

## 香川県で分離された下痢原性大腸菌の分子疫学解析

### Molecular Epidemiological Analysis of Diarrheagenic *Escherichia coli* Isolated in Kagawa Prefecture

福田 千恵美      岩下 陽子      有塚 真弓      内田 順子      松井 賢児  
Chiemi FUKUDA   Yoko IWASHITA   Mayumi ARIZUKA   Junko UCHIDA   Kenji MATSUI

#### 要 旨

平成25年4月から平成26年3月に香川県内で分離された下痢原性大腸菌は、毒素原性大腸菌0159:17株、腸管出血性大腸菌0157:9株、026:9株、0165:1株、0119:1株、0146:1株、0111:1株、0168:1株であった。そのうち0157についてパルスフィールドゲル電気泳動法(以下PFGE法)、IS-printing System(以下IS法)を実施し、0157以外の下痢原性大腸菌についてはPFGE法を実施し分子疫学解析を行った。発生状況は、散発が10事例、家族内感染が2事例、同一施設2事例であり、家族内感染、同一施設感染では関連性が見られた。また、0146については昨年同じ施設で検出された株とPFGE法では関連性が見られたが、施設調査の結果では原因が不明であった。

キーワード: IS-printing System   PFGE法   下痢原性大腸菌

#### I はじめに

食品由来感染症は汚染食品の流通の範囲により単独なのかdiffuse outbreakかの判断に迷う場合や関連性を知る手段として疫学解析を行う必要がある。今回、腸管出血性大腸菌のうち0157はPFGE法とIS法を、それ以外の毒素原性大腸菌を含む菌については、PFGE法を実施し分子疫学解析を行い関連性の検討を行った。

#### II 方法

##### 1 供試菌株

平成25年4月から平成26年3月に香川県内で分離された腸管出血性大腸菌22株(0157:9株、026:9株、0165:1株、0119:1株、0146:1株、0111:1株、0168:1株)、毒素原性大腸菌<sup>1)</sup>0159の17株を用いた。

##### 2 方法

###### (1) PFGE法

制限酵素 *Xba*I を用い、国立感染症研究所で示された方法<sup>2)</sup>に従いPFGE法を実施した。

###### (2) IS法

IS-printing System(東洋紡)<sup>3)</sup>を用いて実施した。電気泳動は3%アガロースゲルを使用した。増幅されたスタンダードDNA18バンドを高分子量側から3バンドに区切り、各区分に順に「1」「2」「4」の数字を当て、検体はスタンダードDNAのバンドと比較し増幅された場合はその数字を加算して12桁にコード化し解析した。

#### III 結果

##### 1 0157事例

事例概要を表1にPFGE法解析結果を図1に示した。

家族内感染が2事例あり、ISコードはそれぞれ同じであった。PFGE法の類似度はそれぞれ100%であった。感染研の解析では3バンド違いが1事例と同じPFGE型が1事例であった。

##### 2 0157以外の腸管出血性大腸菌の血清型事例

事例概要を表2に示した。

###### (1) 026

PFGE法解析結果を図2に示した。同じ保育園内の発生のうち2家族からも菌が検出された事例である。PFGE法の類似度が98%であった。感染研の解析では全株同じPFGE型であった。

###### (2) 0146

事例概要を表3に、PFGE法解析結果を図3に示した。昨年同じ施設で検出された0146、2株のうち1株ではPFGE法の類似度が100%、もう1株の類似度は93%であった。感染研の解析では昨年検出された2株はPFGE型が同じであり、今年検出された株は2バンド違いであった。

###### (3) その他の血清型事例

今後のためにデータを蓄積した。

##### 3 毒素原性大腸菌の事例

事例概要を表4に、PFGE法解析結果を図4に示した。

表1 0157 事例概要と IS 法結果

事例	菌株No. (EH13-)	発生日	年齢	菌株の由来	VT型	H抗原	IS-printing コード <sup>1</sup>	IS-printing コード <sup>2</sup>	感染研 PFGE型
1	1	7月	0-4才	患者	VT1+VT2	7	717557	611657	i317
2	2	7月	5-9才	患者	VT1+VT2	7	317577	611557	i319
	12	7月	30才代	保菌者(家族)	VT1+VT2	7	317577	611557	three bands differ. from i319
3	14	9月	50才代	患者	VT1+VT2	7	317557	611657	i63
4	15	9月	0-4才	患者	VT1+VT2	7	517557	611657	i578
5	17	9月	30才代	患者	VT1+VT2	7	317577	211757	i491
	20	9月	10才代	保菌者(家族)	VT1+VT2	7	317577	211757	i491
6	19	9月	10才代	患者	VT1+VT2	7	317557	211757	h461
7	21	10月	40才代	患者	VT1+VT2	-	111457	300447	i581

