

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 山口佳織 西田倫子
三浦美穂 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	ベロ毒素(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 (EAaggEC)	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

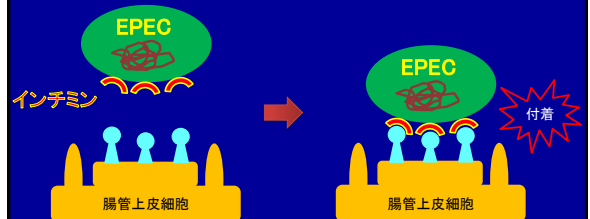
EPECの同定

- 2011年まで
→ 血清型別による特定のO群で分類
- 2012年以降
→ インチミンをコードする遺伝子(*eae*)の検出

3

インチミンとは

- インチミン
→ EPECの膜蛋白質
→ EPECが腸管上皮細胞に付着するのに関与



4

EPECの同定

- 2012年以降
→ インチミンをコードする遺伝子(*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

5

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

6

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

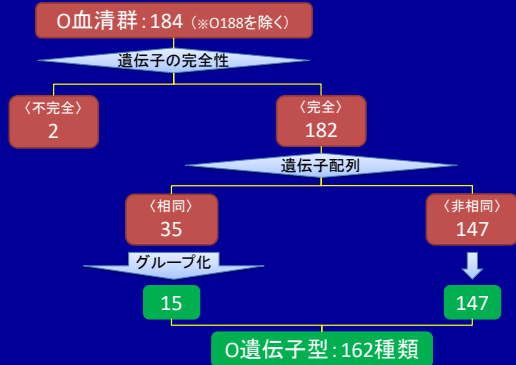
7

大腸菌のO抗原

- 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

8

O抗原合成遺伝子による整理



9

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可能

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

10

*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 : ACTCCGATTCCTCTGGTGAC)
(*escD*-R1 : GTATCAACATCTCCGCCCA)
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.

11

効果

- EPEC感染症の実態を明らかにする
➡ EPECが下痢症の起因菌となりうると県民へ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
➡ 医療機関等におけるPCRの普及を図ることができる

12