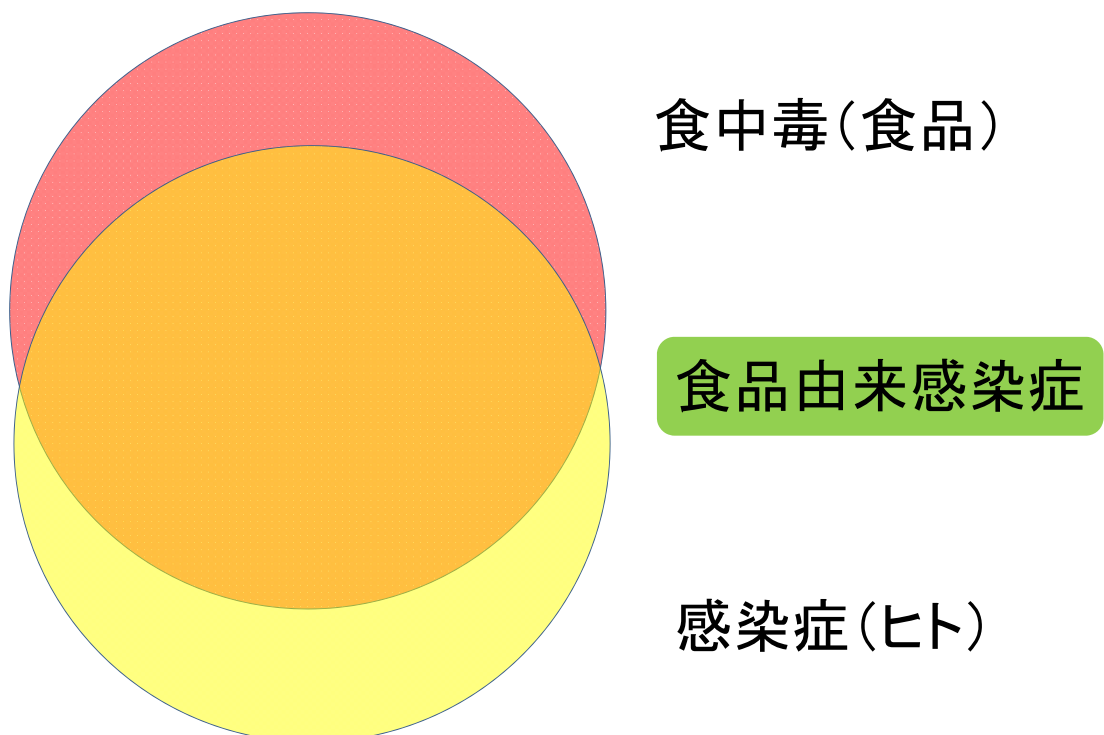


ベロ毒素産生大腸菌(VTEC)等による食品媒介感染症 の分子疫学的解析

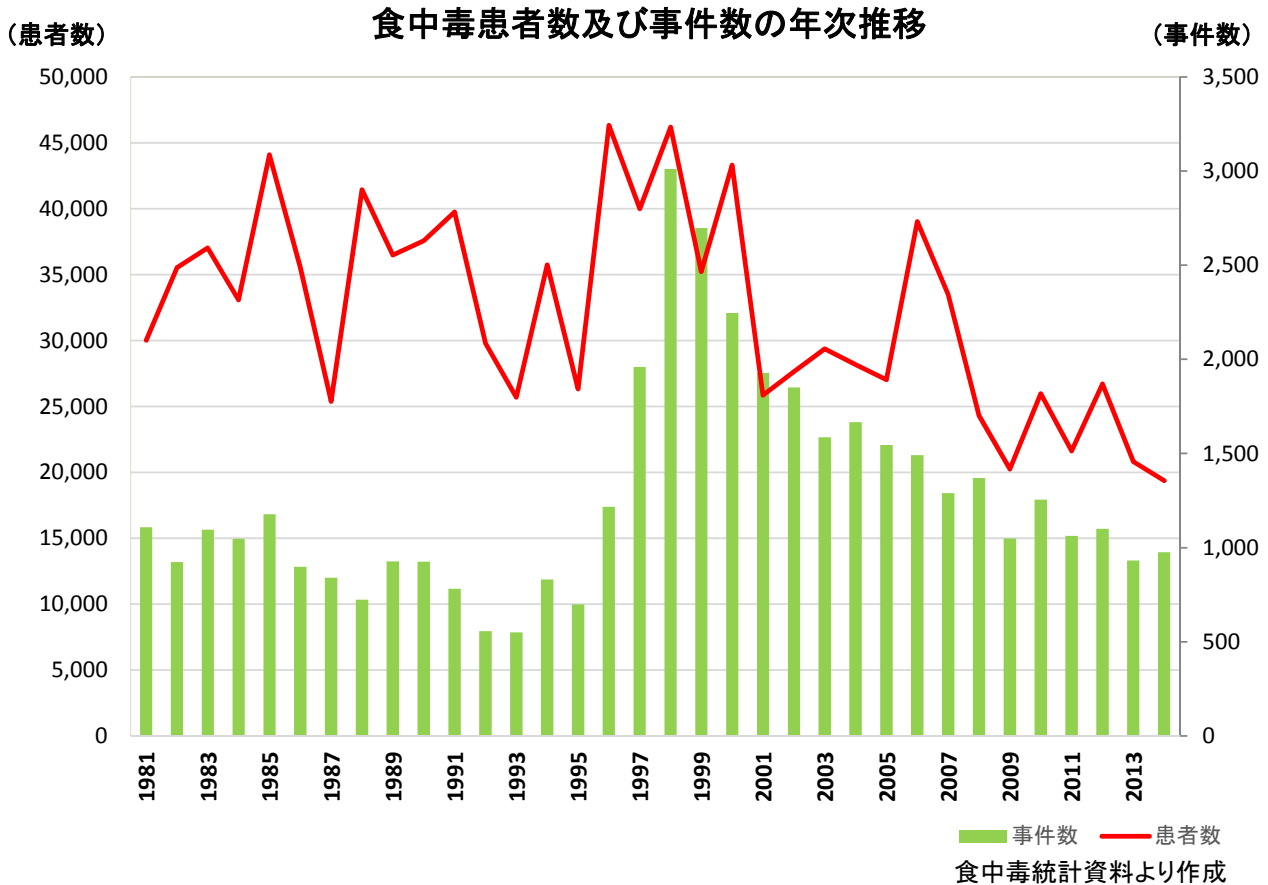
国立医薬品食品衛生研究所
衛生微生物部 寺嶋 淳

国立感染症研究所
細菌第一部 泉谷秀昌、大西 真

1



2



● 食中毒事件票

(12) 病因物質の種別

| | | | |
|----|------------------|----|----------|
| 1 | サルモネラ属菌 | 15 | パラチフスA菌 |
| 2 | ぶどう球菌 | 16 | その他の細菌 |
| 3 | ボツリヌス菌 | 17 | ノロウイルス |
| 4 | 腸炎ビブリオ | 18 | その他のウイルス |
| 5 | 腸管出血性大腸菌(VT産生) | 19 | クドア |
| 6 | その他の病原大腸菌 | 20 | サルコシステス |
| 7 | ウェルシュ菌 | 21 | アニサキス |
| 8 | セレウス菌 | 22 | その他の寄生虫 |
| 9 | エルシニア・エンテロコリチカ | 23 | 化学物質 |
| 10 | カンピロバクター・ジェジュニ/コ | 24 | 植物性自然毒 |
| 11 | ナグビブリオ | 25 | 動物性自然毒 |
| 12 | コレラ菌 | 26 | その他 |
| 13 | 赤痢菌 | 27 | 不明 |
| 14 | チフス菌 | | |

