

平成8年度に分離された腸管出血性大腸菌の 分子疫学的解析*

山口県衛生公害研究センター

冨田正章・片山 淳・岩崎 明

Molecular Epidemiology of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated in Yamaguchi Prefecture

Masaaki TOMITA, Atsushi KATAYAMA, Akira IWASAKI

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health

はじめに

1982年、米国で最初の大腸菌血清型O157:H7による集団食中毒事例として報告された腸管出血性大腸菌感染症¹⁾は、1990年の埼玉県での集団感染事例の後、国内でも重要な疾病の一つとして注目されるようになった。この後、全国的に菌の分離に関する情報が収集され、毎年約100名程度の報告がなされてきたが、1996年にいたり、岡山県での集団食中毒事例の発生以降全国的に腸管出血性大腸菌O157による感染症例が多発し、7月には大阪府の堺市を中心とした地域では世界にも類をみない大規模な集団食中毒事例が発生した²⁾。山口県内においても、夏期を中心として、腸管出血性大腸菌の感染者が27名確認された。腸管出血性大腸菌感染症の特徴として、本菌の持つ感染力が極めて強く、潜伏期間が長いことや、感染者が、溶血性尿毒症症候群や脳症などの重くなく症状をおこし致死的な経過をたどることもあることから社会的、経済的にも大きな混乱を引き起こした。本感染症に対する防疫対策のために、厚生省は平成8年8月に伝染病予防法を改正し、大腸菌血清型O157感染症をはじめとした腸管出血性大腸菌感染症を指定伝染病に指定した。腸管出血性大腸菌の感染経路等を究明し、感染の予防や防止対策を図ることが重要な課題である。このためには、それぞれの事例から分離された菌株の違いを明らかにし、分離菌株の特徴から、感染事例の相互の関連性を検討することが疫学調査として重要と考えられる。分離菌株の型別には、血清型別、薬剤感受性試験、生物型別、あるいはフェージ型別が従来から用いられてきた。近年では、プラスミドDNA^{3, 4)}や染色体DNA^{5, 6)}を解析することにより、より詳細な菌の型別が可能となって

今回、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE法)、プラスミドプロフィール及び薬剤感受性試験により平成8年度に山口県内でヒトから分離された腸管出血性大腸菌27株の解析を行ったところ、これらの分離菌株には多数の遺伝子型が存在することが明らかとなった。

材料と方法

1 供試菌株

平成8年度にヒトから分離された腸管出血性大腸菌で、血清型O157:H7を26株、血清型O26:H11を1株用いた。各供試菌株の由来は表1に示す。なお、便宜上各事例由来の菌株に菌株名を附した。

2 ベロ毒素産生性試験

ベロ毒素の検出は大腸菌ベロトキシン検出用キット (デンカ生研株) を用いたRPLA法により行った。ベロ毒素産生遺伝子の検出とその型別はPCR法により行い、プライマーとして腸管出血性大腸菌VT遺伝子検出用プライマー、腸管出血性大腸菌VT1遺伝子検出用プライマー及び腸管出血性大腸菌VT2遺伝子検出用プライマー (宝酒造株) を用いた。

3 薬剤感受性試験

昭和ディスクを用いて測定した。使用薬剤はホスホマイシン(FOM)、ノルフロキサシン(NFLX)、ゲンタマイシン(GM)、スルファメタキサゾール/トリメトプリム(ST)、ポリミキシンB(PL)、セファゾリン(CEZ)、カナマイシン(KM)、アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、クロラムフェニコール(CP)、テトラサイクリン(TC)及びナリジック酸(NA)の12剤である。検査方法は、仕様書に基づいて実施した。

