

群馬県における O-genotyping PCR 法の検討

◎小川 麻由美¹⁾、高橋 裕子¹⁾、堀越 絢乃¹⁾、島田 諒¹⁾
群馬県衛生環境研究所¹⁾

【はじめに】

群馬県の腸管出血性大腸菌 (EHEC) の型別において、市販抗血清を用いた方法で行っている。しかし、O 型別不能 (OUT) となる EHEC 感染症の発生件数が、2021 年、2022 年はそれぞれ 19 件、2023 年には 11 月までに 31 件と増加傾向にある。このような分離株は、当所では型別不能 (抗血清凝集試験では O 血清群 UT (OUT)) として判定されていた。

型別不能となっている O 血清型に対応するために O-genotyping PCR 法が開発され、遺伝子群の特徴により分類することが可能となってきた。今回、その検査法の有用性および効率化について検討したので報告する。

【方法】

O-genotyping PCR プライマーセットは、宮崎大学より購入した。DNA 抽出は、プライマーセットの推奨している方法に従った。PCR には、Emerald Amp PCR Master Mix (TakaraBio) を用いて行った。また、反応性の確認では、プライマーセットの陽性コントロール (PC) をそれぞれ単独

で行う標準プロトコールに加えて、PC をプレミックスしたものを作成し比較検討を行った。分離株は、2023 年に群馬県で分離された EHEC を使用した。

【結果】

分離株を用いた検討において、O-genotyping 型は、国立感染症研究所の還元情報と照合した結果、同じであることが確認できた。また、PC を数種類混ぜても、それぞれ他のバンドに影響を及ぼさず、良好な結果を得ることができた。

【考察】

O-genotyping PCR 法は型別不能となる場合、有用な検査法であることが分かった。さらに、標準プロトコールで示されている O-genotyping PCR 法と比べて、PC をプレミックスすることで、検査にかかる手間とコストを削減することができ検査の効率化が可能であることが分かった。今後は、さらに流行状況に合わせたプライマーの組み合わせについても同様の検討を重ね、実用的な検査法に改良をしていく予定である。