● 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律

三類感染症

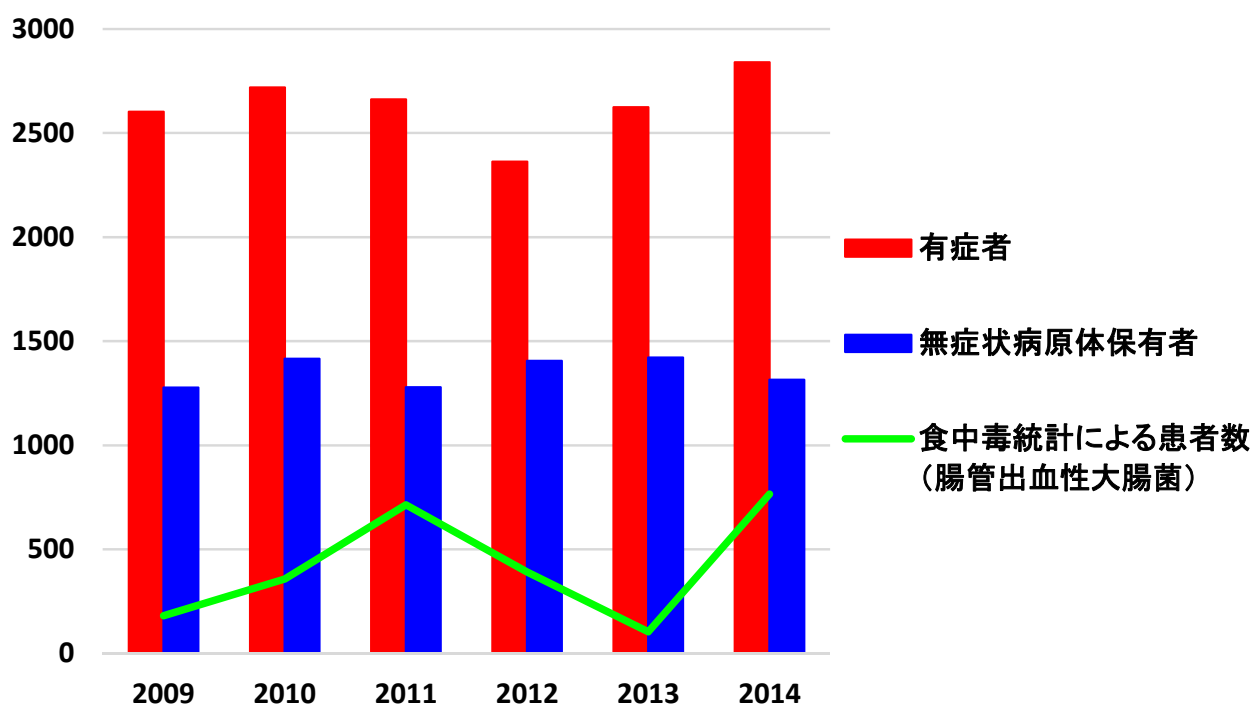
(1)コレラ (2)細菌性赤痢 (3)腸管出血性大腸菌感染症 (4)腸チフス (5)パラチフス

**腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) または
志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *E. coli*, STEC)、
ベロ毒素産生性大腸菌 (Verocytotoxin-producing *E. coli*, VTEC)**

- 疾病 : 急性胃腸炎、出血性大腸炎、
溶血性尿毒症症候群 (Hemolytic uremic syndrome、HUS)
急性脳症、肺水腫
- 潜伏期 : 1 - 10 日 (おおよそ3~5日)
- 症状 : 下痢、腹痛、発熱、血便、HUS、脳症
- 伝播様式 : 食水系媒介、糞口感染、ヒトからヒト
(100個程度の少数菌で感染成立)
- 病原性 : Shiga toxins (Stx 1, Stx 2 and Stx 2-variants)
接着因子
- 罹患年齢 : 全ての年齢、特に小児、高齢者
- 主要O血清群 : 157, 26, 103, 111, 121, , , ,

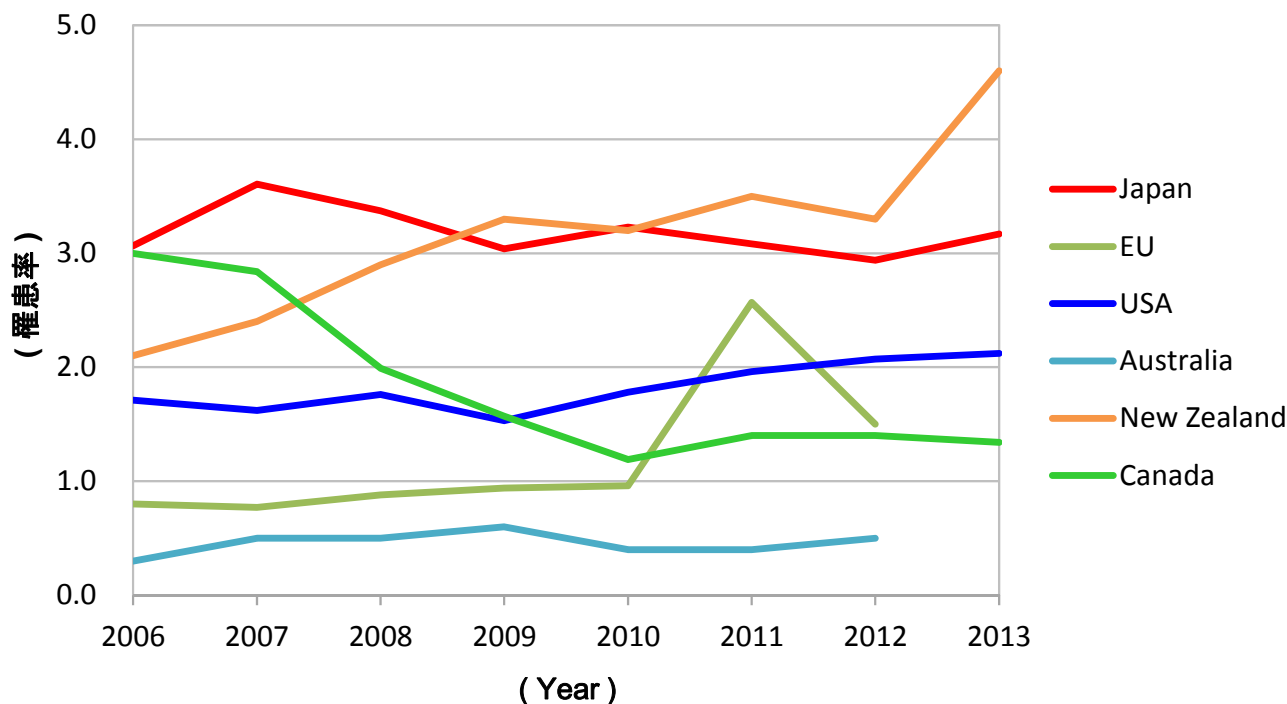
5

発生動向調査によるEHEC感染者数と
食中毒統計による患者数の推移、2009~2014年



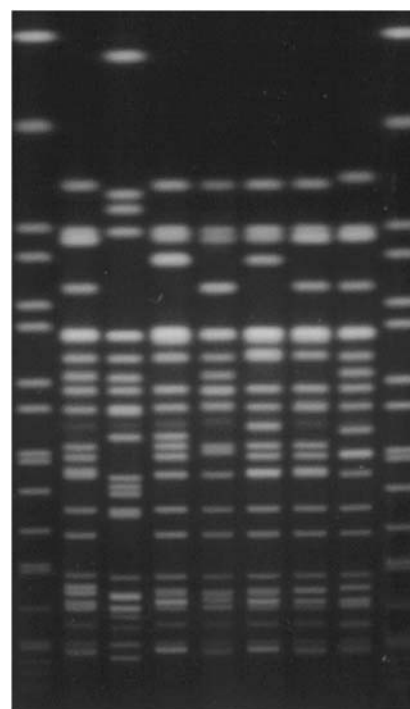
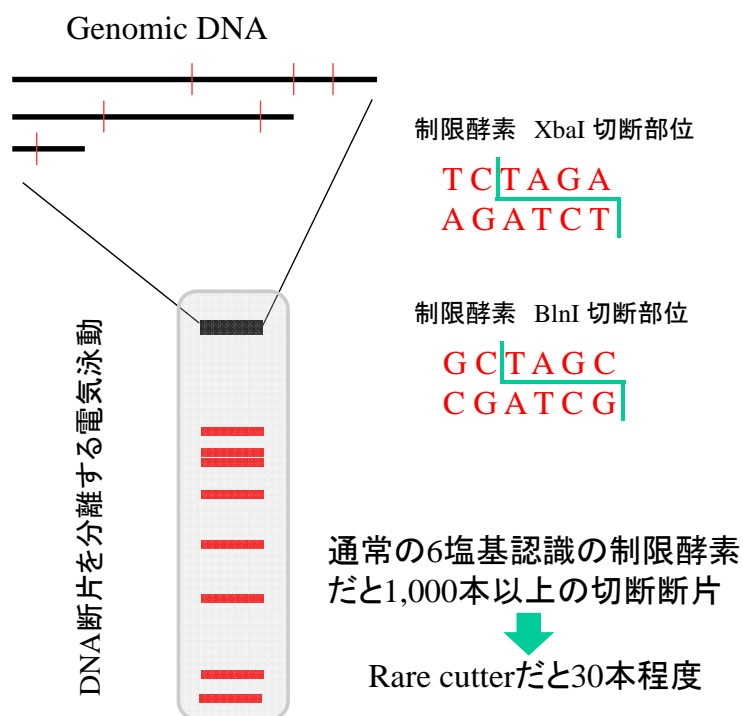
6