4 プラスミドプロフィールによる解析

プラスミドDNAの試料は、トリプトソイブイオン

*本研究の要旨は第43回中国地区公衆衛生学会 (平成9年9月4日、松江市) において発表。

表1 腸管出血性大腸菌の検出状況

事例No	管轄H/C	性別	年齢	発病日	主徴	ベロ毒素産生性	血清型	菌株名	備考
1	厚狭	男	24	96/6/19	腹痛、嘔吐、下痢	1+2	157:7	6 Y 1	
2	下関	女	24	6/19	腹痛、下痢、血便	1+2	157:7	6 Y 2	
3	柳井	女	8	6/30	腹痛、下痢、粘血便	1+2	157:7	6 Y 3	№4の子
4	柳井	男	40		下痢	1+2	157:7	6 Y 4	№3の父
5	長門	男	73	6/28	腹痛、下痢、血便	2	157:7	6 Y 5	
6	徳山	女	22	7/22	血便	1+2	157:7	6 Y 6	
7	下関	女	19	7/24	腹痛、血便	1+2	157:7	6 Y 7	
8	山口	男	1	7/25	下痢、膿粘性血便	1+2	157:7	6 Y 8	
9	厚狭	男	2	8/5	軟便	2	157:7	6 Y 9	№12の子
10	下関	女	21	8/5	血便、腹痛	1+2	157:7	6 Y 10	
11	下関	女	35		堺市で検査陽性	1+2	157:7	6 Y 11	
12	厚狭	男	31	8/5	下痢	2	157:7	6 Y 12	№9, 13の父
13	厚狭	男	4	8/4	下痢	2	157:7	6 Y 13	№9の兄
14	厚狭	男	41	7/25	血便、腎障害	2	157:7	6 Y 14	
15	厚狭	女	1	8/9	下痢、鼻水	2	157:7	6 Y 15	
16	厚狭	女	5	8/8	軟便	2	157:7	6 Y 16	№17の姉
17	厚狭	女	1		無し	2	157:7	6 Y 17	№16の妹
18	大島	女	2	8/13	発熱、下痢、血便	2	157:7	6 Y 18	№19の妹
19	大島	女	6		無し	2	157:7	6 Y 19	№18の兄
20	山口	女	14	8/23	下痢	1	26:11	6 Y 20	
21	防府	男	46	9/1	下痢、血便	1+2	157:7	6 Y 21	
22	防府	女	1	9/5	血便	1+2	157:7	6 Y 22	№23の孫
23	防府	男	62		無し	1+2	157:7	6 Y 23	№22の祖父
24	美祿	男	12	10/17	下痢、血便	1+2	157:7	6 Y 24	
25	柳井	女	5	10/31	血便、腹痛	1+2	157:7	6 Y 25	№27の子
26	柳井	女	2		軟便	1+2	157:7	6 Y 26	№27の子
27	柳井	男	27		無し	1+2	157:7	6 Y 27	№25, 26の父

培養菌体をKadoとLiu⁷⁾の方法により調製した。プラスミドDNAの試料は0.7%アガロースゲルでトリス-ホウ酸緩衝液(pH8.3)で電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色しトランスイルミネーターを用いて写真撮影を行った。

5 PFGE法による染色体DNAの制限酵素切断パターンの解析

トリプトソイブイオンで培養した菌体をMurrayら⁸⁾の方法によりPFGE用のゲルブロックを作製した。作製したゲルブロックは、制限酵素XbaIは30U、制限酵素ApaIは50Uを用いて200μlの反応液中で処理した。パルスフィールドゲル電気泳動装置としては、Gene Path (Bio-Rad Laboratories)を用いて、制限酵素ApaIで処理した試料はプログラム13、制限酵素XbaIで処理した試料はプログラム23で泳動した。

結果

1 分離菌株のベロ毒素産生性及び特異的性状

分離菌株27株中26株は血清型O157:H7で、1株は血清型O26:H11であった。血清型O157:H7の26株のうち、16株はベロ毒素1型及び2型を産生し、10株はベロ毒素2型を産生した。血清型O26:H11はベロ毒素1型を産生した。血清型O157:H7のうち、同居の家族から分離された菌株6 Y 22と6 Y 23の2株はCLIG寒天培地(極東製薬株)を用いた蛍光性の有無によるβ-Dグルクロナーゼ試験が陽性で、我が国で分離される血清型O157:H7の一般的性状と異なっていた。

