POT news vol.2

vol.2 トピックス

▼ POT法に関する学術情報 - 1 ▼ 新製品情報 - 1

▼ 特別企画インタビュー 関西POTキット研究会 10回目を迎えて - 2,3

POT研究紹介 - 4

✓ POT法に関する学術情報

名古屋大学・藤田医科大学のグループにより、Klebsiella pneumoniaeをターゲットとしたPOT法が開発されました。

J Appl Microbiol. PCR-based ORF typing of Klebsiella pneumoniae for rapid identification of global clones and transmission events. 2022 Sep;133(3):2050-2062.



https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35797348/

▼ 新製品情報

2023年11月1日に、「シカジーニアス®病原遺伝子検出PCRキット(下痢原性大腸菌用)2」を発売します。

下痢原性大腸菌 (Diarrheagenic E. coli) は、ヒトに腹痛・下痢症を引き起こす大腸菌の総称であり、性質や症状の違いによ り5種類および他の下痢原性大腸菌に分類されます。¹) また、近年、大腸菌と近縁の下痢症起因菌であるEscherichia albertii (E. albertii)を原因とする食中毒や集団感染事例がたびたび発生しております。

本製品は、マルチプレックスPCR 法により、下痢原性大腸菌のうち主な5 種類であるEHEC/VTEC (腸管出血性/ベロ毒素産 生性大腸菌)、EPEC(腸管病原性大腸菌)、ETEC(腸管毒素原性大腸菌)、EIEC(腸管侵入性大腸菌)、EAggEC (腸管凝集付着性 大腸菌) およびE. albertiiの病原性に関わる遺伝子を同時に検出できます。

1) 国立感染症研究所, IASR 33(1), 2012, 下痢原性大腸菌の分類の見直しについて



※ 本記載価格に消費税等は含まれておりません。

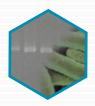
関東化学(株) 製品HP

https://products.kanto.co.jp/web/index.cgi?c=t product table&pk=164



PICK UP! POTキット製品紹介

大腸菌用



【特長】 ●大腸菌の菌種の識別、一部ST型(特にST131)の推定、ESBL遺伝子(CTX-M-1,2,9) の保有状況の確認が行えるPCRキット。

●識別能: PFGEと同等(ST131グループにおいて)

【製品詳細】

製品名	包 装	保 存	希望価格(円)	製品番号
シカジーニアス [®] 分子疫学解析POTキット (大腸菌用)	30回分	冷凍(-25 ℃~-20 ℃)	44,000	08362-97
シカジーニアス [®] DNA抽出試薬	120回分	冷蔵(2℃~8℃)	24,000	08178-96

🔐 関東化学株式会社

✓ 特別企画インタビュー関西POTキット研究会 10回目を迎えて

2014年度に第1回を開催した関西POTキット研究会ですが、記念すべき第10回を迎えることが出来ました。初回から継続して世話人をお願いしております京都橘大学 健康科学部 臨床検査学科 准教授の中村 竜也 先生に「関西POTキット研究会第10回を迎えて」のテーマでインタビューを行わせていただきました。



関西 P O T 研究会世話人 京都橘大学 健康科学部 臨床検査学科 中村 竜也 先生

-2014年度2月に開催した第1回から9年をかけて第10回を迎えることが出来ました。当時から節目となる第10回を迎えるにあたり、概評をいただけますでしょうか。

私は現場に必要な自分が得た技術とか知ったことは、皆にも共有したい。現場で誰かが有効活用し始めなくては、良い技術であっても絶対に広がらない。その役割は自分にもあるのかなと思って本研究会に携わってきました。新しい技術を広げていこう、発展させようと思うと、やはり研究会を設けることは大事だと思っています。しかし立ち上げたけれども、現場に役立つ情報を十分に共有できず尻すぼみになっていく会もありました。そのため最初は10回とは言わず、5回は続けていきたいという気持ちはありました。その後、鈴木先生が様々な菌種のPOT法を開発されたこともあり、徐々にPOT法が認知され始め、第5回の時にはもう第10回まで続いていくであろうと予感はありました。情報を発信していくことで間接的に世の中の患者さんのためになる可能性がある、そういう想いで携わらせていただき、10回目を迎えられて本当によかったなと思っています。