人口10万人当たりのEHEC感染症罹患率の比較, 2006~2012年



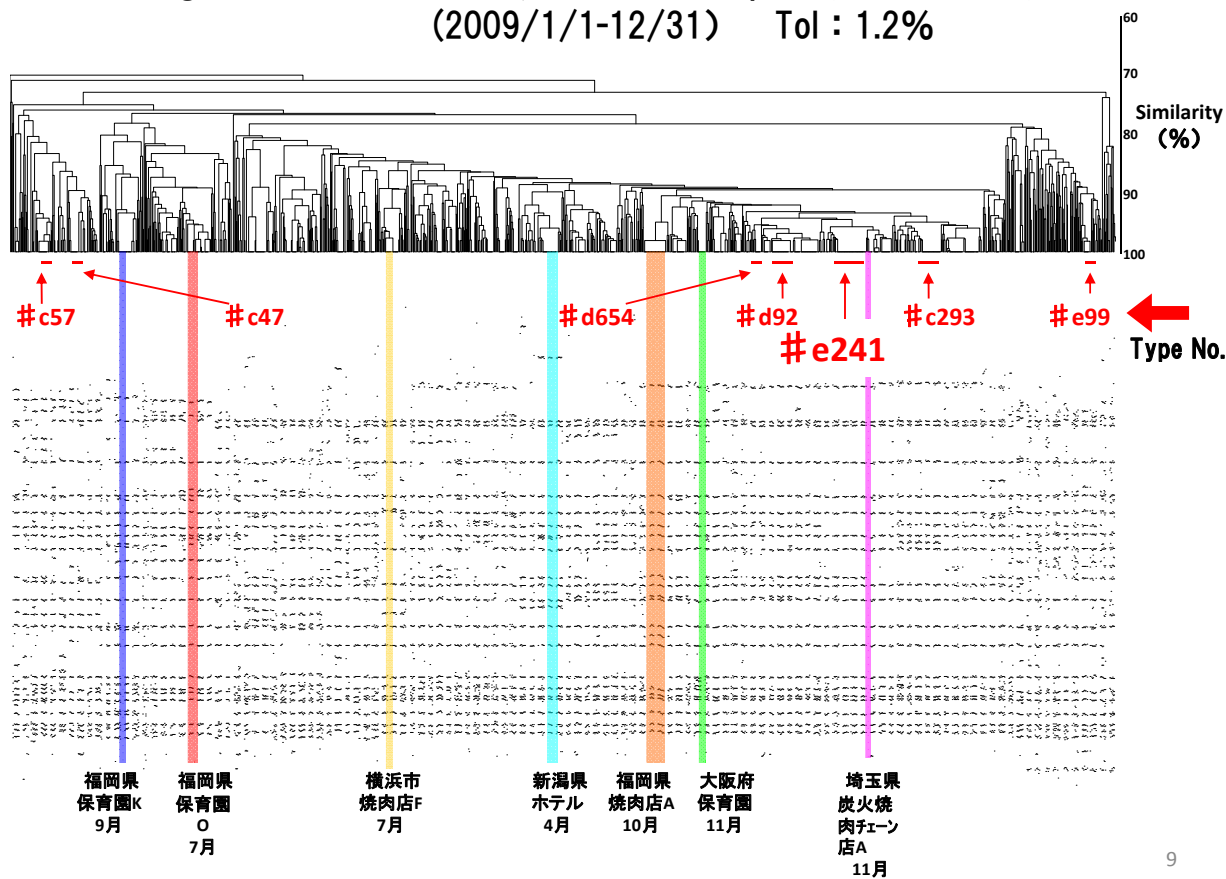
7

Pulsed-field gel electrophoresis : PFGE



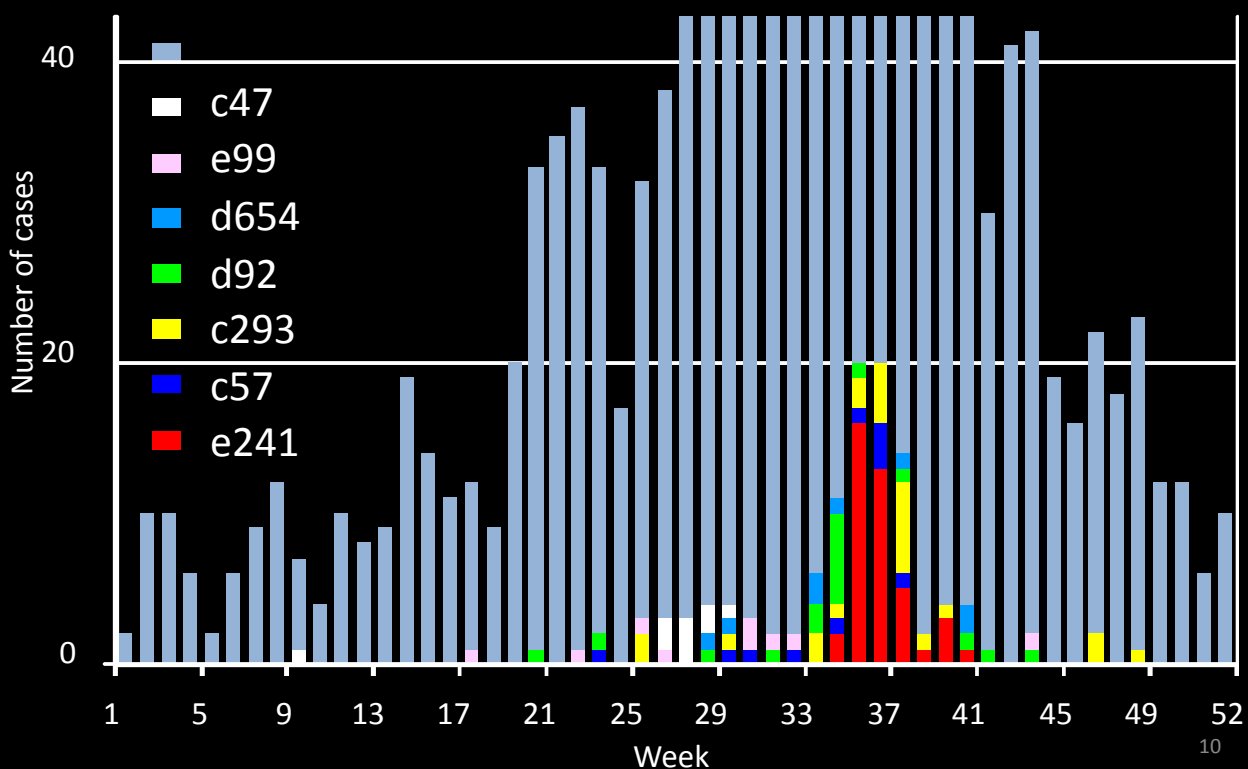
腸管出血性大腸菌O157のPFGE像

Dendrogram of EHEC O157:H/-isolates in Japan (1645 entries)
(2009/1/1-12/31) Tol : 1.2%



