研究成果報告書

1．研究課題名：重症感染症を引き起こすフラボバクテリウム科細菌の分子疫学解析

2．研究代表者氏名：武井　理美

3．研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

Isolation and identification of *Pseudoxanthomonas winnipegensis* from blood culture by MALDI-MS. Satomi Takei, Tatsuya Nagasawa, Yuji Sekiguchi, Junya Fujimura, Kanae Teramoto, Mitsuru Wakita, Teruo Kirikae, Yuki Uehara, Tatsuya Tada, Yoko Tabe. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 16;16: 1755501, 2026.

Dual-input deep learning system for microbial identification from blood agar plates. Takao Naito, Satomi Takei, Shigeki Misawa, Miyuki Kuribara, Yoko Tabe. PLOS ONE. 21(7): e0353761,2026.

Antimicrobial resistance in bloodstream infections in a children's hospital, Myanmar. Thida San, Maiko Kirikae, Pan Ei Soe, Nang Sarm Hom, Satomi Takei, Tatsuya Tada, Yuki Uehara, Thi Thi Htoon, Moe Myat Aye, Htay Htay Tin, Teruo Kirikae. Scientific Reports. In press.

4．研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

【要旨】*Chryseobacterium indologenes* は主に環境試料から分離され、日和見感染症を引き起こす。我々はミャンマーにおいて、多剤耐性 *C. indologenes* の臨床分離株 4 株を分離した。すべての株は、アミノグリコシド系、カルバペネム系、およびフルオロキノロン系抗菌薬に対して高度耐性を示し、最小発育阻止濃度（MIC）は 512μg/mL 以上を示した。これらの分離株は、内在性のカルバペネマーゼをコードする遺伝子およびチゲサイクリン耐性因子を保有しており、キノロン系抗菌薬またはコリスチン耐性を決定する領域にアミノ酸置換を認めた。本報告は、ミャンマーの医療現場において多剤耐性 *C. indologenes* が蔓延していることを明らかにした初めての報告である。

【方法】

2016 年から 2020 年にかけて多剤耐性 *C. indologenes* の臨床分離株 4 株が、ミャンマーのヤンゴン地域にある 2 つの病院の患者から分離された。これら 4 株のうち、3 株は病院 A、1 株は病院 B から分離された。また、4 株のうち、3 株は尿由来、1 株は胸水由来であった。

薬剤感受性試験は、CLSI のガイドラインに従い微量液体希釈法によって測定し、各抗菌薬の最小発育阻止濃度（MIC）を判定した。

ゲノム DNA は、DNeasy Blood and Tissue Kit（Qiagen, Tokyo, Japan）または GIAGEN Genomic Tip 20/G（Qiagen）を用いて抽出し、DNA ライブラリは Nextera XT DNA Library Prep Kit（Illumina, San Diego, CA）を用いて調製した。ゲノムシークエンシングは、Illumina MiSeq（Illumina）および MinION（Oxford Nanopore Technologies, Oxford, United Kingdom）を用いて実施し、CLC Genomic Workbench v11.0.1（CLC bio, Aarhus, Denmark）を用いてアセンブルした。ロングリードシーケンシングについては、MiSeq および MinION のデータを Unicycler v0.4.7 を用いてアセンブルした。これらの分離株は、ANI Calculator または Type (Strain) Genome Server (TYGS) (https://tygs.dsmz.de) を用いて菌種を同定し、薬剤耐性遺伝子は ResFinder 4.1 を用いて探索した。*gyrA* および *gyrB* 遺伝子を含むキノロン耐性決定領域の変異や *lpxA* 遺伝子を含む脂質 A 生合成遺伝子の変異は、CLC Genomics Workbench を用いて検出した。

系統解析は、オーストラリア、韓国、タイ、台湾、中国、パキスタン、フランス、米国、マダガスカル、ミャンマー、ロシアなど、24 株の *C. indologenes* のゲノム配列を GenBank から取得した。系統樹は、kSNP4 を用いて作製し、iTol ver.6（https://itol.embl.de/）を用いて可視化した。

【結果】

全ゲノム配列の解析により、4 つの多剤耐性株はすべてが *Chryseobacterium indologenes* であった。これらの分離株は、アルベカシン、アミカシン、アズトレオナム、セフタジジム、シプロフロキサシン、ドキシサイクリン、イミペネム、メロペネム、およびチゲサイクリンに対して耐性を示したが、ミノサイクリンに対しては感受性を示した。そのうち 2 株は、トリメトプリム・スルファメトキサゾールに対して耐性を示した（表 1）。さらに、これらの分離株は、アミカシン、アルベカシン、アズトレオナム、セフタジジム、シプロフロキサシン、イミペネム、メロペネムに対して高度耐性を示し、MIC は 512μg/mL 以上であった。

表 1. Antimicrobial susceptibility profiles of four *C. indologenes* isolates in Myanmar.

Antibiotic	MIC (μg/mL)				
	Breakpoint for resistance (μg/mL)	CRGN52	CRGN63	MyNCGM445	MyNCGM551
Amikacin	≥64	>512	>512	>512	>512
Arbekacin	-	>512	>512	>512	>512
Aztreonam	≥32	>512	>512	>512	>512
Ceftazidime	≥32	>512	>512	>512	>512
Ciprofloxacin	≥4	>512	>512	>512	>512
Colistin	-	>128	>128	>128	>128
Doxycycline	≥16	32	64	32	16
Imipenem	≥16	>512	>512	>512	>512
Meropenem	≥16	>512	>512	>512	>512
Minocycline	≥16	≤2	≤2	≤2	≤2
Trimethoprim-sulfamethoxazole	≥4/76	1/19	4/76	2/38	4/76
Tigecycline	≥4	32	32	4	128

MIC; minimal inhibitory concentration.