Dice (Tot 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

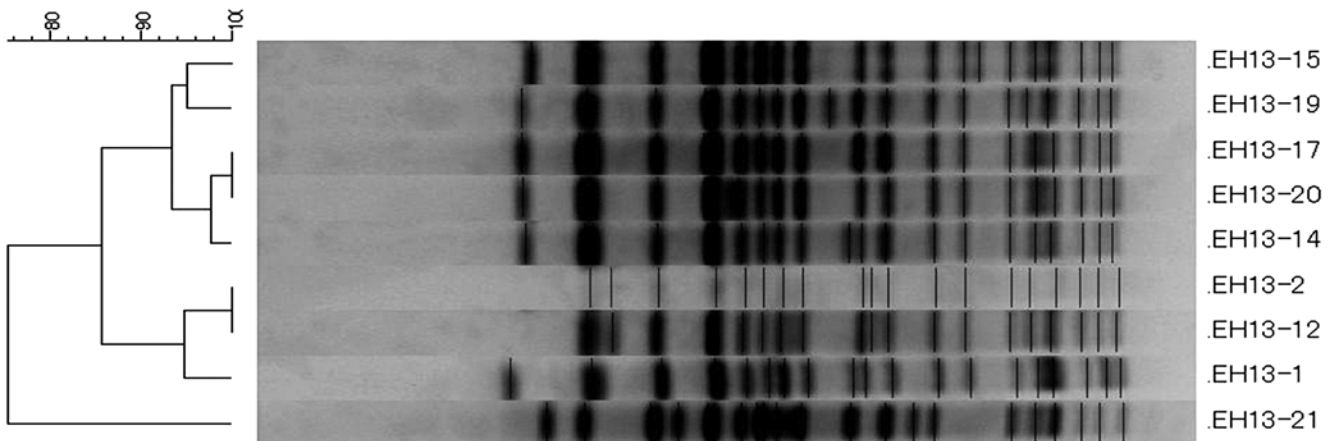


図1 0157 PFGE 法結果

表2 0157 以外の腸管出血性大腸菌の血清型事例概要

事例	菌株No. (EH13-)	血清型	発生日	年齢	菌株の由来	VT型	感染研 PFGE型
8	3	O26:H11	7月	0-4才	患者	VT1	i69
	4			0-4才	患者		same as i69
	5			60才代	保菌者(家族)		same as i69
	6			0-4才	患者		same as i69
	7			0-4才	患者		same as i69
	8			0-4才	患者		same as i69
	9			40才代	保菌者(家族)		same as i69
	10			30才代	保菌者(家族)		same as i69
	11		20才代	保菌者(家族)	same as i69		
9	13	O165:H-	8月	20才代	患者	VT2	
10	16	O119:H-	9月	50才代	保菌者	VT1	
11	18	O146:H21	9月	60才代	保菌者	VT1+VT2	two bands differ. from EH12-3
12	22	O111:H-	11月	0-4才	患者	VT1	
13	23	O168:H-	12月	40才代	患者	VT2	