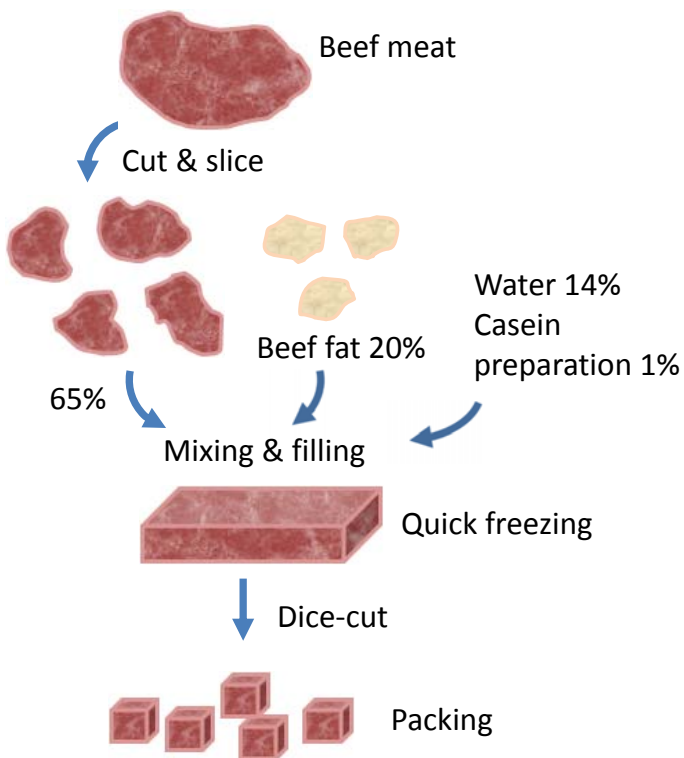
9

No. of various PFGE type isolates in 2009



10

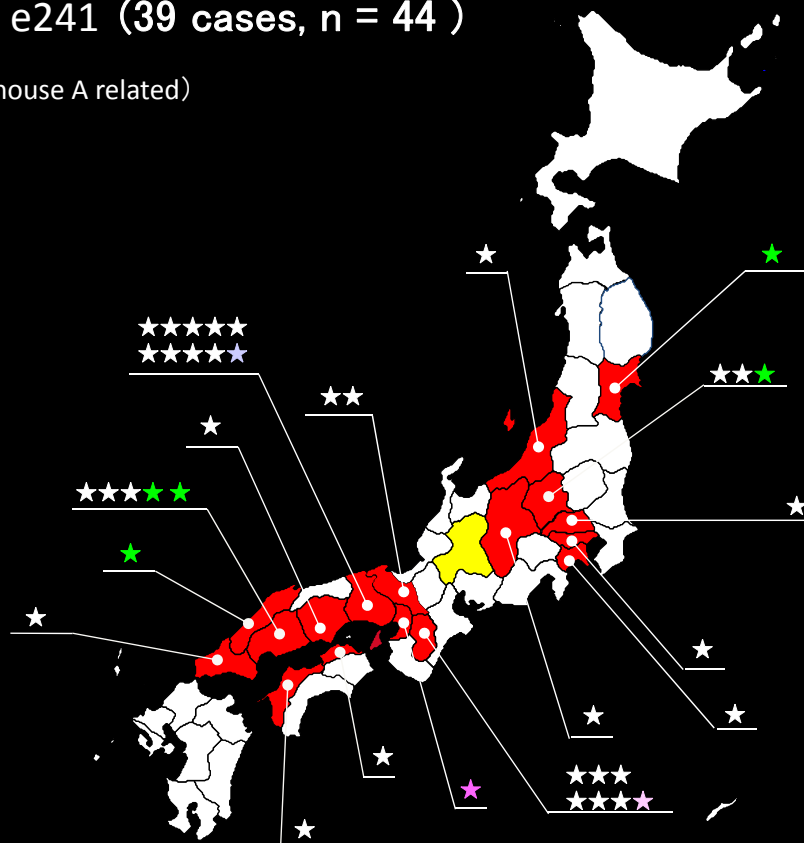
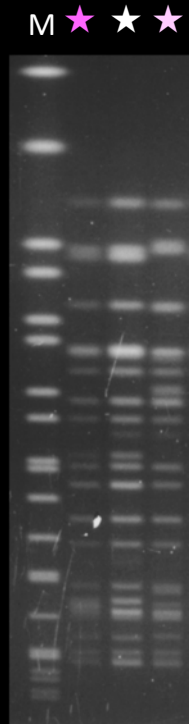
Processing of Cube cut steak



Cube cut steak of the steak restaurant chain A

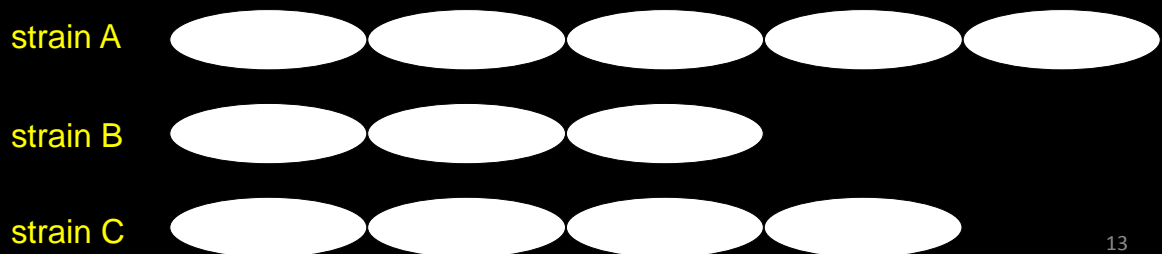
2009年 PFGEパターンの一致している事例の分布図(III) EHEC O157:H7, TN e241 (39 cases, n = 44)

★ Type No. e241 (Steakhouse A related)
Aug - Sep, 2009



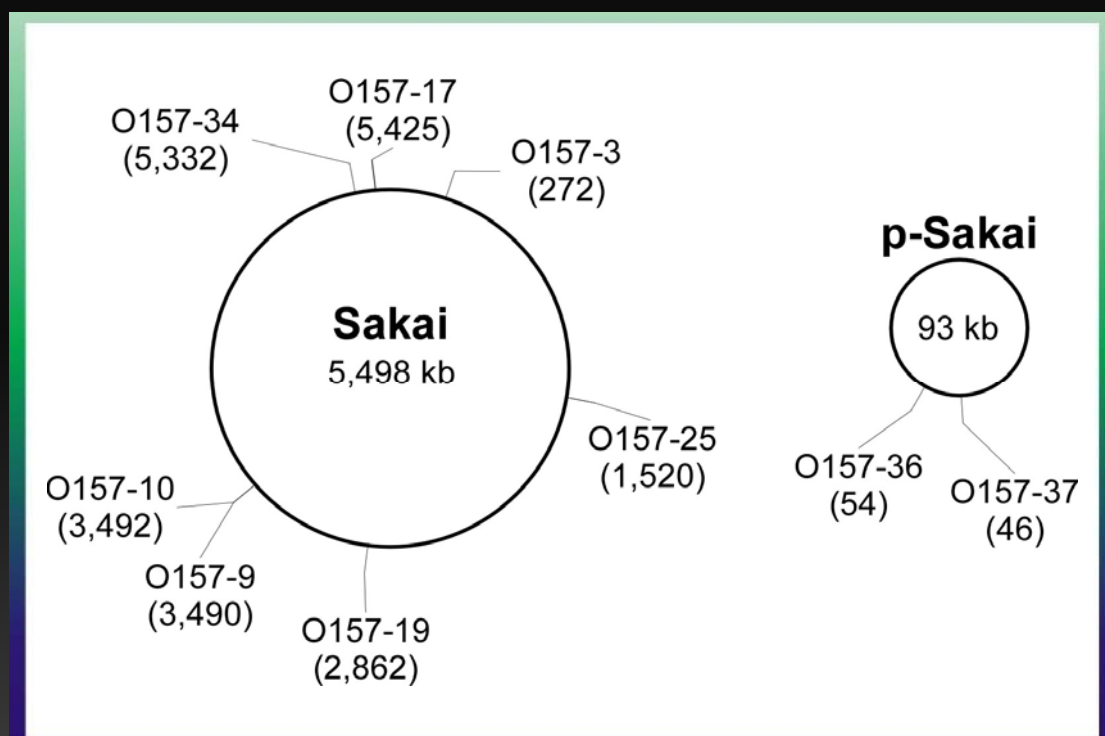
MLVA

- Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat (VNTR) Analysis
 - 細菌のゲノム上の遺伝子座(Locus)には数塩基から数十塩基の長さのリピート配列を含むものが存在する(Tandem Repeatという)。
 - こうした遺伝子座には、菌株の種類によって、そのリピート数が一定でないものが存在する(Variable Number Tandem Repeatという)。
 - これを利用して、菌株間のリピート数における多様性を明らかにすることによって、菌株の異同を調べることができる。
 - 以上のVNTRの解析を複数の遺伝子座に適用することで、菌株の違いを、より高い分解能を以って解析することが可能となる。



