

香川県で分離された腸管出血性大腸菌の分子疫学解析について

Molecular Epidemiological Analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated in Kagawa Prefecture

福田 千恵美 有塚 真弓 関 和美* 宮本 孝子**
Chiemi FUKUDA Mayumi ARIZUKA Kazumi SEKI Takako MIYAMOTO
内田 順子 池本 龍一
Junko UCHIDA Ryuichi IKEMOTO

要 旨

腸管出血性大腸菌の感染事例での分子疫学解析を行い関連性を検討した。対象は2012年1月から12月に香川県内で分離された腸管出血性大腸菌、0157:9株、026:6株、0103:3株、0146:2株、018:1株、0型不明:2株を用いた。0157は、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0157以外の血清型はPFGE法にて検討を行った。発生状況は、散発が9事例、家族内感染が5事例、同一職場1事例で、家族内感染、同一職場感染において関連性が見られた。家族内発生のうちISコードは一致したがPFGE法の類似度が低い事例があり、高感度のPFGE法のみで関連性を特定せず、聞き取りやIS法などを踏まえて総合的に判断することが必要である。

キーワード: IS-printing System PFGE法 腸管出血性大腸菌

I はじめに

食品由来感染症の疫学調査は、感染の拡大防止や再発防止のために大変重要である。分子疫学解析法として広く行われているPFGE法¹⁾は解析能や再現性も高く、信頼性のある手法である。しかし、特殊な機器を必要とすること、解析に時間がかかることなどの問題点がある。一方、IS法²⁾は腸管出血性大腸菌0157のIS領域を標的としたマルチプレックスPCRで、PFGE法に比べ菌株分離後の分子疫学的分析の時間が短縮され、迅速に結果を提供できる。0157のみの解析法であるが疫学調査において有力な手段となる³⁾。

今回、PFGE法、IS法を用いて香川県内で分離された腸管出血性大腸菌の分子疫学解析を行ったので報告する。

II 方法

1 対象

2012年1月から12月に香川県内で分離された腸管出血性大腸菌23株(0157:9株、026:6株、0103:3株、0146:2株、018:1株、0型不明:2株)を対象とした。

*香川県立中央病院 **中讃保健福祉事務所

2 方法

腸管出血性大腸菌のうち0157については、PFGE法とIS法を、それ以外の血清型は、PFGE法を実施し分子疫学解析を行った。

(1) PFGE法

制限酵素 *Xba*I を用い、2004年に国立感染症研究所で示された方法⁴⁾に従いPFGE法を実施した。

(2) IS法

IS-printing System(東洋紡)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

事例概要とIS法結果を表1に示す。6事例のうち菌株No.2と3、4と5、6と7はそれぞれ同じISコードであった。

またPFGE法解析結果を図1に示す。PFGE法での遺伝

表1 O157事例概要

事例	菌株No.	発生日	年齢	菌株の由来	VT型	H抗原	IS-printing コード 1st	IS-printing コード 2nd	感染研 PFGE型	所轄保健所
1	1	1月	0-4才	患者	VT1+VT2	7	317575	211757	h 10	高松市
2	2	7月	5-9才	患者	VT1+VT2	7	317577	211756	e 807	高松市
	3		30才代	保菌者(家族)	VT1+VT2	7				高松市
3	4	7月	5-9才	患者	VT1+VT2	7	717577	611657	h 142	中讃
	5		60才代	保菌者(家族)	VT1+VT2	7			h 141	中讃
4	6	8月	5-9才	患者	VT1+VT2	7	713557	610457	h 143	東讃
	7		60才代	保菌者(家族)	VT1+VT2	7			h 202	東讃
5	8	8月	0-4才	患者	VT1+VT2	7	717557	611657	d 580	中讃
6	9	12月	10才代	患者	VT1+VT2	7	305577	211757	h 610	高松市