2 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の結果は、表2に示す。使用薬剤に耐性を示したものが3株に(菌株6 Y 1, 6 Y 11, 6 Y 22)認められた。このうち、菌株6 Y 1はABPC, SM及びTCの3剤に耐性を示した。また、菌株6 Y 11

表2 薬剤感受性試験の成績

菌株	FOM	NFLX	GM	ST	PL	CEZ	KM	ABPC	SM	CP	TC	NA
6 Y 1	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	-	-	+++	-	++
6 Y 2	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 3	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
6 Y 4	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 5	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 6	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 7	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 8	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 9	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 10	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 11	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	-	++
6 Y 12	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 13	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 14	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 15	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 16	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 17	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 18	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 19	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 20	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 21	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 22	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	-	+++	+++
6 Y 23	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 24	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 25	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 26	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
6 Y 27	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++

-: 耐性, +: 感受性, ++: やや感受性, +++: 極めて感受性

はTCに、菌株6 Y22はCPにそれぞれ耐性を示した。
菌株6 Y22と菌株6Y23は同居の家族から分離されたものであるが、菌株6Y23はCPに耐性を示さなかった。

3 プラスミドプロファイルによる解析

血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型を産生する16株のプラスミドプロファイルは7種類のパターンに分類された(写真1)。いずれの菌株も約90Kbのプラスミドを保有していた。この他に、90Kbサイズよりやや小さいサイズのプラスミドを保有する株や、約2Kbサイズや約6Kbサイズのプラスミドを保有する菌株がみられた。血清型O157:H7でベロ毒素2型を産生する10株のプラスミドプロファイルは、3種類のパターンに分類され(写真2)いずれの菌株も約90Kbサイズのプラスミドを保有していた。この他に、90Kbサイズよりやや小さいサイズのプラスミドや、約2Kbサイズ、あるいは、約4Kbサイズのプラスミ

表3 プラスミドプロファイルによる分離株の型別

血清型	ベロ毒素の産生型	プラスミドプロファイル型	分離菌株
O157:H7	1型+2型	a	6 Y 1, 6 Y10
		b	6 Y 2, 6 Y 3, 6 Y 4, 6 Y11, 6 Y24
		c	6 Y21, 6 Y25, 6 Y26, 6 Y27
		d	6 Y 7, 6 Y23
		f	6 Y22
		e	6 Y 8
		g	6 Y 6
O157:H7	2型	2 a	6 Y 5, 6 Y 9, 6 Y12, 6 Y13
		2 b	6 Y14, 6 Y15, 6 Y17, 6 Y16
		2 c	6 Y18, 6 Y19
O26:H11	1型		6 Y20

□: 同居家族で同一パターンを示すもの
○: 同居家族で異なるパターンを示すもの

ドが観察された。各菌株のプラスミドプロファイルによる分類は表3に示すとおりである。同居の家族から分離された事例が6グループ(表1)あり、この中でプラスミドプロファイルが同一のパターンを示した菌株が、ベロ毒素1型及び2型産生株では、菌株6 Y 3と6 Y 4のグループ、菌株6 Y25, 6 Y26及び6 Y27のグループ、ベロ毒素2型産生株では菌株6 Y 9, 6 Y12及び6 Y13のグループ、菌株6 Y18と6 Y19のグループの4グループであった。

4 PFGE法を用いた染色体DNAの切断パターンによる解析

(1) 血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型産生株について

制限酵素XbaIで処理したときのパターンを写真3に示す。制限酵素XbaIで染色体DNAは約40Kbから500Kbサイズの間約20本のバンドとして観察された。供試した16株のパターンは12種類に分類された(表4)。同居の家族からの分離事例が3例あり、このうち、同一のパターンを示した事例が、菌株