13

米国CDCによるO157 MLVAトライアルに使用されているプライマーセットのゲノム上の位置

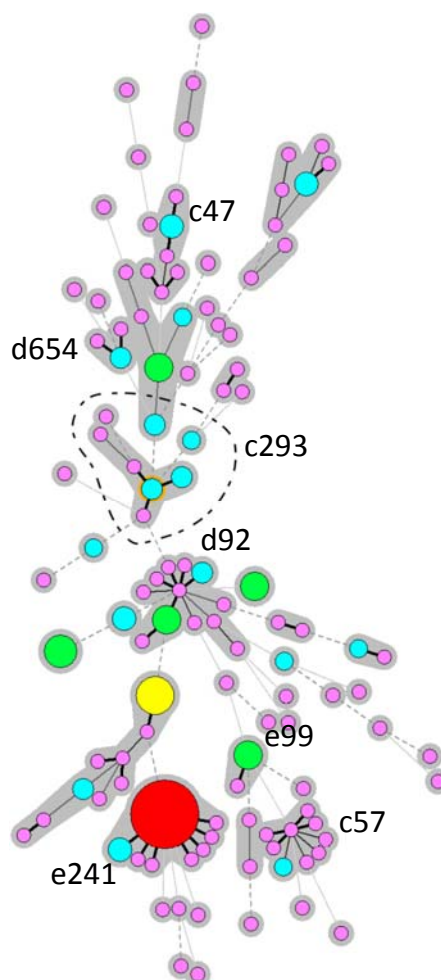


14

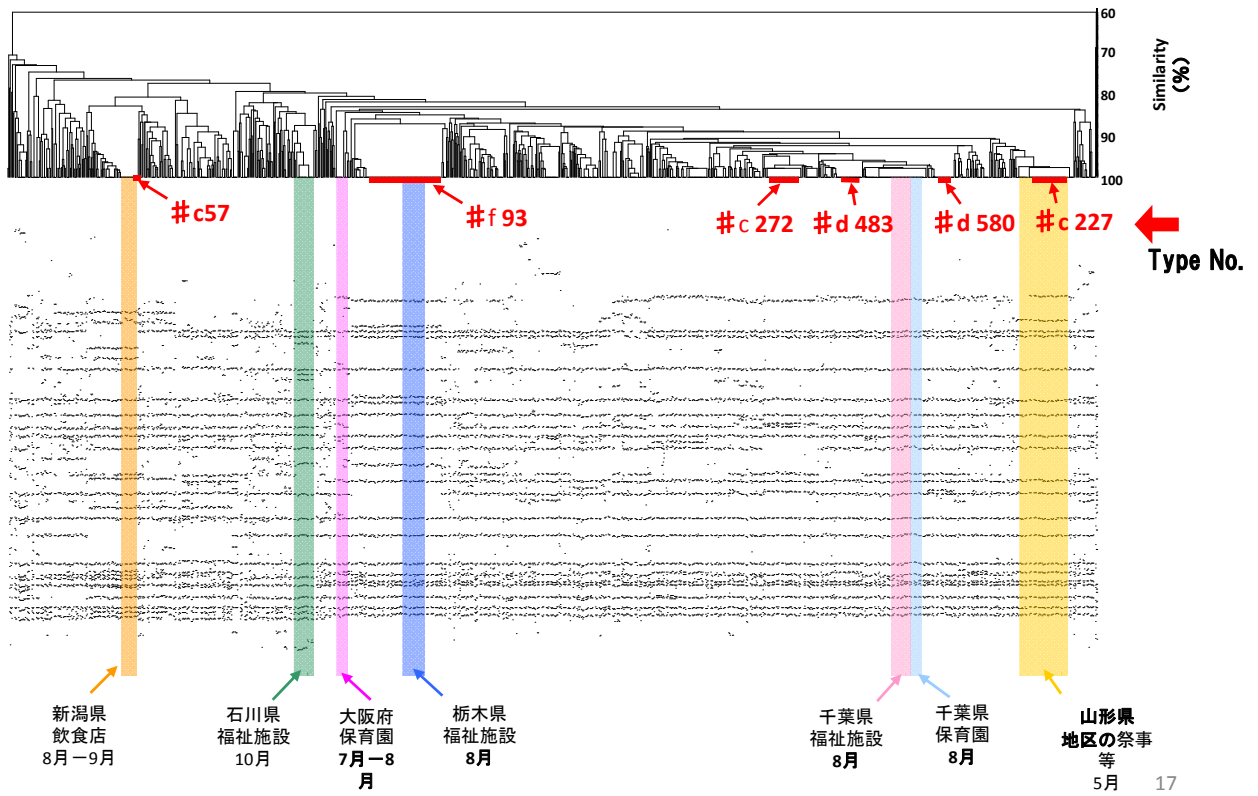
2009年分離のEHEC O157:H7, TN e241等(ステーキハウスA
 関連株)のMLVAによる解析 (n = 44)

| VNTR loci | | | | | | | | | Subtype | | | No. of isolate | | |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|---------|------|------|----------------|----|----|
| 25 | 3 | 34 | 9 | 17 | 19 | 36 | 37 | 10 | XbaI | BlnI | MLVA | | | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e241 | A | A | | 28 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e241 | B | A | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e239 | A | A | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e245 | A | A | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e240 | C | A | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e245 | C | A | | 1 | 33 |
| 2 | 12 | 9 | 18 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e241 | A | B | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 60 | e241 | A | E | SLV 1 | 1 | 2 |
| 2 | 12 | 9 | 15 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e241 | A | D | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 61 | e241 | A | F | SLV2 | 4 | 5 |
| 2 | 12 | 9 | 8 | 9 | 6 | 9 | 7 | 59 | e241 | A | C | | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 50 | e241 | A | G | SLV | 1 | |
| 2 | 12 | 9 | 17 | 9 | 6 | 9 | 7 | 45 | e241 | A | H | | 1 | 3 |
| 5 | 10 | 9 | 12 | 7 | 4 | 5 | 9 | 28 | e238 | D | I | Others | 1 | 1 |