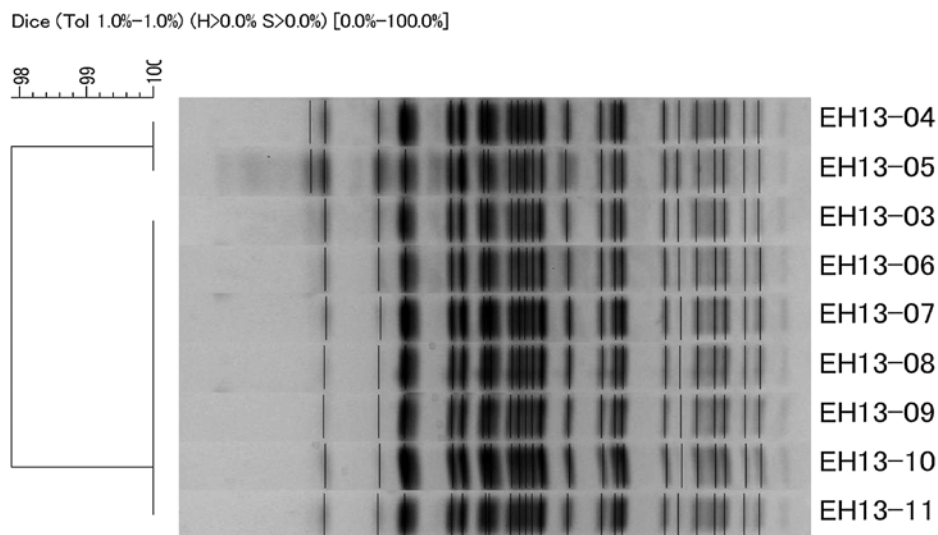


図2 026 PFGE 法結果

表3 0146 の事例概要

菌株No.	血清型	発生日	年齢	菌株の由来	VT型	感染研 PFGE型
EH 12-3	O146:H21	2012.7	20才代	保菌者	VT1+VT2	
EH 12-4			40才代			same as EH 12-3
EH 13-18		2013.9	60才代			two bands differ. from EH12-3

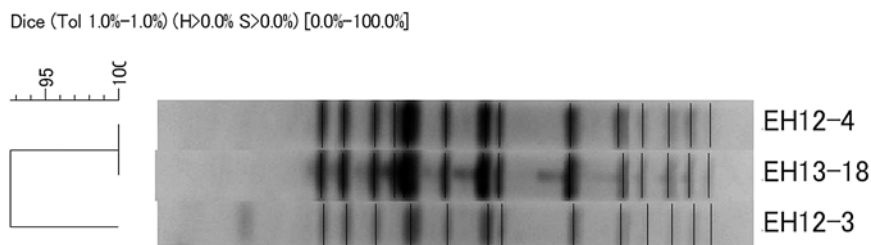


図3 0146 PFGE 法結果

有症者、従事者とも PFGE 法の類似度が 99% と高かった。

#### IV 考察

0157 の事例 2、事例 5 の家族内発生では IS コードが一致し、図 1 の PFGE 法の類似度が 100% であり、感染研の解析でも 3 バンド以内<sup>4)</sup>であることから家族間で感染したものと考えられる。

表 2 事例 8 の 026 については、感染研の解析で全株同じ PFGE 型であったことより同じ保育園内で幼児が感染し 2 家族で家族内感染を起こした事例である。幼児から家族へ感染が広がっており、今後、幼児の感染防止対策、

家族間の感染防止対策の啓発が必要である。

表 2 事例 11 の 0146 については、無症状で、職員定期健診で発見された事例である。昨年同じ施設で検出された株との PFGE 法の類似度が高く、感染研の解析でも昨年の株と 2 バンド違いであったことより同一感染源と推定される<sup>4)</sup>が、原因の特定には至っていない。

今年より Multiplex PCR 法で下痢原性大腸菌の病原因子が検出できるようになり毒素原性大腸菌 0159 による食中毒を検出した。PFGE 法の類似度が高いことより同一感染源と推定されるが、同一職場内の従事者と有症者は同じ弁当を喫食していたので原因の特定には至らなかった。

表4 0159 毒素原性大腸菌事例概要

菌株No. (EH13-)	発生月	菌株の由来	毒素型	O抗原	H抗原
11	8月	有症者	ST	O159	H20
12		有症者			
13		有症者			
14		有症者			
15		有症者			
16		有症者			
17		有症者			
18		有症者			
37		従事者			
38		従事者			
39		従事者			
42		従事者			
44		従事者			
49		従事者			
50		従事者			
54		従事者			
55		従事者			

## V 結論

- 0157 の家族内発生において IS コードはそれぞれ一致し PFGE 法でもパターンが類似していたため同一感染源と推定された。
- 026 の保育園内、家族内発生においては PFGE 法でパターンが同じであり同一感染源と推定された。
- 0146 の発生において昨年同一職場で発生した 0146 株と PFGE 法でパターンが類似していたため同一感染源と推定された。
- 毒素原性大腸菌 0159 の同一職場内の感染では PFGE 法でパターンが類似していたため同一感染源と推定された。

Dice (Tot1.0%-1.0%) (H&gt;0.0% S&gt;0.0%) [0.0%-100.0%]

