

腸管出血性大腸菌の遺伝子相同性確認に関する研究

松井重憲* 井上伸子** 佐々木佳子*** 小林美保 黒澤肇

A comparison of cluster analysis methods of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)

Shigenori MATSUI*, Nobuko INOUE**, Yoshiko SASAKI***, Miho KOBAYASHI,
Hajime KUROSAWA**

1. はじめに

腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の感染源特定や集団事例の探知において、分子疫学解析は重要な役割を担っている。EHEC の解析手法として、従来法のパルスフィールド電気泳動法（PFGE 法）のほか、IS-printing 法（IS 法）、Multiple-local variable tandem repeat analysis（MLVA 法）が知られている。現在、国立感染症研究所において IS 法のデータベース構築が進められている。さらに Izumiya ら（2010）によって O157 および O26、O111 の遺伝子型別が可能な MLVA 法が開発され、平成 26 年度から新たに導入された。今後は IS 法や MLVA 法が国内での分子疫学解析法の主流となることが予想される。

本研究では、MLVA 法によって同一遺伝子型と解析された菌株を用いて、PFGE 法、IS 法を用いた細分類について検討を行った。さらに、ESBL（基質特異性拡張型βラクタマーゼ）産生性による分類も検討した。

2. 調査方法

2.1. 検査対象

2014 年から 2015 年に群馬県内で感染症法に基づく届出がなされ、MLVA 法を用い遺伝子型別が一致した O157 VT1VT2 毒素産生型 18 株、O157 VT2 毒素産生型 13 株について検討を行った。

2.2. 検査方法

対象の大腸菌を普通寒天培地を用いて 36℃ で 18～22 時間培養した。培養した菌は IS-printing system（東洋紡）を用いて型別を行った。また、PFGE 法にて遺伝子型相同性確認検査を行った。さらに、PCR 法による ESBL 遺伝子（TEM、SHV、CTX-M）の探索も行った（Shibata ら、2006、Yagi ら、2000）。

3. 結果および考察

O157 VT2 毒素産生型 13 株については、MLVA 法、IS 法、PFGE 法の全てにおいて、パターンが一致し、同一遺伝子型との解析結果を得た。O157 VT1VT2 18 株については、IS 法では 4 つのクラスターに分類された。そのうち 3 つのクラスターでは 1～2 箇所のバンドで相違が見られほぼ同一の遺伝子型であったが、1 つのクラスターでは 4～5 箇所のバンドで相違が見られた。PFGE 法においては 3 つのクラスターに分類された。うち 2 つは 1～2 箇所のバンドで相違が見られほぼ同一の遺伝子型であったが、1 つのクラスターでは 4～5 箇所のバンドで相違が見られた。

IS 法や PFGE 法では 1～2 バンドの相違であれば同一起源の菌株であると判断するが、今回の調査ではそのような株がほとんどであった。しかし、4～5 箇所の複数箇所バンドの相違が見られる株も検出された。

ESBL 産生遺伝子は全て陰性であった。

今回のように複数の手法による分子疫学解析結果と居住地・喫食調査等の疫学調査を併せて菌株間の関連性を検討することで、感染経路の推定や感染拡大防止に有用であると考えられた。

* 現 群馬県立小児医療センター

** 現 食肉衛生検査所

***現 岩手県庁

4. まとめ

MLVA 法を用いた解析で遺伝子型が一致した菌株 (O157 VT1VT2 18 株、O157VT2 13 株) について、それぞれ IS-printing 法、PFGE 法で解析を行い、遺伝子型を細分化できるか検討を行った。さらに PCR 検査を行い ESBL 産生性の有無も調査した。

その結果、MLVA 法では同一起源の可能性があると解析された O157 VT1VT2 18 株においてさらに細分類が可能であることが示唆された。また、今回の調査では、ESBL 産生株は今回の調査では検出されなかった。

潜在的な集団事例・散発例が疑われる際に、疫学調査と MLVA 法、IS-printing 法、PFGE 法等いくつかの遺伝子相同性試験を併用した解析結果を得ることで、より詳細に菌株間の関連を比較することが可能であると考えられた。

謝辞

菌株、疫学情報の提供にご協力いただきました保健所および医療機関のみなさまに厚く御礼申し上げます。

文献

- Izumiya H., *et al.*, 2010: New system for multilocus variable - number tandem - repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: O157, O26, and O111, *Microbiol Immunol* **54** (10): 569-577.
- Shibata N *et al.*, 2006: PCR classification of CTX-M-type β -lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan, *Antimicrob Agents Chemother.* **50**(2): 791-795.
- Yagi T *et al.* 2000: A preliminary survey of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan: *FEMS Microbiol Lett.* **184**:53-56.