

札幌市における結核菌北京型株について

廣地 敬 坂本裕美子 大西麻実 伊藤はるみ 高橋広夫 三觜 雄

1. はじめに

札幌市の結核菌分子疫学解析は、結核予防対策の一環で集団発生時における同一感染源の特定など疫学調査及び接触者検診の充実を図ることを目的に1999年3月から「札幌市結核菌遺伝子分析事業」として当所と札幌市保健所および市内の医療機関2施設と共同で行われている。

供試菌株は、協力医療機関で対象者に検査説明をして同意書に署名の得られたものだけを保健所が回収し当所に搬入され検査を実施している。

スタート当初は結核菌由来の挿入配列 IS6110 をプローブとした制限酵素断片長多型 (Restriction fragment length polymorphism) RFLP 法¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾で解析を行っていたが2008年から菌量も少なく短時間に結果が得られデータベース化が容易な VNTR 法 (Variable Numbers of Tandem Repeats) に変更し現在に至っている。

VNTR 法は(財)結核予防会結核研究所が報告した JATA(12)-VNTR 分析法⁷⁾で解析した。

また、同一のパターンになった場合は、QUB18、QUB11a、ETR A、QUB3232、VNTR3820、VNTR4120 を追加して解析し結果報告している。

今回は最近の研究で結核菌の進化、適応、系統分布等の報告⁸⁾があり、その中でわが国で分離される結核菌全体の7~8割を占めるといわれる結核菌北京型株の耐性菌等が問題になっていることから札幌市の北京型株、非北京型株の状況を調査したので報告する。

2. 方法

2-1 北京型・非北京型株の識別

Warren⁹⁾らの方法で実施した。

primer は、set 1, TTCAACCATCGCCGCTCTAC and CACCCTCTACTCTGCGCTTTG;set 2, ACCGAGCTGATCAAACCC G and ATGGCACGGCCGACCTGAATGAACC;set 3, GATCGC TTGTTCTCAGTGCAG and CGAAGGAGTACCACGTGGAG;set 4, GGTGCGAGATTGAGGTTCCC and TCTACCTGCAGTCGCTT GTGC を用いた。

PCR は TaKaRa TP600、電気泳動は QIAxcel System Type S で High Resolution Gel Cartridge を用い OM1600 10s Method、Alignment Marker 15bp/3kb で実施した。

Primer set 1、set 2 共に陽性であった株を北京型株、Primer set 3、set 4 共に陽性であった株を非北京型株とした。

2-2 供試菌株

市内の協力医療機関2施設で検査協力で同意がえられた患者から分離された2008年から2011年までの197株を用いた。

事例については保健所の疫学調査結果とすり合わせ検討した1999年から2009年までの19例46株を用いた。

再発例は2001年から2003年までの2例4株を用いた。

多剤耐性菌は、当所が保有し三種病原体として届出している1999年から2002年までの5株を用いた。

3. 結果

2008年から2011年までの197株のうち北京型株は141株で残りの56株は非北京型株で、北京型株の割合は71.6%であった。

同一感染事例は19例46株中1、3、6、8、9、11、

12、13、16、17、19 の 11 例 27 株が北京型株で約 58%であった(表 1)。

再発例は 2001 年から 2003 年までの 2 例で 1 例が北京型株、1 例が非北京型株であった(表 2)。

多剤耐性菌は 1999 年から 2002 年までの 5 株全てが北京型株であった(表 3)。

4. 考 察

札幌市の北京型株の割合は、71.6%で千葉県、大阪市、神戸市等の都市部の報告より低く岡山県、沖縄県とほぼ同じ割合であり、結核罹患率の低い地域は北京型株の割合も若干低いことが伺える結果であった。

同一感染事例は、19 例中 11 例が北京型株によるものが約 58%であり全菌株の割合 71.6%より低い優勢な結果であった。

再発例では、2 例と少なかったため北京型株が多い結果とはならなかった。

また、多剤耐性菌 5 株は全て北京型株で他の報告のように耐性菌で北京型株の割合が高いことが裏付けられた結果であった。

文献

- 1) 高橋光良：呼吸器疾患・結核 17, 43-57 1996
- 2) Herman PWM, Van Soolingen D, Dale JW et al: Insertion element IS986 from Mycobacterium tuberculosis: a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis, J Clin Microbiol, 28, 2051-2058, 1990
- 3) 川合常明他：結核菌の制限酵素多型分類；第一報：札幌市衛研年報 27, 52-56, 2000
- 4) 川合常明他：結核菌の制限酵素多型分類；第二報：札幌市衛研年報 28, 53-57, 2001
- 5) 川合常明他：結核菌の制限酵素多型分類；第三報：札幌市衛研年報 30, 47-52, 2003
- 6) 川合常明他：結核菌の制限酵素多型分類；第四報：札幌市衛研年報 31, 73-78, 2004
- 7) 前田伸司他：Kekkaku 83(10), 673-678, 2008
- 8) 岩本朋忠：Kekkaku 84(12), 755-759, 2009
- 9) Warren, R. M., . . ., American Journal Respiratory Critical Care Medicine 169, 610-614, 2004