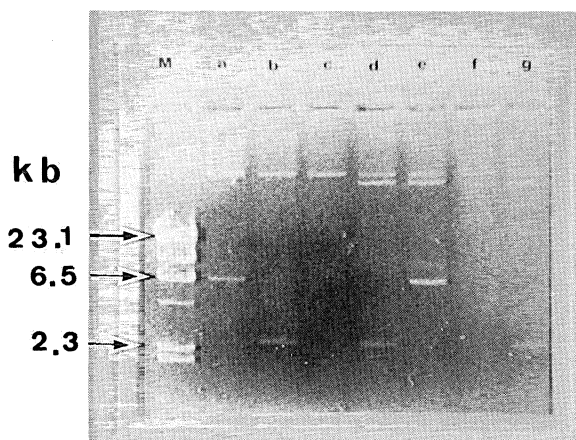


写真1. 血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型産生株のプラスミドプロファイル。
M: λ/HindIII digest

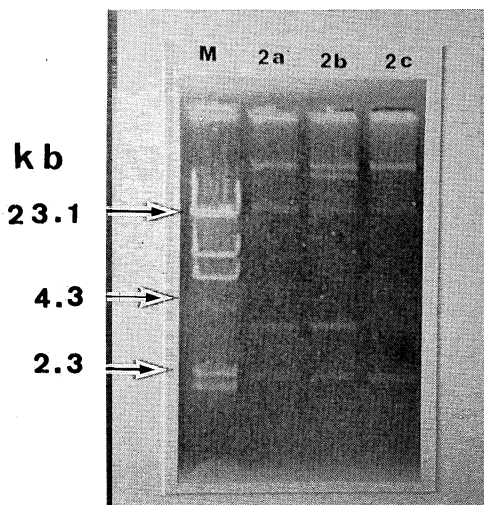


写真2. 血清型O157:H7でベロ毒素2型産生株のプラスミドプロファイル。
M: λ/HindIII digest.

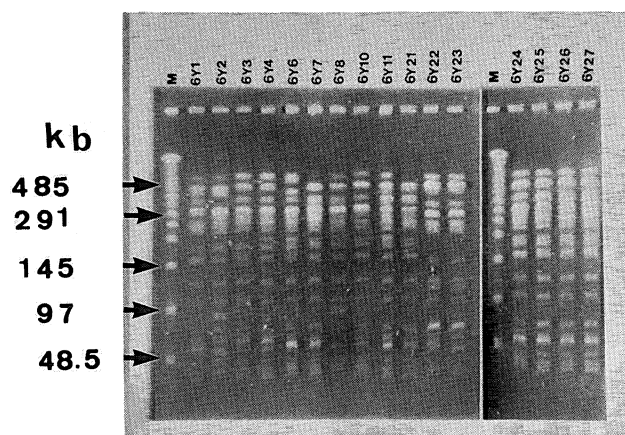


写真3. 血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型産生株を制限酵素XbaIで処理した時のPFGE法による染色体DNAの切断パターン。
M: λ DNA ladder.

6 Y22と6 Y23のグループ、菌株6 Y25、6 Y26及び6 Y27のグループの2事例があり、異なるパターンを示したものが、菌株6 Y3と6 Y4のグループの1事例であった。菌株間の違いをより明確にするため、制限酵素*ApaI*による染色体DNAの切断パターンを比較した。制限酵素*ApaI*の処理で染色体DNAは制限酵素*XbaI*に比べて小さいサイズの断片が生成され、約250Kbサイズより小さい部位に多数のバンドが観察された(写真4, 写真5)。制限酵素*XbaI*では同一のパターンを示した菌株6 Y22と6 Y23は制限酵素*ApaI*でも同一のパターンを示した(写真3, 写真4)。制限酵素*XbaI*で同一のパターンを示した菌株6 Y24、6 Y25、6 Y26及び6 Y27の4株のうち、同居の家族由来の6 Y25、6 Y26及び

