

POT 法を利用した *Clostridium difficile* 分子疫学解析の院内感染対策への有用性

◎山下 愛¹⁾、大沼 健一郎¹⁾、石田 奈美¹⁾、小林 沙織¹⁾、楠木 まり¹⁾、大澤 佳代²⁾、中町 祐司¹⁾、三枝淳¹⁾
国立大学法人 神戸大学医学部附属病院¹⁾、神戸大学大学院保健学研究科²⁾

【目的】*Clostridioides difficile* (以下CD) は健常者の一部の腸内にも常在するが、抗菌薬治療により異常増殖と毒素産生が引き起こされ、抗菌薬関連下痢症や偽膜性大腸炎が発症する。特に *cdt* 遺伝子を保有し binary toxin を産生する株は高病原性株として問題視されている。さらに、CD は芽胞を産生するため病院内環境中に生残し長期入院者へ感染することが知られており、CD による院内感染を防止することは重要である。しかし、クローン解析にはパルスフィールド電気泳動法が必要であるが、臨床検査室で行うことは難しい。近年メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) や緑膿菌に対して PCR-based ORF Typing (POT 法) により簡便にクローン解析を行うことが可能となった。今回我々は、新たに開発された CD に対する分子疫学解析 POT キットを評価し、院内感染対策に有用であるか検討した。

【方法】当院にて2012年4月から2015年1月に分離されたCD 96株を対象とした。C.DIFF QUIK CHEK コンプリート (アリーア・メディカル株式会社) による糞便中CD抗原・毒素検査にて陽性となった糞便をアルコール処理しCCMA培地

EX (日水製薬) を用い48時間嫌気培養し菌株を分離した。分離した菌株はクックドミート培地 (BD) にて保存した。保存菌株よりDNAを抽出し、シカジーニース分子疫学解析 POT キット *C.difficile* (関東化学) を用いて、POT 型を算出した。また、毒素産生遺伝子 (*toxA*, *toxB*, *cdt*) の検出精度について従来法によるPCR法と比較した。

【結果】96株のPOT型は65種類に分類された。そのうち44株はそれぞれ独立したPOT型を示し、残りの52株は21種類のPOT型に分類された。最も頻度の高いPOT型は691-311の5株存在した、次に485-311および485-439が4株、691-311、826-279および980-308が3株ずつ存在し、残りの30株は2株ずつ15種類に分類された。毒素産生遺伝子株の一致率は94/96 (98%) であった。*cdt* 遺伝子保有株は4株あったが全て検出された。

【結論】シカジーニース分子疫学解析 POT キット *C.difficile* はクローン解析と毒素遺伝子検出が同時に、迅速かつ簡便に行えることから、CDの院内感染対策として有用であると考えられた。 連絡先: 078-382-5111