表 1.過去の事例

事例	検体No	J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	1982	2163a	2165	3820	4120	3822	年	備考
1	75	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	11	8	4	11	10	10	1999	病院関連
	a131	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	11	8	4	12	10	10	1999	
	a130	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	11	8	4	12	10	10	1999	
2	24	2	3	1	3	3	2	4	4	3	12	5	3	6	2	3	5	2	5	1999	家族 祖母孫
	69	2	3	1	3	3	2	4	4	3	12	5	3	6	2	3	5	2	5	1999	
3	41	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	14	13	12	1999	家族 親子
	146	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	14	13	12	2001	
4	85	2	3	1	3	4	2	4	4	3	12	3	3	6	2	3	5	2	5	2000	夫婦
	86	2	3	1	3	4	2	4	4	3	12	3	3	6	2	3	5	2	5	2000	
5	94	2	3	1	3	4	2	5	4	4	10	4	3	6	2	3	5	2	5	2000	家族
	104	2	3	1	3	4	2	5	4	5	10	4	3	6	2	3	5	2	5	2000	
6	127	4	3	3	3	2	3	6	4	3	7	7	4	9	8	4	16	12	13	2000	義兄弟
	145	4	3	3	3	2	3	6	4	3	7	7	4	9	8	4	13	7	13	2001	
7	137	2	3	2	3	2	4	5	2	2	9	9	3	3	4	2	6	3	5	2001	学校
	221	2	3	2	3	2	4	5	2	2	9	9	3	3	4	2	6	3	5	2002	
8	139	4	1	3	2	6	4	7	4	5	8	8	5	11	9	4	11	13	15	2001	知人
	228	4	1	3	2	6	4	7	4	5	8	8	5	11	9	4	11	13	15	2002	
9	210	4	1	3	2	6	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	13	11	15	2001	家族親子
	253	4	1	3	2	6	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	13	11	15	2002	
10	256	2	5	2	1	2	3	1	2	3	8	8	5	8	7	3	8	4	5	2002	病院関連
	266	2	5	2	1	2	3	1	2	3	8	8	5	8	7	3	8	4	5	2002	
11	264	4	1	2	2	6	4	7	4	5	7	8	5	11	7	4	13	10	17	2002	夫婦
	271	4	1	2	2	6	4	7	4	5	7	8	5	11	7	4	15	8	17	2002	
12	334	1	3	3	3	7	3	7	4	5	7	8	5	11	8	4	15	5	19	2003	家族
	424	1	3	3	3	7	3	7	4	5	7	8	5	11	8	4	14	5	12	2005	
13	420	4	3	3	3	3	3	8	4	2	4	8	4	7	8	4	15	12	12	2005	夫婦
	423	4	3	3	3	3	3	8	4	2	4	8	4	7	7	4	15	12	14	2005	
14	425	2	3	2	3	2	4	5	2	2	9	9	3	3	4	2	6	3	5	2005	病院関連
	441	2	3	2	3	2	4	5	2	2	9	9	3	3	4	2	6	3	5	2006	
	449	2	3	2	3	2	5	5	2	2	9	9	3	3	4	2	6	3	5	2006	
	501	2	3	2	3	2	4	5	2	2	9	9	3	3	4	2	6	3	5	2008	
15	443	4	6	3	2	12	3	7	4	4	10	8	2	6	9	5	11	3	10	2006	家族
	444	4	6	3	2	12	3	7	4	4	10	8	2	6	9	5	11	3	10	2006	
16	445	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	19	4	14	11	22	2006	施設内感染
	447	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	19	4	14	11	22	2006	
17	451	4	3	4	3	5	3	5	4	5	7	8	3	9	19	4	11	9	14	2006	病院関連
	452	4	3	4	3	5	3	5	4	5	7	8	3	9	19	4	11	9	14	2006	
	464	4	3	4	3	5	3	5	4	5	7	8	3	9	19	4	11	9	14	2007	
18	488	2	3	1	3	4	2	5	4	3	9	5	3	6	2	3	5	2	5	2008	病院関連
	489	2	3	1	3	3	2	5	4	3	9	5	3	6	2	3	5	2	5	2008	
	490	2	3	1	3	3	2	5	4	3	9	5	3	6	2	3	5	2	5	2008	
19	491	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	13	12	15	2009	病院関連
	498	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	13	12	14	2009	
	512	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	14	15	16	2009	
	542	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	14	14	16	2009	
	582	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	11	9	4	15	15	15	2010	

表 2.再発例

検体	J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	1982	2163a	2165	3820	4120	3232	年
199	2	2	2	4	3	2	5	4	3	7	8	3	6	19	3	5	3	14	2001
298	2	2	2	4	3	2	5	4	3	7	8	3	6	18	3	5	3	14	2003

検体	J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	1982	2163a	2165	3820	4120	3232	年
241	4	1	3	2	6	4	7	4	5	8	8	5	11	9	4	11	13	16	2002
332	4	1	3	2	6	4	7	4	5	8	8	5	11	9	4	11	13	16	2003

表 3.多剤耐性菌

番号	検体	J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	1982	2163a	2165	3820	4120	3232	年
1	19	4	1	3	2	7	4	7	4	4	7	8	4	14	8	3	19	3	31	1999
2	72	4	3	4	3	6	3	6	4	4	7	10	3	10	7	3	19	11	24	2000
3	100	4	1	3	2	7	6	7	4	4	7	8	7	1	8	3	19	16	22	2000
4	110	4	3	2	3	3	3	6	4	4	6	8	3	16	5	3	7	20	34	2000
5	251	2	3	3	2	5	3	5	2	4	7	8	4	21	30	3	8	7	6	2002