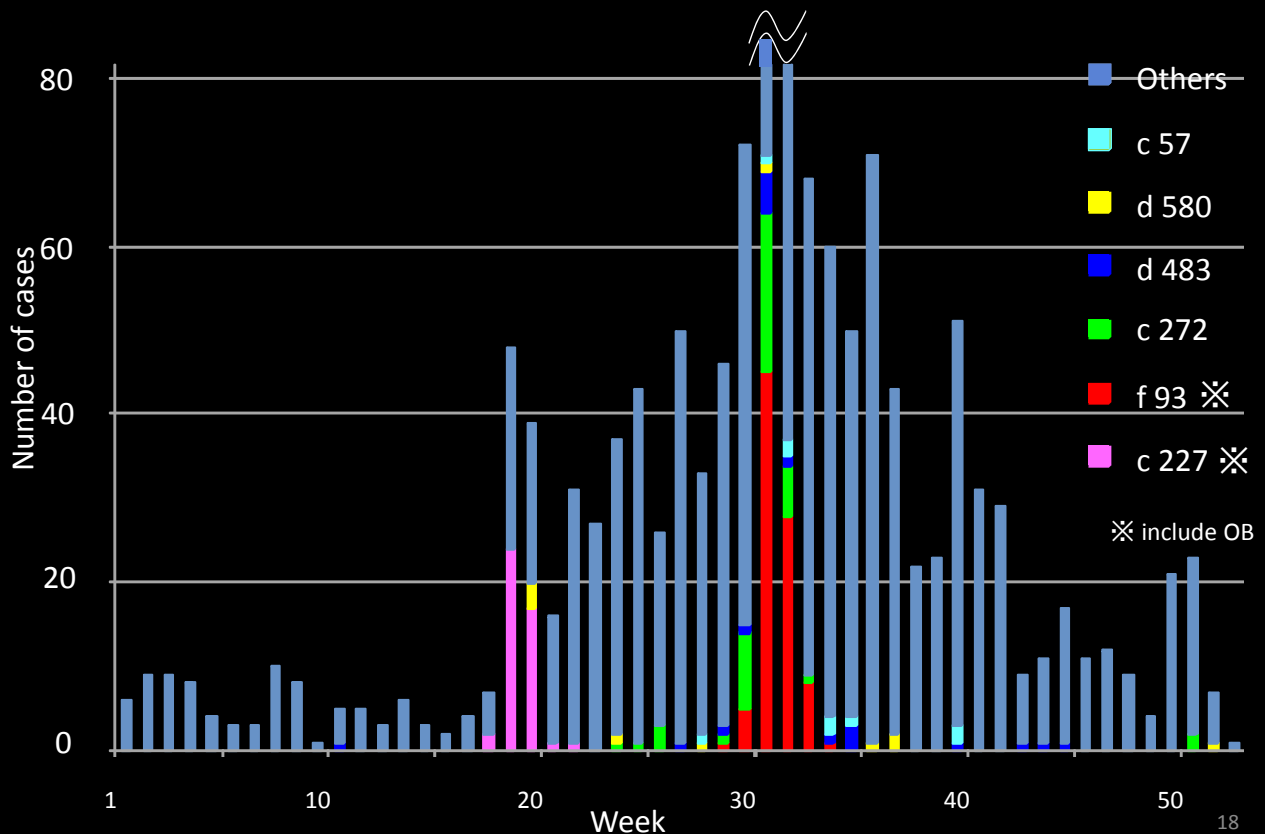
MLVAのデータに基づくEHEC
 O157 分離株の
 Minimum spanning tree,
 2009年 (n=220)



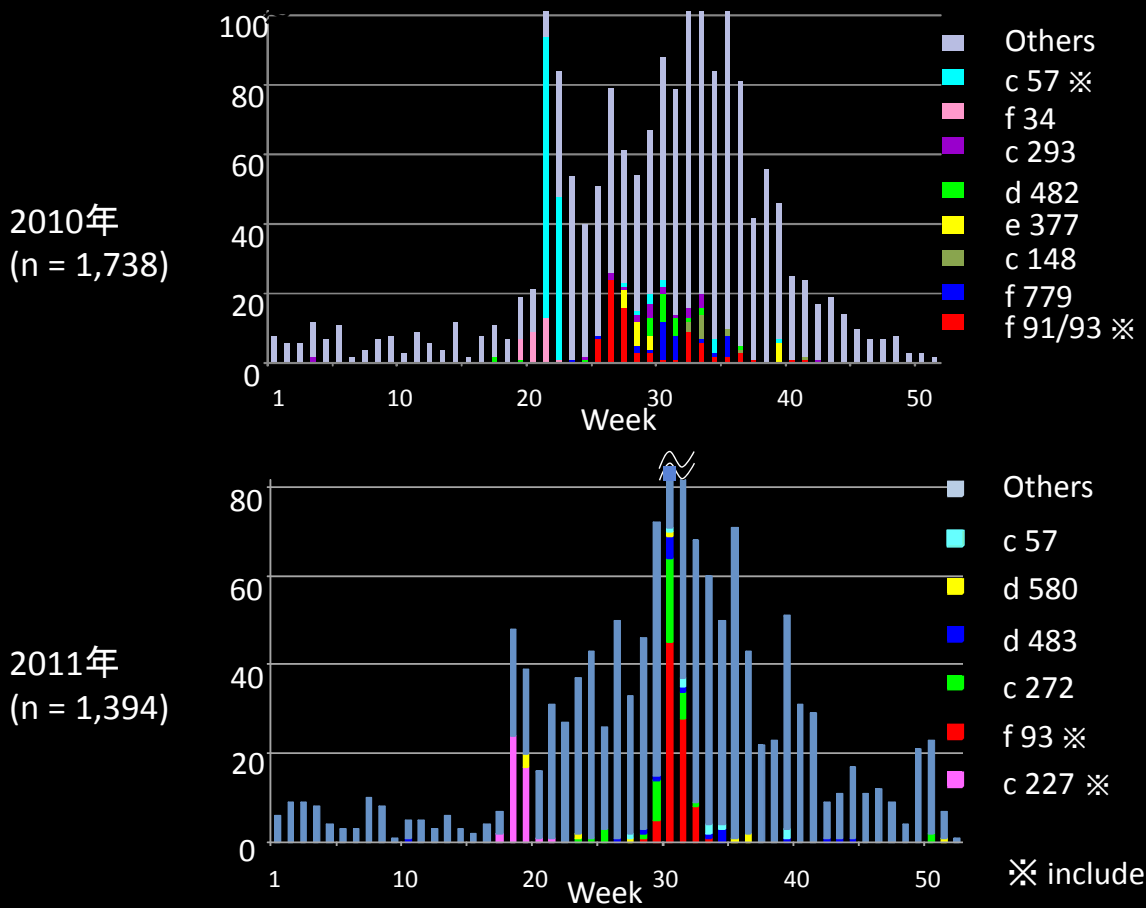
Dendrogram of EHEC O157:H/-isolates in Japan (1219 entries) (2011/1/2 - 12/6) Tol : 1.2%



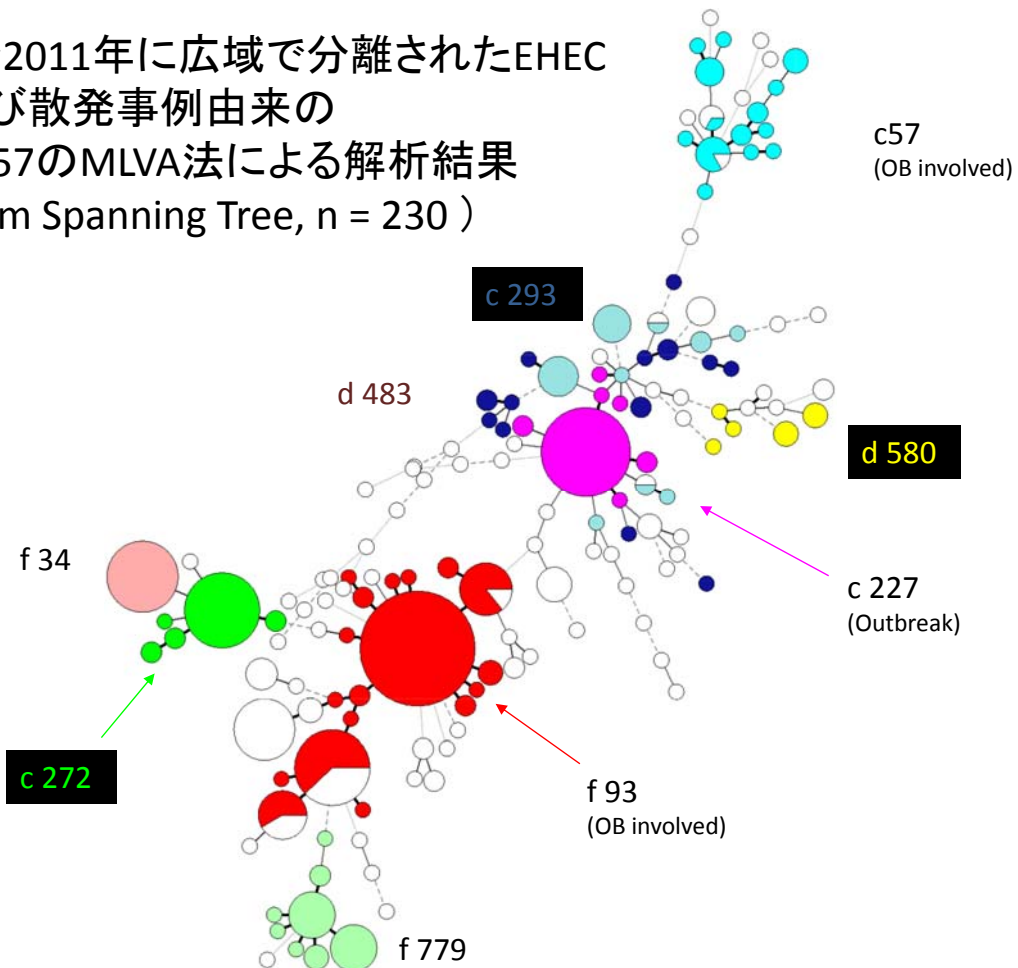
No. of various PFGE types of EHEC O157:H7/- isolates in 2011 (n = 1,394)



