX	CAZ	IPM	MEPM	AZT	CFPM	PIPC	AMK	CPFX	MINO	CL	G	PCR			<i>rpo B</i> sequencing
													OXA51	OXA23	Int	
AcT001	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT002	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT003	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT004	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT005	I	R	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT006	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.berezinae</i>
AcT007	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.grimontii</i>
AcT008	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.soli</i>
AcT009	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT010	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT011	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT012	I	S	S	S	I	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT013	I	S	S	S	I	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.soli</i>
AcT014	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT015	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT015	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT016	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT017	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT018	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT019	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT020	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT021	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.berezinae</i>
AcT022	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT023	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT024	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT025	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT026	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT027	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT028	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT029	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.junii</i>
AcT030	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.guillouiae</i>
AcT031	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT032	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT033	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT034	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT035	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT036	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.soli</i>
AcT037	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.calcoaceticus</i>
AcT038	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-	+	-	<i>A.radioresistens</i>
AcT039	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	+	-	<i>A.radioresistens</i>
AcT040	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT041	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT042	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT043	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT044	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT045	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT046	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT047	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT048	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT049	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT050	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT051	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT052	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT053	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT054	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT055	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT056	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT057	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT058	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT059	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT060	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT061	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.pittii</i>
AcT062	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT063	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.grimontii</i>
AcT064	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT065	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>
AcT066	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.nosocomialis</i>
AcT067	I	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.spp</i>
AcT068	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	<i>A.soli</i>
AcT069	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	<i>A.baumannii</i>

【データ保護のため非表示】

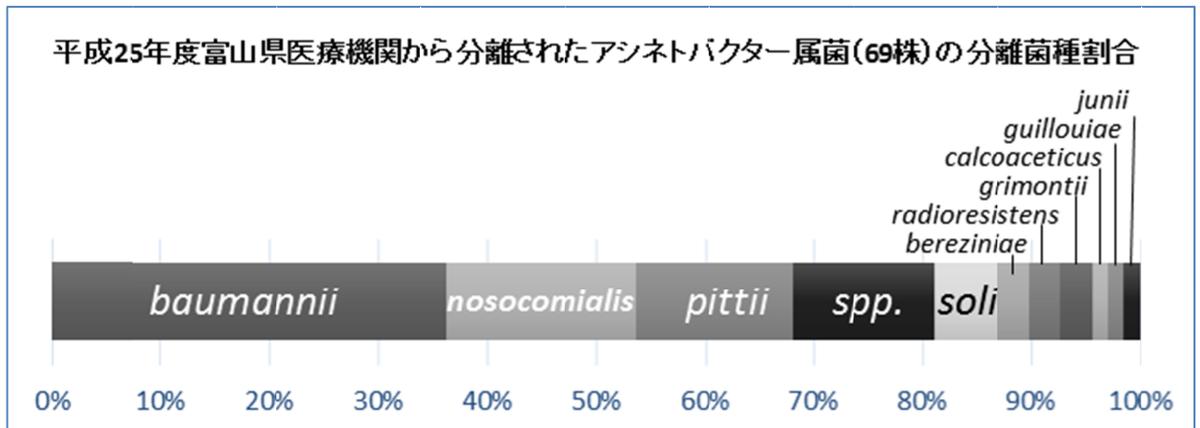
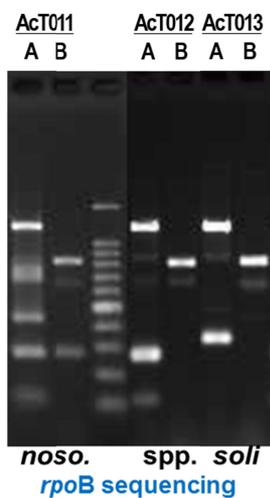


図3 . 平成 25 年度富山県医療機関から分離されたアシネトバクター属菌 69 株 (*rpoB* 配列による分類) の分離菌種の割合



- ✓ AcT012 は、*rpoB* 配列で *A.spp.* となるが、PCR では、*A.nosocomialis* と判定される可能性がある。しかし、700bp 増幅物が検出されない点が、他の *A.nosocomialis* (例：Act011) と異なる。*A.spp.* と判定された株のなかに、AcT012 と同一の株が 4 株検出されている。
- ✓ AcT013 は、*A.soli* の PCR 結果であり、ACBC のパターンとは異なる。