6 Y27は同一のパターンであったが6 Y24とは異なるパターンを示した(写真5)。

(2) 血清型O157:H7でベロ毒素2型産生株及び血清型O26:H11について

血清型O157:H7でベロ毒素2型産生株10株の制限酵素*XbaI*による染色体DNAの切断パターンを写真6に示す。これらの菌株のパターンは、4種類に分類された(表4)。同居の家族内で分離された事例が3事例あった。このうち、菌株6 Y9、6 Y12及び6 Y13のグループと菌株6 Y18と6 Y19のグループの2例はそれぞれのグループ内で同一のパターンを示し、菌株6 Y16と6 Y17のグループは異なるパターンが観察された。制限酵素*XbaI*で同一の切断パターンを示した菌株6 Y9、6 Y12、6 Y13、

表4 パルスフィールドゲル電気泳動法を用いた染色体DNAの切断パターンによる分離菌株の型別

血清型	ベロ毒素の産生型	PFGE型		分離菌株
		<i>XbaI</i>	<i>ApaI</i>	
O157:H7	1型+2型	I	I	6 Y1
		II	II	6 Y2
		III	III	6 Y3
		IV	III	6 Y4
		V	IV	6 Y6
		VI	V	6 Y7
		VII	VI	6 Y8
		VIII	VII	6 Y10
		IX	VIII	6 Y11
		X	IX	6 Y21
		XI	X	6 Y22、6 Y23
		XII	XI	6 Y24
O157:H7	2型	I	I	6 Y5
		II	II	6 Y9、6 Y12、6 Y13
		III	III	6 Y14、6 Y15、6 Y16、6 Y17
		IV	IV	6 Y18、6 Y19
O26:H11	1型			6 Y20

□: 同居家族で同一パターンを示すもの
 □: 同居家族で異なるパターンを示すもの

表5 分離菌株のプラスミドプロフィールとPFGE法の組み合わせによる型別

血清型	ベロ毒素の産生型	プラスミドプロフィール型	PFGE型		分離菌株		
			<i>XbaI</i>	<i>ApaI</i>			
O157:H7	1型+2型	a	I	I	6 Y1		
			VIII	VII	6 Y10		
			II	II	6 Y2		
			III	III	6 Y3		
			IV	III	6 Y4		
			IX	VIII	6 Y11		
		c	XII	XI	6 Y24		
			X	IX	6 Y21		
			XII	XII	6 Y25、6 Y26、6 Y27		
			VI	V	6 Y7		
		d	XI	X	6 Y23		
			XI	X	6 Y22		
			VII	VI	6 Y8		
			V	IV	6 Y6		
O157:H7	2型	2 a	I	I	6 Y5		
			II	II	6 Y9、6 Y12、6 Y13		
		III	III	III	6 Y14、6 Y15		
			III	III	6 Y17		
			II	II	6 Y16		
			IV	IV	6 Y18、6 Y19		
		2 b	2 c	IV	IV	IV	6 Y20
O26:H11	1/型				6 Y20		

□: 同居家族で同一パターンを示すもの
 □: 同居家族で異なるパターンを示すもの

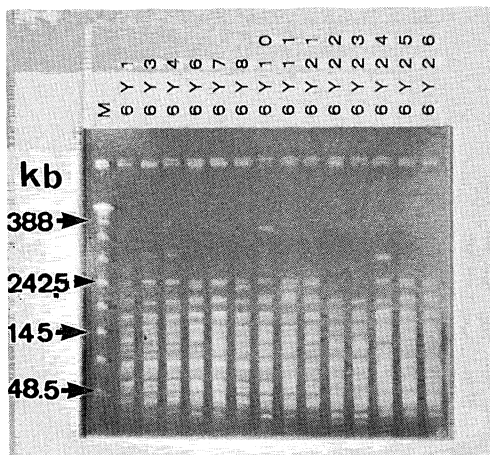


写真4. 血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型産生株を制限酵素*ApaI*で処理した時のPFGE法による染色体DNAの切断パターン。
 M: λ DNA ladder.

