

腸管出血性大腸菌 O157の感染拡大防止における IS-printing System の活用について

徳島県立保健製薬環境センター

下野 生世・石田 弘子

Application of IS-printing System to regional outbreak surveillance of
Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infections

Ikuyo SHIMONO, Hiroko ISHIDA

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

要 旨

2007年から2010年の間に県内で発生した腸管出血性大腸菌感染症患者から分離された O157菌株について、IS-printing System（以下 IS 法）による解析を実施し、行政へ迅速な情報還元を試みた。

その結果、通常の疫学調査では見いだせなかった関連性が新たに示唆された事例があり、IS 法は、感染拡大の初期探知に有効であると考えられた。

Key words: 腸管出血性大腸菌 EHEC, パルスフィールドゲル電気泳動 PFGE, IS-printing System

I はじめに

近年、腸管出血性大腸菌など食品由来感染症の原因菌の分子疫学解析が、感染源究明に利用されている。その中でもパルスフィールド・ゲル電気泳動法（以下 PFGE 法）は、腸管出血性大腸菌の分子疫学解析法として、最も一般的な方法であり、国立感染症研究所（以下感染研）を中心に全国規模の PFGE 解析データベースの構築が進んでいる。

一方、IS 法は、マルチプレックス PCR による腸管出血性大腸菌 O157のサブタイピング法で、従来から汎用されている PFGE 法と比較して操作が簡便で、迅速性に優れ、結果をデジタル化できるといった特徴がある。これら 2つの方法による菌株の識別能力について、感染研及び全国の地方衛生研究所で比較検討され、IS 法による菌株の識別能については PFGE 法ほどではないものの、集団感染事例からの由来株では一致率が高いことが示唆されている。¹⁾ 徳島県においても、県内で発生した O157感染症から分離された菌株について IS 法と PFGE 法との比較を行い、IS 法の解析結果を保健所担当者に迅速に還元することによりその有効性を検討した。

II 材料および方法

1 供試菌株

2007年～2010年の期間に、徳島県内で発生した腸管出血性大腸菌感染症患者から分離された菌株のうち、当センターに送付された O157菌株50株を用いた。

2 方法

(1) IS 法

IS-printing System（東洋紡）を用い、キットに添付されたプロトコールに準じて検査を実施した。IS 法は、2種類のセットにより構成されるマルチプレックス PCR で、全てが増幅されると1セットあたり18種類、計36種類の増幅産物が形成される。判定は増幅産物の有無を目視で確認し、有りの場合は1、無しの場合は0として、表1の例に従いコード（以下 IS コード）変換した。

(2) PFGE 法

感染研に菌株を送付し、PFGE 解析結果について情報還元を受けた。

(3) 疫学調査情報

菌株送付時に、保健所において作成された感染症患者調査票を、疫学調査情報として提供を受けた。また、IS

表1 ISコード変換例 (VT563)

1st セット

primer No	1-01	1-02	1-03	1-04	1-05	1-06	1-07	1-08	1-09	1-10	1-11	1-12	1-13	1-14	1-15	eae	1-16	hlyA
Size (bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	325	300	269	241	211	185	171	137
増幅の有無	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1
係数	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
コード変換	1			1			4			0			5			7		

2nd セット

primer No	2-01	2-02	2-03	2-04	2-05	2-06	2-07	2-08	2-09	2-10	2-11	2-12	2-13	2-14	2-15	2-16	stx 2	stx 1
Size (bp)	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151
増幅の有無	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0
係数	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
コード変換	3			0			3			4			4			3		

法による解析結果に基づき保健所において実施された再調査情報についても情報提供を受けた。

Ⅲ 結果及び考察

(1) IS 法と PFGE 法の比較

表2に示すとおり、38事例に対応する50株はIS法では32タイプに、PFGE法では35タイプに分類された。複数株でISコードが一致した29株中、PFGEタイプも一致したのは23株であった。PFGE法では、一般的に3バンド違いまでは疫学関連性の可能性があるとされている。菌株No VT565～571は1～3バンド違いであり、VT589とVT590は1バンド違いであった。このことを考慮すると、同一ISコードによる分類とPFGEタイプによる分類は29株中28株が一致した。

一方、表2に示すとおり、VT605とVT622、623はISコードが一致するにもかかわらず、異なるPFGEタイプを示し、VT605は、分離時期も離れていた。このことから、分離時期が近接しISコードが一致する菌株は、PFGEでも同一グループに分類される確率が高く、疫学関連性が疑われると考えられた。

また、事例3や事例34のように疫学関連性が疑われPFGEタイプが一致するにもかかわらず、ISコードが一致しない菌株も2株(VT565、VT616)認められ、今後の検討課題である。

(2) 疫学調査情報

38事例のうち、ISコードから疫学関連性を疑うグループが、6グループ認められた。これら6グループについての保健所による調査結果はつぎのとおりである。

① 事例No3及び4では、事例3患者(男9才)の妹(5才)が事例4患者(女3才)の姉(菌分離陰性)

と同一幼稚園であったが、詳細は確認できなかった。

② 事例No17及び18では、事例17患者の家族(菌分離陰性)が量販店で購入したユッケを喫食、事例No18患者が同系列量販店で購入した牛肉のたたきを喫食していたが、詳細は確認できなかった。