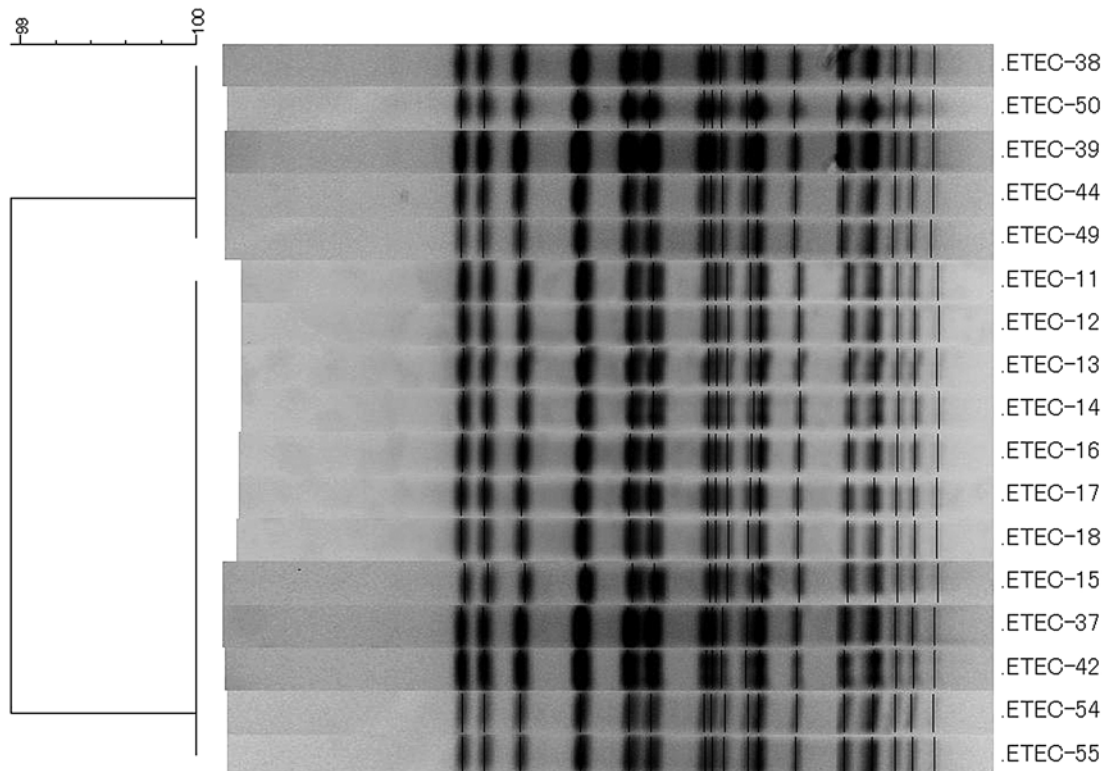


図4 0159 PFGE 法結果

## 文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター第5室(国立保健医療科学院併任 伊藤健一郎):平成23年度新興再興感染症技術研修 遺伝子検査法, 3-33, (2011)
- 2) 国立感染症研究所細菌第一部(主任研究者 寺嶋 淳):食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究 平成17年度総括・分担研究報告書及び平成15~17年度総括・総合研究報告書, 168 - 185, (2005)
- 3) 大岡唯祐, 小椋義俊, 中山恵介, 黒川顕, 寺嶋淳, 渡辺治雄, 林哲也:日本細菌学雑誌, **61**, 127, (2006)
- 4) Tenover, FC. et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J. Clin. Microbiol. **33**(9):2233 - 9, (1995)

## Abstract

We used molecular epidemiological analysis object diarrheagenic *Escherichia coli* (*E.coli*), enterotoxigenic *E. coli* O159 : 17 strains, enterohemorrhagic *E.coli* O157 : 9 strains, O26 : 9 strains, O165 : 1 strain, O119 : 1 strain, O146 : 1 strain, O111 : 1 strain, O168 : 1 strain, which were detected in Kagawa Prefecture from April 2012 to March 2013. O157 strains are analyzed by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and IS-printing system (IS), and all other strains are analyzed by the PFGE method.

Ten cases of infection were sporadic, two cases were family infection, and two cases were facilities -acquired infection. These results show relationship between family and facilities -acquired infection.

In case of analysis of O146 by the PFGE method, there seems to be some relationship between the results of last year and of this year. However, the reason why the relationship exists is not clear.