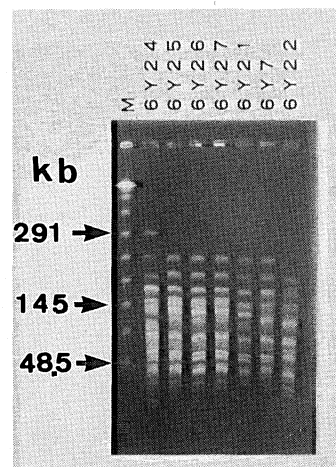


写真5. 血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型産生株を制限酵素*ApaI*で処理した時のPFGE法による染色体DNAの切断パターン。
 M: λ DNA ladder.

6 Y14, 6 Y15及び6 Y16のグループ (写真6) と菌株6 Y18と6 Y19のグループは制限酵素*ApaI*でもそれぞれのグループ内で同一のパターンであった (写真7). 菌株6 Y5は制限酵素*XbaI*では6 Y9とよく似たパターンを示した (写真6) が, 制限酵素*ApaI*では明らかに異なるパターンとして区別することができた (写真7). なお, 血清型O26は血清型O157と類似性の低いパターンとして観察された (写真6: 6 Y20).

5 プラスミドプロフィールとPFGE法による染色体DNAの切断パターンの組み合わせによる型別

プラスミドプロフィールと制限酵素*XbaI*処理による染色体DNAの切断パターンの組み合わせによる分離菌株の型別を表5に示す. 二法の組み合わせにより血清型O157:H7でベロ毒素1型及び2型を産生する16株は14種類, ベロ毒素2型を産生する10株は5種類に分類された. また, 同居の家族から分離された事例が6事例あり, 菌株数として合計14株が分離された. それらの菌株で, プラスミドプロフィールとPFGE法によるパターンがいずれも同一であった事例が菌株6 Y9, 6 Y12及び6 Y13の事例, 菌株6 Y18と6 Y19の事例, 菌株6 Y25, 6 Y26及び6 Y27の事例の3事例あり, プラスミドプロフィール, もしくはPFGE法によるパターンに不一致のあった事例が菌株6 Y3と6 Y4の事例, 6 Y16と6 Y17の事例及び6 Y22と6 Y23の事例の3事例にみられた. 一方, プラスミドプロフィールとPFGE法によるパターンが同一であった菌株が, ベロ毒素2型産生株において同居の家族内で発生した事例も含めて5株 (6 Y9,

6 Y12, 6 Y13, 6 Y14, 6 Y15) 認められた. これらの5株は, ほぼ同一時期に, 同一地域において分離されたものであった.

考 察

細菌感染症における疫学解析のためのマーカーとしては従来から用いられている血清型別, ファージ型別, 薬剤感受性試験などに加えて, 近年ではリボタイピング, プラスミドプロフィール, PFGE法などの分子疫学的手法による解析が行われるようになった. 各事例から分離された菌株をこのような技法を用いて解析することにより, 菌型の分布や流行している菌型の特徴を把握し, 感染の防止や汚染源の究明を図ることが可能と思われる.