Breakpoints for antimicrobial resistance were determined according to CLSI guidelines.

Breakpoint for tigecycline was determined according to EUCAST guidelines and the US Food and Drug Administration (FDA).

C. indologenes は 4 つの分離株すべてが、IND-2 および OXA-347 を含むカルバペネマーゼをコードする遺伝子や広域スペクトル β-ラクタマーゼ CIA-4、チゲサイクリン耐性因子 Tet(X2)を保有していた。すべての株は、GyrA のキノロン耐性を決定する領域に S83Y および D87G、GyrB に L425I および K473R、LpxA の脂質 A 生合成因子（コリスチン耐性に関連）に G68D および Q72D のアミノ酸置換を認めた（表 2）。

※以降コピーして頁数を記載のうえ使用ください

表 2 Summary of the characteristics of the four multidrug-resistant *C. indrogenes*

Strains	Hospitals	Date of isolation	Source	Carbapenemase genes(s)	Aminoglycoside resistance gene(s)	Tetracycline resistance gene(s)	Mutation(s) in DNA gyrase		Mutation(s) in lipid A biosynthesis
							GyrA	GyrB	LpxA
MyNCGM445	A	Nov 2016	Urine	*bla*$_{CIA-4}$, *bla*$_{IND-2}$, *bla*$_{OXA-347}$	*erm(F)*	*tet(X2)*	S83Y, D87G	L425I, K473R	G68D, Q72D
MyNCGM551	A	Mar 2017	Urine	*bla*$_{CIA-4}$, *bla*$_{IND-2}$, *bla*$_{OXA-347}$	*erm(F)*	*tet(X2)*	S83Y, D87G	L425I, K473R	G68D, Q72D
CRGN52	A	Sep 2020	Pleural	*bla*$_{CIA-4}$, *bla*$_{IND-2}$, *bla*$_{OXA-347}$	*erm(F)*	*tet(X2)*	S83Y, D87G	L425I, K473R	G68D, Q72D
CRGN63	B	Des 2020	Urine	*bla*$_{CIA-4}$, *bla*$_{IND-2}$, *bla*$_{OXA-347}$	*erm(F)*	*tet(X2)*	S83Y, D87G	L425I, K473R	G68D, Q72D

ミャンマー由来の 4 株と他国由来の 20 株について系統解析した結果、2 つの系統群（CladeA および CladeB）に分けられ（図 1）、ミャンマー由来の 4 株はすべて CladeB に属していた。CladeB に属する分離株の多くは、中国、パキスタン、韓国、タイなどのアジア諸国由来の株であった。病院 A および B 由来の 4 株の SNP の範囲は 26～369 であり、これらの分離株が 2 つの病院内でクローン的に拡散したことを示唆している。

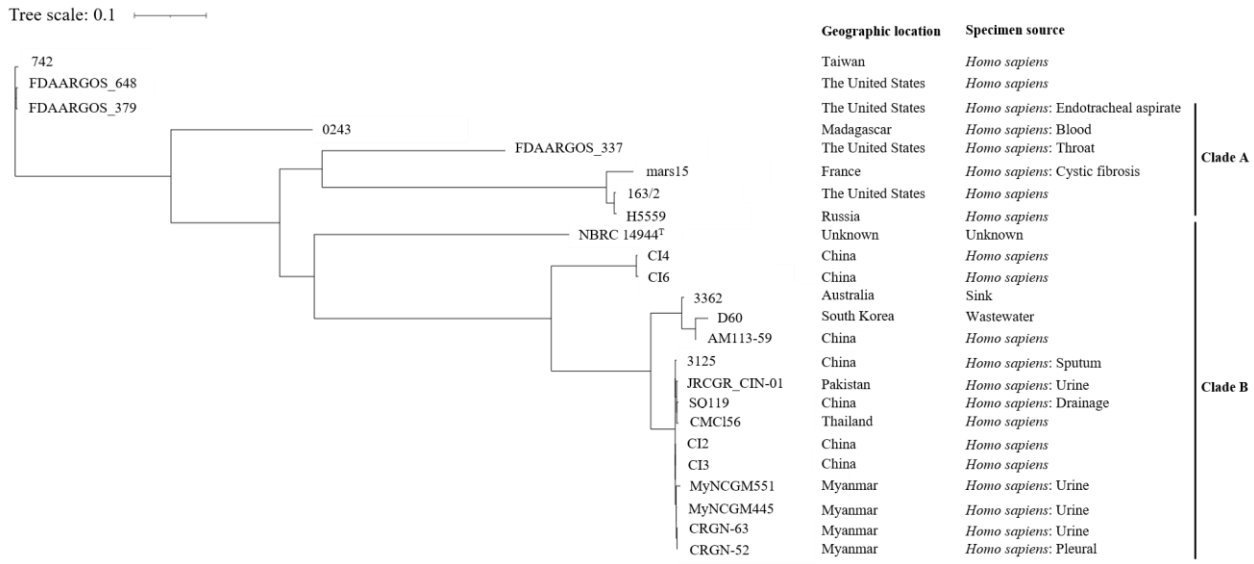


図 1　ミャンマーの臨床分離株および 10 カ国から採取された 20 株の *C. indologenes* の系統樹

本研究により、高度多剤耐性 *C. indologenes* がミャンマーの医療現場において確認され、継続的な疫学調査が必要であることが示唆された。

本研究結果は現在英文誌に投稿中である。

※以降コピーして頁数を記載のうえ使用ください