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

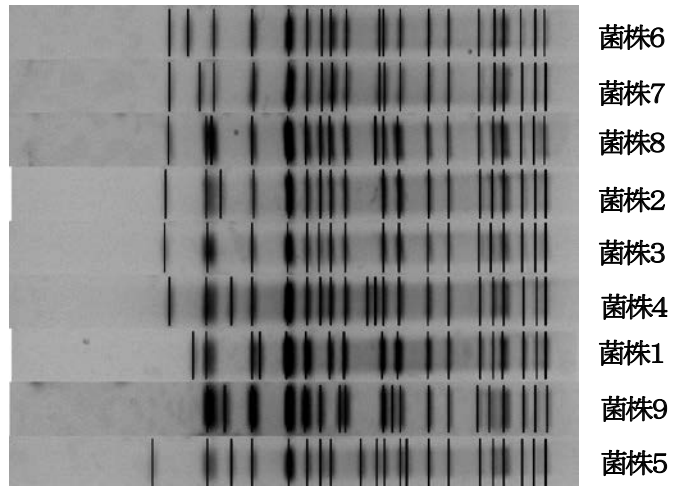
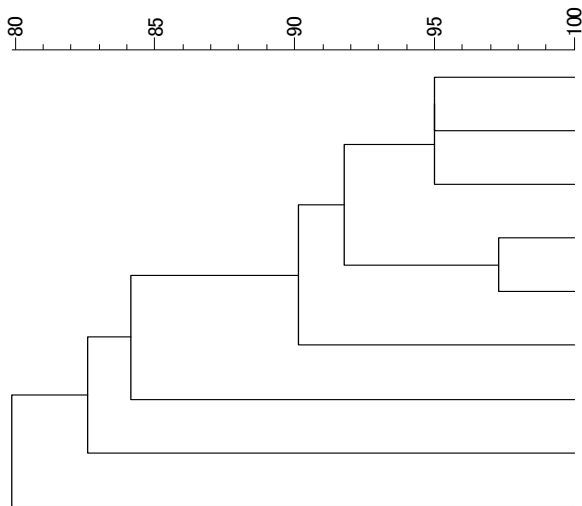


図1 O157におけるPFGE法解析結果

子パターンの類似度は菌株No. 2と3で97%、6と7と8で95%、2、3と6、7、8で91.5%であった。

2 O157以外の血清型事例

事例概要を表2に示す。

(1) O26

PFGE法解析結果を図2に示す。PFGE法での遺伝子パターンの類似度は菌株No. 11と12で100%、11、12と13で95%、15と11、12、13は93.5%であった。

(2) O103

PFGE法解析結果を図3に示す。PFGE法での遺伝子パターンの類似度は菌株No. 17と18で100%、16と17、18は97%であった。2008年、2009年の香川県で分離された事例との類似性は83%であった。

(3) O146

PFGE法解析結果を図4に示す。PFGE法での遺伝子パターンの類似度は菌株No. 19と20で97%であった。

(4) O18とO型不明

比較するものがないため、データを蓄積した。

IV 考察

事例2、事例4のO157については、家族内発生でありISコードが一致し、PFGE法の類似度が97%、95%と高く⁵⁾、同一感染源の家族間で感染したものと推定される。

事例3のO157も家族内発生であり、ISコードが一致し、他の要因がないことから、同一感染源の可能性が高いと推定された。しかし、PFGE法の類似度が80%と低く、感染研のPFGE型別でもh142、h141と異なる結果であっ