このたび, 県内で分離された腸管出血性大腸菌についてPFGE法, プラスミドプロフィール, 薬剤感受性による型別を行った. 分離菌株の生化学的性状のうち, 我が国で分離された血清型O157:H7でベロ毒素産生株は一般的に β -Dグルクロニダーゼが陰性とされている⁹⁾が, 一家族2名から分離された菌株6 Y22と6 Y23は陽性反応を示したことから, β -Dグルクロニダーゼ反応だけによるスクリーニングをした場合にはこれらの菌株は見逃されてしまうので, 血清型別の併用が必要と考えられる. 近年, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌をはじめとして, 各種の抗生物質に対する耐性菌の出現が問題となっているが, 腸管出血性大腸菌について, 甲斐ら¹⁰⁾は, 分離菌株の14.4%にTC, SM, ABPCのいずれかに対する耐性株を報告している. 県内での分離株では27株中3株にTC, SM, CP, ABPCに対する耐性株を検出し, そのうち1株はTC, SM及びABPCの3剤に耐性を示した. 薬剤耐性株の増加は治療上重要な問題であることから,

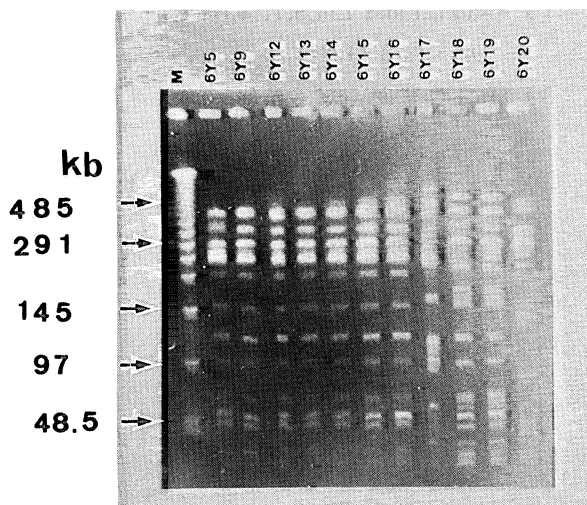


写真6. 血清型O157:H7でベロ毒素2型産生株及び血清型O26:H11を制限酵素*XbaI*で処理した時のPFGE法による染色体DNAの切断パターン.
M: λ DNA ladder.

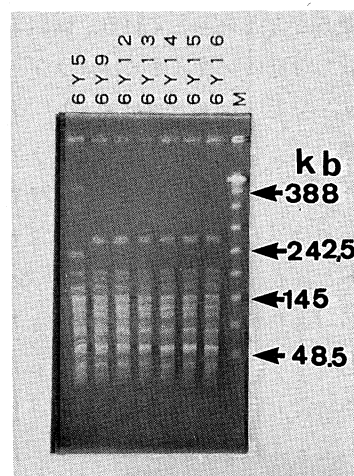


写真7. 血清型O157:H7でベロ毒素2型産生株を制限酵素*ApaI*で処理した時のPFGE法による染色体DNAの切断パターン.
M: λ DNA ladder.

今後その動向に注意が必要である。近年、分子疫学的手法による疫学解析が広く用いられるようになった。特に、PFGE法は菌株間の識別能が優れるとともに、得られる結果に再現性があることから信頼性の高い技術として評価されている^{11,12)}。制限酵素 *Xba*I 処理による PFGE 法で血清型 0157:H7 でベロ毒素 1 型及び 2 型産生株は 12 種類のパターンに分類され、ベロ毒素 2 型産生株は 4 種類のパターンに分類された。制限酵素 *Xba*I で同一のパターンを示した菌株を制限酵素 *Apa*I で処理したときに互いに同一のパターンを示すものと、異なるパターンを示すものがみられた。異なる種類の制限酵素で菌株の染色体 DNA の切断パターンが同一の株は遺伝子型としては極めて同一性が高いことを示しており、このようなグループが 4 グループに認められた。これらの中で、ベロ毒素 2 型産生株の 6 Y 9, 6 Y 12, 6 Y 13, 6 Y 14, 6 Y 15 のグループは使用した 2 種類の制限酵素による PFGE 法でのパターンとともにプラスミドプロフィールも同一でかつ、菌株が分離された地域や時期も同一であったことから共通の汚染源が示唆される。