- 中村先生がPOT法を知ったきっかけはどのようなものだったのでしょうか。

私が関西医科大学病院にいたころ、分子疫学解析はPFGE法※1が主流でした。当時はなかなか機器を導入できなかったので、サーマルサイクラーを用いてPCRベースで何とか分子疫学解析をできないかということを考えていました。そこで最初は疫学調査にRAPD法※2を検討していたのですが、経時的に何かをモニタリングすることが難しくて継続できなかった。他に何か無いかと論文を探していた時に鈴木先生のPOT法の論文を見つけました。この電気泳動バンドを数値化して記録できるというのは面白いなと思ったんですよ。その後、鈴木先生には何度も実験条件やプライマーの選定などのご指導をいただいて、in houseで運用できるようになりました。そういった経緯がPOT法との出会いであり、PCRベースで分子疫学解析を行うきっかけでした。

- ※1 パルスフィールドゲル電気泳動法。菌株の全ゲノム DNA を制限酵素で切断し、その電気泳動パンドパターンを利用して、遺伝子型を決める分子疫学 解析法
- ※2 Random Amplified Polymorphic DNA法。識別の対象とする遺伝子をランダムプライマーの存在下でPCR法よって増幅し、その電気泳動パターンによって遺伝子の塩基配列の相違を検出する方法。

POTキット発売・各地域POT研究会の歴史



- 第10回までPOT研究会に携わって頂いた中で、特に印象深かった出来事などはありますでしょうか。

POT法の解析結果をもっと多くの現場で活用いただくことができないかと思い、POT研究会の初期の頃に、中家先生(大阪公立大学附属病院 中家清隆先生)とPOT法の結果を皆で共有できるような仕組みを作れないか議論したことがありました。実際に、様々な施設が参加してくれて地域POTサーベイランス※3を実施できたことは、自分の中では一つ大きな出来事かなと思います。例えばMLSTと同じようにPOTの遺伝子型は疫学データとして、日本だけでなく世界でも使われるようになれば、疫学情報の共有は環境感染防止だけでなく、様々な用途にも使えるようになるかもしれません。

※3 POT news Vol.1のPOT研究紹介をご参照ください。 https://www.kanto.co.jp/dcms_media/other/POT_News1.pdf

- 過去のPOT研究会において様々な演題がありましたが、特に面白いと感じた演題はありますでしょうか。

特定の演題と言うよりは、第2~3回の研究会では私のアイデアを基に発展させてくれた発表も出てきた時期でしたし、新しい菌種用のPOT法も出てきていましたので面白かったですね。もう一つは、やはり鈴木先生の講演ですね。毎回一般演題へのコメントや、特別講演をされる中で色々なディスカッションをして課題を見つけて、次に繋がったりもしました。例としては、プラスミドのタイピングができないかという話が出て、自分的には興味深い課題でした。菌のタイピングはもちろん大事だけど、伝播していく部分が耐性菌にはあるので、菌同士で何かあることが分かるキットを開発して欲しいなと。そのディスカッションをしたときの鈴木先生の感触があまりよくなかったのは印象に残ってます。キット化は難しいのだなと思いました。菌のタイピングはある程度ニーズがあれば作っていけると思うので、プラスミドのタイピングも踏み込んでやっていただけると嬉しいなとは思いますね。

- 今後の遺伝子検出キットに期待することはありますでしょうか。

疫学だけでなく治療に役立てるためのキットが出てきたらもっと使えるのかなと思います。βラクタマーゼ以外にも菌が持っている耐性因子はたくさんありますし、キノロンやST合剤への耐性因子も確認できるキットとか。やはりキット化されていると楽ですからね。in houseで用意するのが難しいコントロールが入っているものが一番いいです。ESBLがわかり、なおかつ何の薬剤が耐性かわかるような。そういう抗菌薬選択のためのPCRキットがあっても良いかなと思います。疫学解析以外にキットを使用する付加価値をそういう面でプラスしてほしいです。