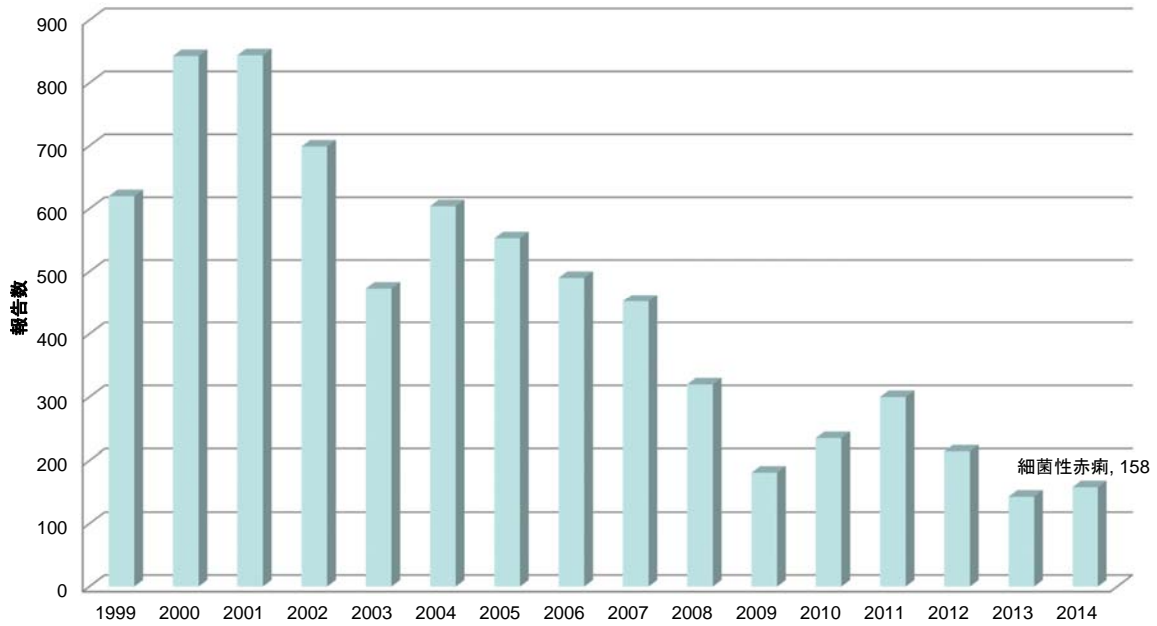
No. of various PFGE types of EHEC O157 isolates in 2010 and 2011



2010年と2011年に広域で分離されたEHEC O157 及び散発事例由来の EHEC O157のMLVA法による解析結果 (Minimum Spanning Tree, n = 230)

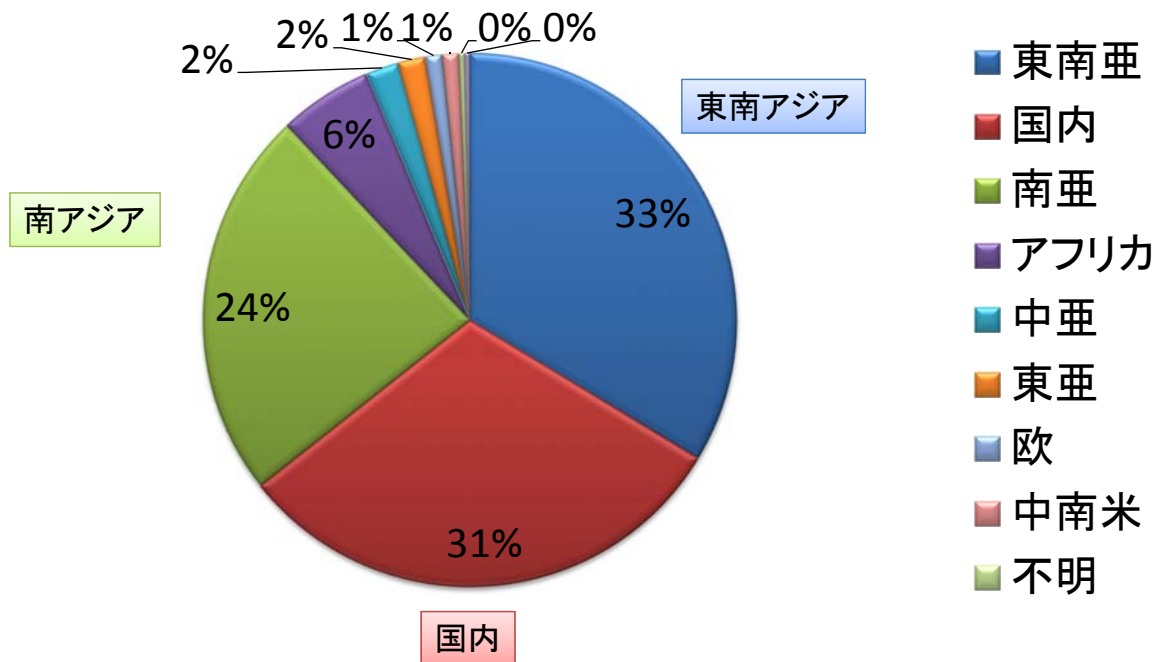


細菌性赤痢発生動向



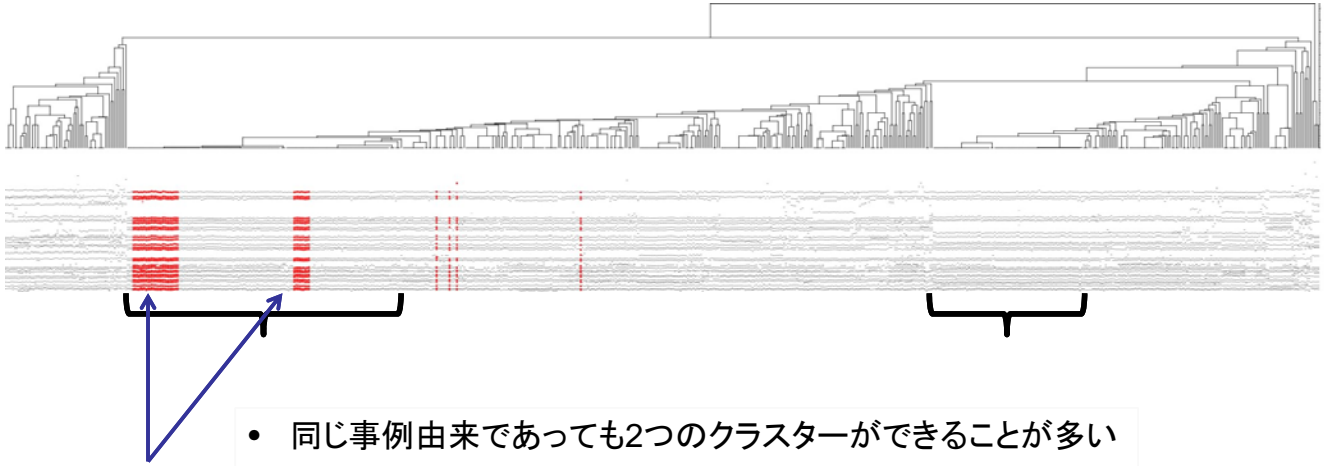
感染症発生動向調査 21

推定感染地域分布



感染症発生動向調査(2012-2014)