表 2 0157以外の血清型事例概要

事例	菌株No.	血清型	発生月	年齢	菌株の由来	VT型	感染研 PFGE型	所轄保健所
7	10	O26:H11	5月	10才代	患者	VT1	h 13	中讃
8	11	O26:H11	8月	0-4才	患者	VT1	h 79 (one band diff. from h 80)	高松市
	5-9才			保菌者(家族)	h 80		高松市	
	0-4才			保菌者(家族)	h 80		高松市	
9	14	O26:H11	10月	5-9才	患者	VT1	h 138	高松市
10	15	O26:H11	10月	40才代	保菌者	VT1	h 137	中讃
11	16	O103:H2	9月	5-9才	保菌者(家族)	VT1	one band diff. from No.17	東讃
	30才代			保菌者(家族)			東讃	
	10月		30才代	保菌者(家族)	same as No.17		東讃	
12	19	O146:H21	7月	20才代	保菌者(同一職場)	VT1+VT2		東讃
	20			40才代	保菌者(同一職場)		same as No.19	東讃
13	21	O18:H7	8月	60才代	患者	VT1		中讃
14	22	OUT:H2	7月	50才代	保菌者	VT2		中讃
15	23	OUT:H19	8月	40才代	保菌者	VT1		西讃

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

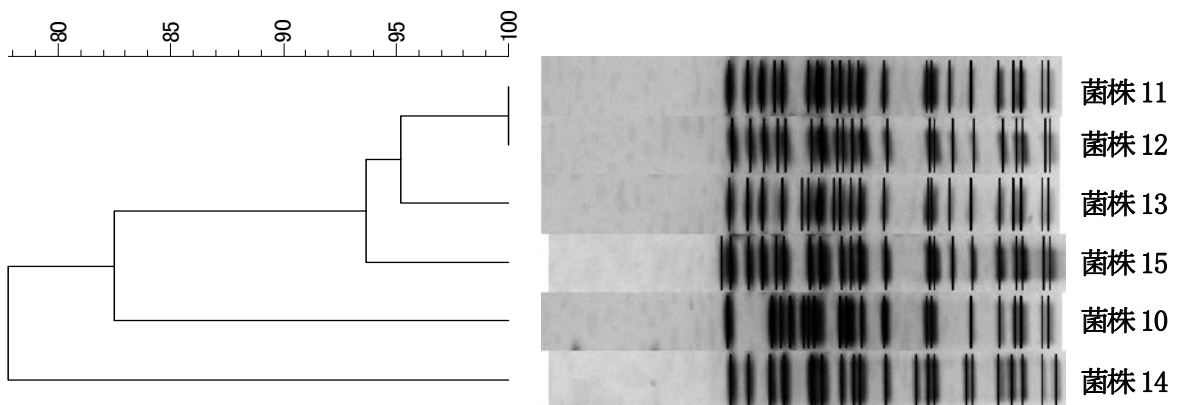


図 2 026 における PFGE 法解析結果

た。家族内で感染を起こし、分離されるまでに菌に何らかの変異が起こったと推測される。今回の事例より PFGE 法のみで関連性を特定せず、聞き取りや IS 法などを踏まえて総合的に判断する必要がある。

事例 8 の O26 については、家族内発生であり PFGE 法の類似度が 95%以上であることから同一感染源と推定され、家族間で感染したものと考えられる。

事例 11 の O103 については、3 名とも無症状の家族内発生であり、PFGE 法の類似度が 97%以上であることより同一感染源と推定され、家族間で感染したものと考えられる。事例 11 と 2008 年、2009 年の O103 株では、類似度は低く関連性は認められなかった。

事例 12 の O146 については、2 名とも無症状で、職員定期健診で発見された事例である。PFGE 法の類似度が 97%であることより同一感染源と推定されるが、原因の特定には至っていない。

今回の事例では家族内感染が多いことがわかった。幼児・学童が感染し、家族へ感染が広がっている。今後、幼児・学童間の感染防止対策、家族間の感染防止対策の啓蒙が必要である。

IS 法は PFGE 法に比べ迅速な結果が得られることから情報交換が迅速に行われるようになれば IS 法がより有効な食品由来感染症の拡大防止や再発防止手段となる。