図4 . *rpoB* 配列による鑑別で *A.spp.* と判定された株 (AcT012) の PCR 鑑別結果

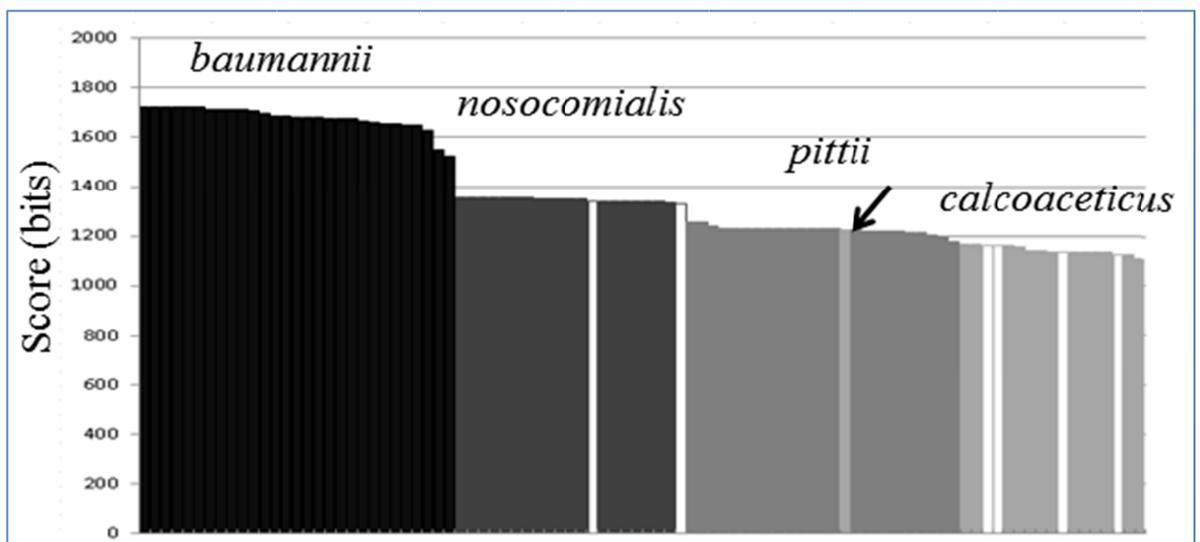


図5 . *A.baumannii* の *rpoB* 861 配列をクエリーとして、Blast 検索したときの ACBC 構成菌種のビットスコア (については、本文参照)

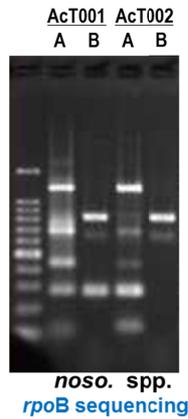


図6 . *rpoB* 配列で *A.spp* と判定されるが PCR で *A.nosocomialis* と判定された例 (AcT002)

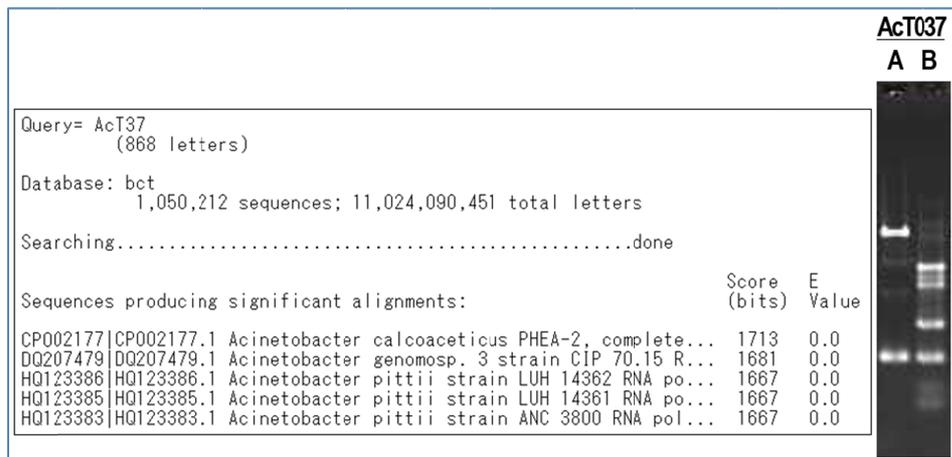


図7 . *rpoB* 配列で *A.calcoaceticus* と判定されるが PCR で *A.pittii* と判定された例 (AcT037)