集団事例A関連株(2011年) 【PFGEデータベース上】

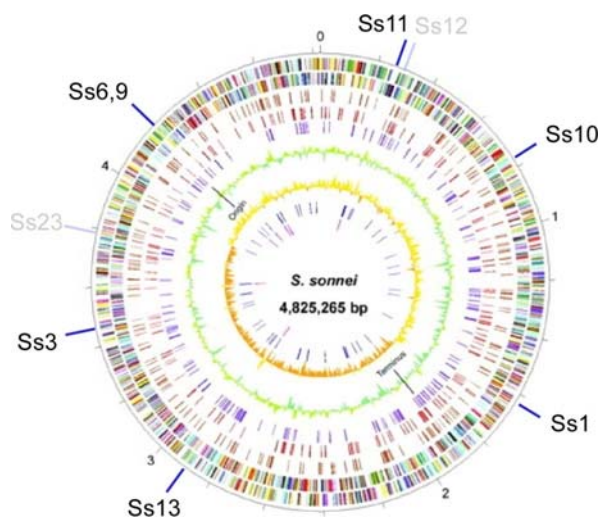


- 同じ事例由来であっても2つのクラスターができることが多い
- 類似のパターンが出やすい

23

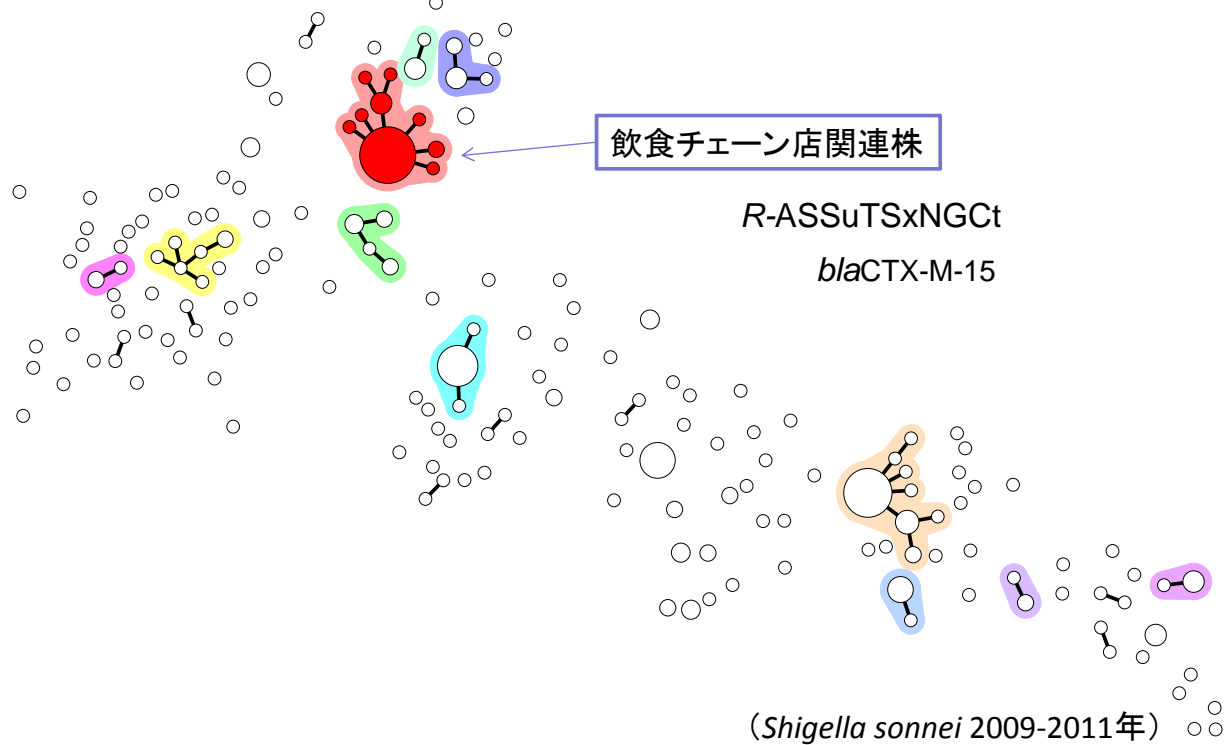
遺伝子座

| locus | Unit | Offset (bp) |
|-------|------|-------------|
| SS1 | 7 | 125 |
| SS3 | 7 | 114 |
| SS6 | 7 | 152 |
| SS9v | 6 | 75 |
| SS10v | 6 | 296 |
| SS11v | 6 | 434 |
| SS13v | 6 | 293 |



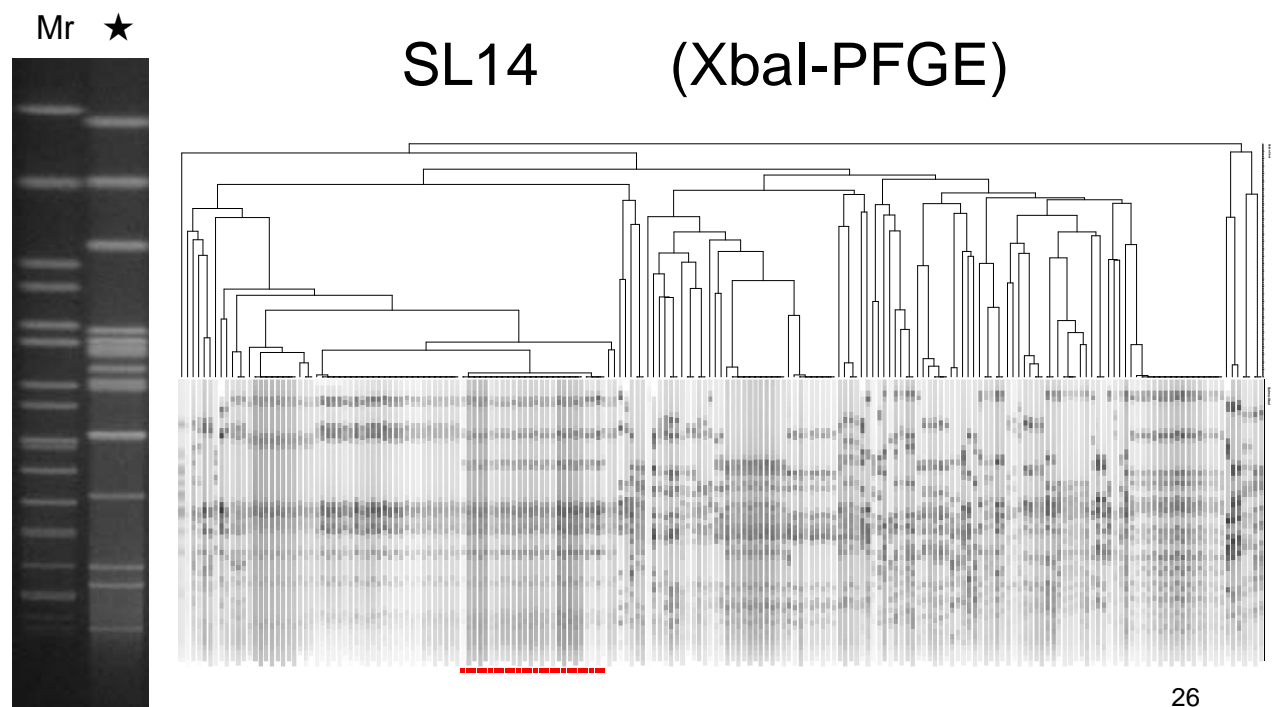
24

Minimum Spanning Tree (最小全域木)



25

Salmonella Enteritidis 食中毒事例関連株 (2014年6月)



26

- 千葉県
- 鹿児島県、市
- 東京都
- 横浜市
- 計26株
 - 鶏卵1
 - 液卵2を含む

27

関連する事例(菌株)の早期探知に向けた流れ

菌株の分子型別法の組み合わせによる
スクリーニングとデータベース化

情報のネットワーク化と共有

疫学情報の解析、収集とデータベース化

感染源の探知
拡大阻止

28

まとめ

- 菌株の解析には、複数の解析手法（例えば、PFGE, MLVA, MLST, ゲノム情報など）を組み合わせることが重要である。
- 共通の感染源が広域に流通して発生する食中毒を迅速に探知するためには、菌株の解析結果と疫学情報の迅速な共有化が重要である。