③ 事例No20、21は1日違いで同一焼肉店において生レバーを喫食していた。ただ、事例No22との関連性は確認できなかった。

④ 事例No29及び30では、管轄保健所も異なることから、最初の調査では単なる散発事例と認識されていたが、IS法による解析により再調査が実施されたところ、両患者とも同系列の焼肉店での喫食が判明した。これら焼肉店では冷凍輸入肉にテンダライズ処理をして出されていた。

⑤ 事例No33及び34について、再調査においても疫学関連性は確認できなかった。

⑥ 事例No36、37について、再調査においても疫学関連性は確認できなかった。

このように6グループ中、関連性が全く確認できない事例もあるが、①②③④のように関連性の可能性が示唆された事例も認められたことから、IS法による保健所等への迅速な情報還元は、感染拡大の初期探知に有効であると考えられた。

Ⅳ まとめ

- (1) 分離時期が近接している菌株間では、IS法及びPFGE法による解析結果はよく一致していた。
- (2) 保健所担当者へのIS法による迅速な情報還元は、県内で発生するO157感染症の感染拡大の初期探知に有効

表2 菌株についての疫学情報及び病原体情報

疫学情報							病原体情報		
事例 No	管轄 HC	診断年月	診断類型	年齢	性別	発生状況	菌株 No	IS コード	感染研 PFGE Type No.
								1 st/ 2 nd	
1	A	2007年 4 月	患者	2	男	散発	VT563	114057/303443	c46
2	A	6 月	患者	19	女	散発	VT564	311457/310417	c123
3	B	7 月	無症状	31	女	家族内	VT565	012057/214441	c120 ^{*1}
		7 月	無症状	3	女		VT566	012057/214443	c121 ^{*2}
		7 月	無症状	5	女		VT567		c120 ^{*1}
		7 月	患者	9	男		VT568		c122
4	B	8 月	無症状	31	女	家族内	VT570		c184 ^{*3}
		8 月	患者	3	女		VT571		c122
5	A	8 月	患者	11	女	散発	VT569	613577/610646	c192
6	A	8 月	患者	4	男	同一保育所	VT572	307557/611657	c187
		8 月	患者	3	女		VT573		
7	A	8 月	患者	4	女	散発	VT574	115457/201655	c349
8	A	9 月	無症状	59	女	家族内	VT576	155047/301442	c345
	B	9 月	患者	3	女		VT577		
9	A	9 月	患者	52	男	散発	VT578	211057/210006	c875
10	A	2008年 6 月	患者	77	女	散発	VT580	317175/211757	d125
11	B	7 月	無症状	31	男	家族内 ^(注1)	VT581	305457/611642	c47
12	A	7 月	患者	60	男	散発	VT582	317577/611756	d148
13	A	8 月	患者	78	男	散発	VT583	000445/000026	d256
14	A	8 月	患者	3	男	家族内	VT584	301457/610642	d259
		9 月	無症状	14	女		VT586		
15	A	8 月	患者	6	男	散発	VT585	555047/303442	d440
16	A	11月	患者	3	男	散発	VT587	105457/611642	d608
17	B	2009年 6 月	患者	2	男	散発	VT589	315577/611757	d527
18	B	7 月	患者	31	女	散発	VT590		e127 ^{*4}
19	C	9 月	患者	7	男	散発	VT593	213577/610747	e406
20	A	10月	患者	15	男	散発	VT594	707555/611653	e503
21	A	10月	患者	16	女	散発	VT595		
22	B	10月	患者	11	女	散発	VT596		
23	A	11月	患者	83	女	散発	VT601	117177/601757	e630
24	A	2010年 5 月	患者	51	女	散発	VT602	345457/311652	c57
25	A	6 月	無症状	31	女	家族内	VT604	105457/711642	f48
26	A	6 月	無症状	61	女	散発	VT605	717577/611657	d239
27	A	6 月	患者	32	女	散発	VT606	613177/210646	d482
28	A	7 月	患者	9 ヶ月	女	家族内	VT607	317157/611157	f128
		7 月	無症状	35	男		VT608		
	D	7 月	無症状	57	女		VT609		
29	A	8 月	患者	22	男	散発	VT610	317577/211757	f236
30	E	8 月	患者	17	女	散発	VT611		
31	A	8 月	患者	19	女	散発	VT612	717555/611657	f239
32	B	9 月	患者	13	女	散発	VT614	113157/600653	f423
33	A	10月	患者	64	男	散発	VT615	717057/231557	f570
34	A	11月	患者	6	女	家族内	VT616	715057/211557	
		11月	無症状	48	女		VT617	717057/231557	
		11月	無症状	56	男		VT618		
35	A	11月	患者	1	男	家族内	VT620	615457/301656	f567
	A	11月	患者	39	男		VT621		
36	A	11月	患者	25	女	散発	VT622	717577/611657	f568
37	A	12月	患者	37	女	散発	VT623		
38	A	12月	患者	35	女	散発	VT624	615457/311656	f623

注 1) 患者の菌株は無し

※ 1, ※ 2 は c122 と 3 バンド相違 ※ 3 は c122 と 1 バンド相違

※ 4 は d527 と 1 バンド相違

であると考えられた。

今後も、IS 法による保健所への迅速な情報還元を実施していくと共に、家族内で IS コードが異なった事例等について、さらに検討を続けていく必要がある。

本研究は厚生労働科学研究補助金（新興・再興感染症研究事業）「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」及び（新型インフルエンザ等新

興・再興感染症研究事業）「食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究」の一環として実施したことを付記する。

参考文献

- 1) 研究代表者 寺島淳：広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 平成20年度総括・分担研究報告書及び平成18年～20年度 総合研究報告書