PFGE 法では用いる制限酵素の種類が重要であり、腸管出血性大腸菌では通常 *Xba*I が用いられている。著者らはサルモネラの解析で制限酵素 *Bln*I と *Xba*I を組み合わせることにより精度の高い型別ができることを報告した¹³⁾。今回の事例においては、ベロ毒素 1 型及び 2 型産生株の 6 Y 24, 6 Y 25, 6 Y 26 及び 6 Y 27 は制限酵素 *Xba*I では同一のパターンを示した (写真 3) が、制限酵素 *Apa*I で処理したときには 6 Y 24 は他の 3 株と異なるパターンを示し (写真 5) 互いに識別することができた。このことは、腸管出血大腸菌においては、制限酵素 *Xba*I と *Apa*I を組み合わせて用いることにより、詳細な型別が可能であることを示している。同居の家族から分離された複数の菌株にプラスミドプロフィールや PFGE 法によるパターンが異なる事例があった。菌株間でプラスミドプロフィールが異なる事例ではプラスミドの脱落や新たなプラスミドの獲得、もしくは異なるプラスミドプロフィールを持つ株の混合感染などが考えられる。一方、PFGE 法によるパターンの違いは、染色体 DNA の変異、遺伝子型として異なるクローンによる原因菌株の混合感染、もしくは保有するプラスミドの関与が考えられる。1996 年に大阪府堺市での集団食中毒事例においても 6 種類の PFGE 型が報告され、この中にはプラスミド由来のものと染色体由来のものが指摘されている¹⁴⁾。これらの結果は、本菌の遺伝子変異の出現頻度が高いことを示唆しているのかもしれない。今回の供試菌株の中で

も、同居の家族から分離された菌株をプラスミドプロフィールと PFGE 法による解析を組み合わせることにより異なる型として分類される事例がありこのような事例では異なるクローンによる混合感染であることも否定できない。今後、分子疫学的手法による解析が進められることにより、汚染源や感染経路などが明らかにされ感染の防止対策が図られるものと期待される。

まとめ

平成 8 年度に県内で分離された腸管出血性大腸菌について、薬剤感受性試験、プラスミドプロフィール及びパルスフィールドゲル電気泳動法による疫学解析を行った。プラスミドプロフィールとパルスフィールドゲル電気泳動法を用いることにより分離菌株は多くの型に分類された。このことから、県内には多くの種類の遺伝子型を持った菌が分布していることが明らかとなった。また、パルスフィールドゲル電気泳動法では、複数の制限酵素を用いて解析することにより、菌株間の違いをより明確にできることが明らかとなった。

文 献

- 1) Riley, L. W. et al: N. Engl. J. Med. 308, 681~685 (1983)
- 2) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核感染症課: 病原微生物検出情報, 18 (7), 1~4 (1997)
- 3) Riley, L. W. et al: J. Infect. Dis. 148, 12~17 (1983)
- 4) 富田正章ほか: 食品と微生物, 9, 96~99 (1992)
- 5) Thong, K. L. et al: J. Clin. Microbiol. 33, 1070~1074 (1995)
- 6) Krause, U. et al: J. Clin. Microbiol. 34, 959~961 (1996)
- 7) Kado, C. I. and Liu, S. T.: J. Bacteriol. 145, 1365~1373 (1981)
- 8) Murray, B. E. et al: J. Infect. Dis. 163, 780~785 (1991)
- 9) 坂崎利一: 日食微誌, 13, 187~193 (1997)
- 10) 甲斐明美ほか: 臨床と微生物, 23, 827~834 (1996)
- 11) Tenover, F. C. et al: J. Clin. Microbiol. 33, 2233~2239 (1995)
- 12) 一山智ほか: 日本臨床, 50, 143~148 (1992)
- 13) 富田正章ほか: 日食微誌, 13, 117~120 (1996)
- 14) Izumiya, H. et al: J. Clin. Microbiol. 35, 1675~1680 (1997)