- 最後に、POT研究会に関わってくれる方にメッセージをお願いいたします。

試薬や機器をより良く活用するためには、自分たちが使い、経験して善し悪しを理解することが重要だと思うんですよね。この会が継続する意義も、参加者がキットを使った善し悪しをしっかり報告し合い、皆で共有していくことだと思います。そういうスタンスでみんなが患者さんや検査に向き合っていってほしいです。他の試薬にも共通することですが、自分たちが使っているものへの責任をもち、情報を発信していくことが結果として世の中の患者さんの利益につながるものと思います。皆がそういう気持ちであれば、11回、12回と言わずに15回、20回と良いものが出来上がってきて、会が継続していくと思います。まだまだみんなたくさん自身の経験を持っていると思うので、その経験を、良いことをやっているということをしっかりと世にわかってもらうために、この研究会が発表・議論の場となればと思います。

-メーカーとしても引き続き現場の先生方の率直な意見を頂戴したいと考えております。中村先生、本日はありがとう ございました。



POT研究紹介 ②

POT法を用いた京滋地域MRSAクローンの動向調査

- 滋賀医科大学医学部附属病院 検査部 主任臨床検査技師 木下 愛 先生

当院では2014年からPOT法を導入し、当初は院内新規発生株のみ解析していましたが、現在は持ち込み株・外来由来株にも 解析対象を拡大し、現在約1700件のデータベースを保有しています。自施設のデータを経年的に分析するなかで、新規株にお いてST1型あるいは8型でSCCmec IVを保有することで定義される市中型(CA-MRSA)の割合が年々増加している事に気づき ました。

そこで、地域における頻出POT型・クローン動向の把握を目的とし、京滋薬剤耐性菌サーベイランス研究会にて「POT法を 用いたMRSAクローン調査」を開始しました。2014年から2019年までに収集した各施設のPOT型を分析し、頻出POT型の全ゲ ノム解析を行ったところ、地域における頻出POT型は大多数がCA-MRSAであり(表)、院内発生株の多くを占めていることが明 らかになりました(J Infect Chemother. 2023 May; 29(5): 458-463.)。2022年には院内・持ち込み株におけるCA-MRSAの 割合は88%台まで増加しました(図)。このようにCA-MRSAが院内外で拡大すると、新規株がPOT型でCA-MRSAと推定され た場合であっても、感染経路の判断が難しくなる可能性があると考えられます。今後もさらにサーベイランスデータを集積し て、地域での流行クローンの動向調査を行い、より有用な感染対策の立案に寄与することができればと考えています。

頻出POT型の特徴

POT型	SCC mec	ST	Spa type	
106-137-80	IVh	8	t5071	
106-183-37	IVa	1	t693	市中型 (CA-MRSA)
106-9-80	IV	8	t008	_ (3.11.11.07.1)
93-191-103	II a	764	t002	院内型 (HA-MRSA)

表 頻出 POT 型の特徴

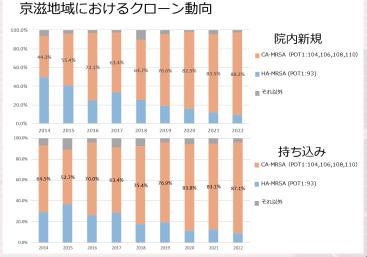


図 京滋地域におけるクローン動向



コラム POT法実施テクニック①

PCR産物を流し染色したアガロースゲルを撮影する際には、トランスイルミネーターの上にラップを敷くとゲルの処理が簡 単です。その際には70%エタノール溶液をトランスイルミネーターに塗布し、ラップを密着させるように配置するとしわが よりにくくなるため、綺麗な写真が撮影ができます。

※お使いのトランスイルミネーターの種類によってはエタノールへの耐性がない場合がございますので、ご確認の上お試しください。



© 関東化学株式会社

試薬事業本部 試薬部

〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

TEL: 03-6214-1090

HP: https://www.kanto.co.jp

Vol.2 20231028 EA231004