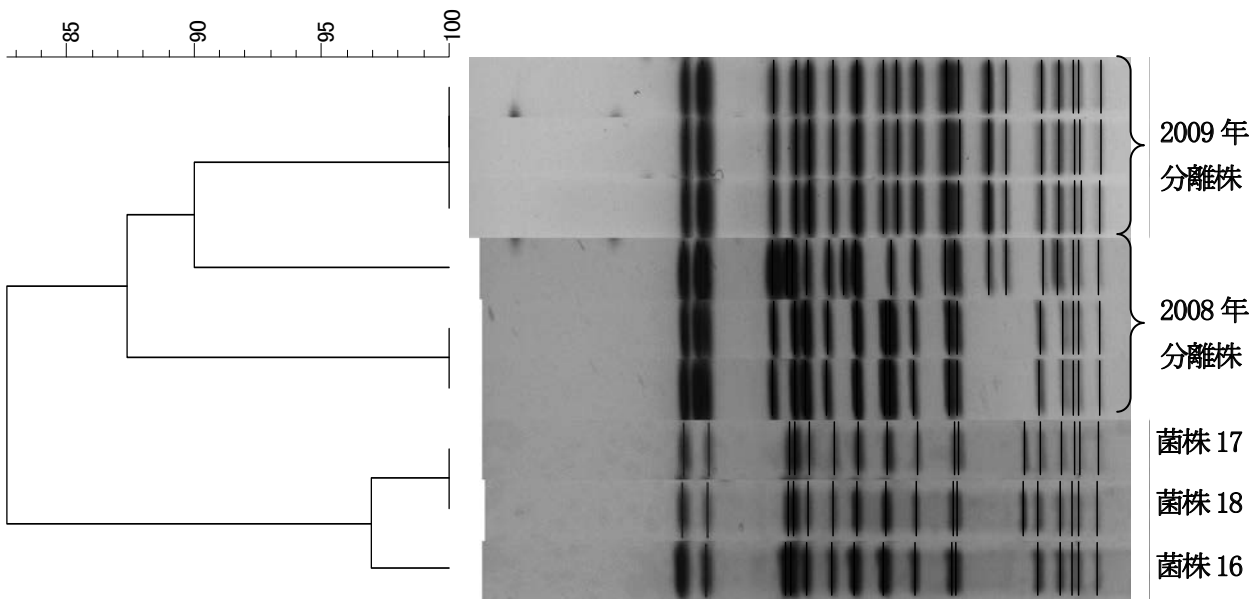
Dice (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]
EHEC

図3 0103におけるPFGE法解析結果

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

図4 0146におけるPFGE法解析結果

V まとめ

1. 0157の家族内発生においてISコードはそれぞれ一致しPFGE法でもパターンがほぼ類似していたため同一感染源と推定された。
2. PFEG法は精度が高い反面、高感度のため菌の変異を反映しやすく⁵⁾PFEG法の乖離が見られた場合でも聞き取りやIS法などを踏まえて総合的に感染源を判断する必要がある。
3. 026、0103の家族内発生において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。
4. 0146の同一職場発生において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。

文献

- 1) 和田昭仁, 寺嶋淳, 渡辺治雄: 日本細菌学雑誌, 52 (4), 763-775, (1997)
- 2) 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)
- 3) 清水俊一, 森本洋, 駒込理佳, 山口敬治: Rep. Hokkaido Inst. Pub. Health, 59, 67-71, (2009)
- 4) 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)
- 5) 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)

- 1) 和田昭仁, 寺嶋淳, 渡辺治雄: 日本細菌学雑誌, 52

Abstract

We conducted molecular epidemiological analysis on the cases of infection of enterohemorrhagic *Escherichia coli*, and investigated their connections. As the objects of our analysis we used enterohemorrhagic *Escherichia coli*, nine O157 strains, six O26 strains, three O103 strains, two O146 strains, one O18 strain, and two unknown O-type strains, which were isolated in Kagawa prefecture from January to December 2012. O157 strains were analyzed by means of Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and IS-printing system (IS), and all other strains were by PFGE. Nine cases of infection were sporadic, five cases were family infection, and one case was office infection. Results showed relationship between family and office infection. In some cases of family infection, there was low similarity based on PFGE, in spite of the high degree of similarity in IS code. These results show that overall evaluation considering not only high-sensitivity PFGE but also interview and IS is required.