

課題番号3

県内における 腸管病原性大腸菌の実態調査

微生物部 ○岡部祐未 三浦美穂 山口佳織
西田倫子 吉野修司

1

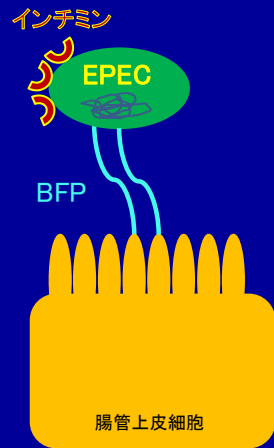
下痢原性大腸菌の分類

| 分類 | 発生機序 | 主な病原因子 or マーカー | 定義 |
|------------------------------------|-------------|---|---|
| 腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC) | 毒素 | VT1、VT2 | Vero毒素(VT)産生性あるいはVT遺伝子が 確認されたもの(保菌者からの検出を含む) |
| 腸管毒素原性 (ETEC) | 毒素 | LT、ST | 易熱性エンテロトキシン(LT)、耐熱性エンテロ トキシン(ST)、あるいはその両者の産生性 or毒素遺伝子が確認されたもの |
| 組織侵入性 (EIEC) | 侵入性 | <i>invE</i> 、 <i>ipaH</i> | 組織侵入性プラスミドを保有していること、 or組織侵入性遺伝子が確認されたもの |
| 腸管病原性 (EPEC) | 細胞局在 付着性 | <i>eae</i> 、 <i>bfpA</i> 、EAF | 培養細胞への局在付着性、または、それに 関連する遺伝子が確認されたもの ・VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く |
| 腸管凝集付着性 (EAggEC) | 細胞凝集 付着性 | <i>aggR</i> 、CVD432 | 培養細胞への凝集付着性、または、それに 関連する遺伝子が確認されたもの ・VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く |
| 他の下痢原性 | 不明 | <i>afa</i> 、 <i>astA</i> 、 CDT、 <i>cnf</i> | 上記5つに該当しないが胃腸炎の原因菌と 考えられるもの 生化学的性状が同じもの が多数の患者より検出された場合 |

2

EPECの病原性①

～付着～

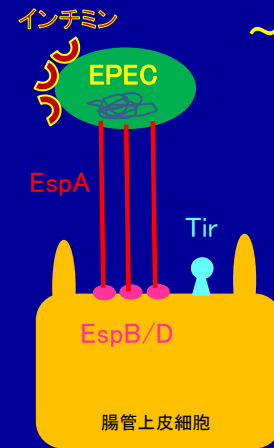


- BFP (Bundle-forming pilus)により、EPECが腸管上皮細胞に付着

3

EPECの病原性②

～Tirの移行～



- 腸管上皮細胞の微絨毛の破壊
- タイプⅢ分泌機構の関与
→Esp (*E. coli*-secreted protein)蛋白質群の分泌
- Tir (translocated intimin receptor)を宿主細胞へ移行

4

EPECの病原性③ ～Tirとインチミンの結合～



- インチミン (EPECの膜蛋白質) とTirが結合
- 宿主細胞のF-アクチン重合が起こり、盛り上がる

↓
A/E病変
(attaching and effacing lesions)

↓
下痢

5

EPECの同定法

- 2011年まで → 血清型別による特定のO群で分類
- 2012年以降 → 付着に密接に関連するインチミン遺伝子 (*eae*) の検出

↓

遺伝子検査を実施していない医療機関では
確定診断に至っていない可能性がある

6

目的

- 県内のEPECの実態調査
→ O抗原の型別分類
(遺伝子型も含め)
→ *eae*のサブタイプ解析

7

対象

- 供試検体
協力医療機関から収集し、
インチミン遺伝子 (*eae*) が検出
された菌株
- 期間
平成26年度以降

8

方法

1. O抗原の型別

- 病原大腸菌免疫血清を用いた判定
- PCR法を用いたO抗原の遺伝子型判定

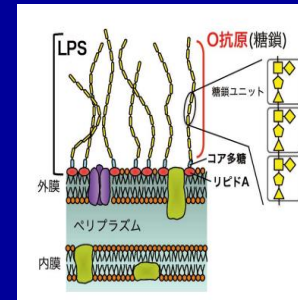
2. *eae*のサブタイプ解析

- シーケンス

9

大腸菌のO抗原①

～O抗原とは～



- O抗原とは、グラム陰性菌の菌体表層を覆うリポ多糖(LPS)の構造の一部

井口純,et al.日本細菌学雑誌 2016 ; 71(4):209-215

10

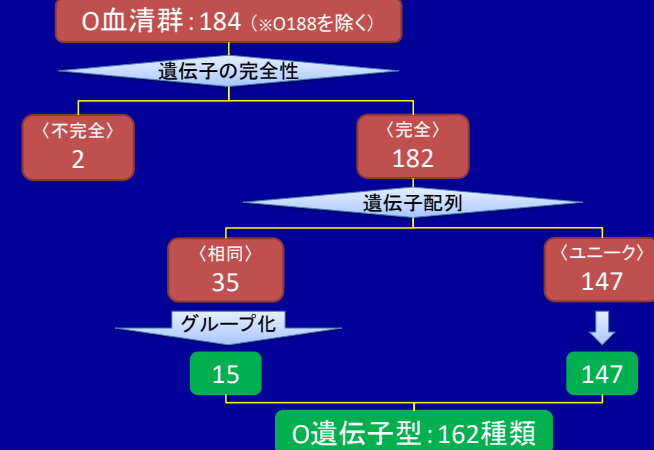
大腸菌のO抗原②

～O抗原の種類と判定～

- 大腸菌のO抗原は、O1からO188までの185種類(3種類の亜型と6種類の欠番を含む)
- 判定は通常、市販の病原大腸菌免疫血清を用いる
→いずれの抗血清でも凝集が見られない場合、OUT(判定不能)と分類される

11

O抗原合成遺伝子による整理



12

O抗原の遺伝子検査

- *E.coli* O-genotyping PCR
…全162種類のO抗原遺伝子型のプライマーセットを含む20種類のマルチプレックスPCR法



それぞれの反応系に、得られる産物長が異なる6～9種類のプライマーセットが含まれており、O抗原の遺伝子型を判定できる

Iguchi A, et al. J Clin Microbio. 2015 Aug;53(8):2427-32.

13

*eae*のサブタイプ解析

1. PCR *cesT*-F9/*eae*-R3 プライマーペア
(*cesT*-F9 : TCAGGGAATAACATTAGAAA)
(*eae*-R3 : TCTTGTGCGCTTTGGCTT)
eae-F1/*escD*-R1 プライマーペア
(*eae*-F1 : ACTCCGATTCTCTGGTGAC)
(*escD*-R1 : GTATCAACATCTCCCGCCCA)
2. DNA精製 QIAquick PCR purification kit
3. シーケンス

Ooka T, et al. Emerg Infect Dis. 2012 Mar;18(3):488-92.

14

計画

- 令和5年度 : 菌株の整理
疫学情報の整理
- 令和6年度 : 分離株のO抗原による型別分類
・免疫血清及び遺伝子型による分類
- 令和7年度 : 分離株の病原因子解析
疫学・血清型別との関連調査
・*eae*のサブタイプ解析
・疫学、血清型及び病原因子の関連調査

15

効果

- EPEC感染症の実態を明らかにすることにより県民へ下痢症の起因菌として注意喚起を図ることができる。
- 病原因子検出の意義を広報することで、医療機関等におけるPCRの普及を図ることができる。

16