

岡山地区で分離された結核菌における Beijing family および他の遺伝子型

¹大島 律子 ²多田 敦彦

要旨：〔目的〕岡山地区で分離された結核菌を遺伝子型別し、Beijing family等の検出状況を調べ、流行株との関連性の検討や世界の分布状況との比較を行う。〔対象と方法〕2000年1月から2002年12月までに岡山県内で分離された結核菌を用いた。人口集団に基づく調査として、岡山市内の患者由来142株を対象に、IS6110をプローブとした Restriction fragment length polymorphism (IS6110-RFLP) 分析および Spoligotyping を実施した。さらに、岡山市以外の患者由来で IS6110 コピー数 1～5 の13株についても、Spoligotyping を行った。〔結果〕142株中103株 (72.5%) が Beijing family に属し、流行株4グループ中3つが含まれた。Beijing family 以外の39株中21株は、世界規模のデータベースによる259の shared types (STs) の10種類に分類された。その他、岡山市内外の IS6110 コピー数 1～5 の26株中15株で、固有の共通パターン“Unique”が認められた。Beijing family, Unique およびその他の遺伝子型の大部分で、分離された患者の過半数が60歳以上であった。〔結論〕Beijing family は感染源の主流であり、10STs と同様伝播が古いと考えられた。また、Unique は古くからのわが国固有株である可能性が推測された。

キーワード：結核菌, Beijing family, 流行株, IS6110-RFLP, Spoligotyping

はじめに

近年、結核の伝播の研究に分子疫学的手法が多く用いられるようになった。それらの中で、菌株の識別能力が高く世界的に標準化され、最も広く用いられているのが、結核菌遺伝子の挿入配列 IS6110 をプローブとした RFLP 分析法^{1)~3)}である。しかし、IS6110 コピー数が1～5の株では、識別能力が低いという欠点があり、別の遺伝子マーカーによる二次型別が必要となる。こうした二次型別に多用されているのが Spoligotyping である⁴⁾⁵⁾。

Spoligotyping は、結核菌群 DNA の DR 領域⁴⁾に複数存在する36bpの direct repeats (DR) に挟まれた spacer 配列を増幅して比較する方法である。この方法は、操作が簡単で確実性があり、結果のコード化も可能であるが、IS6110 コピー数が多い株に対しては、IS6110-RFLP 分析法より識別能力が低い。従って、両者を組み合わせることにより正確な解析が可能となる⁶⁾⁷⁾。

また、Spoligotyping は、IS6110 等に比べてより安定な遺伝子の多型を解析するので、様々な遺伝子型の分布を把握する手段として非常に有用である。そのため、人口集団に基づく遺伝子型の世界的な分布を調べる目的で、パターンのデータベース化が進められている^{8)~10)}。こうした遺伝子型の一つに、アジアを中心に広汎に分布する Beijing family¹¹⁾があり、強い感染力で注目されている。

一方、わが国では、人口集団に基づいた結核菌の遺伝子型については、沖縄県での調査¹²⁾以外報告されていない。そこで、今回、岡山地区に居住する結核患者から分離された結核菌を対象に、遺伝子型別を行い、Beijing family をはじめとする様々な遺伝子型の検出状況を調べ、地域の流行株との関連性の検討および世界に分布する遺伝子型との比較を行ったので報告する。

対象と方法

(1) 使用菌株

¹岡山県環境保健センター微生物科, ²国立療養所南岡山病院

連絡先：大島律子, 岡山県環境保健センター微生物科, 〒701-0298 岡山県岡山市内尾739-1

(E-mail: ritsuko_oohata@pref.okayama.jp)

(Received 11 Sep. 2003/Accepted 5 Jan. 2004)

Table 1 Samples collected from January 2000 to December 2002

Age	Beijing family (%)	Others (%)	Total (%)
<20	0 (0)	1 (3)	1 (1)
20-29	9 (9)	2 (5)	11 (8)
30-39	7 (7)	4 (10)	11 (8)
40-49	12 (12)	2 (5)	14 (10)
50-59	15 (15)	6 (15)	21 (15)
60-69	14 (14)	6 (15)	20 (14)
70-79	19 (18)	12 (31)	31 (22)
80 ≥	27 (26)	6 (15)	33 (23)
Total	103 (100)	39 (100)	142 (100)

2000年1月から2002年12月までの3年間に県内の医療機関または検査機関で分離され、当センターへ搬入された結核菌を用いた。

人口集団に基づく調査の対象としては、岡山市内に居住する患者から分離された142株を使用した (Table 1)。

一方、岡山市以外の患者から分離され、IS6110コピー数が1~5であった13株についても、Spoligotypingを実施した。

(2) 結核菌からのDNAの抽出

結核菌からのDNA抽出にはISOPLANT (ニッポンジーン) を用い、小川培地上に培養された菌体1白金耳から、マニュアルに従って抽出した。

(3) 遺伝子型別

IS6110-RFLP分析により、流行株等の地域の蔓延状況を調べ、Spoligotypingにより Beijing family 等の遺伝子型を検出した。

i) IS6110-RFLP分析

RFLP分析は高橋らの方法^{2) 13) 14)}に従った。プローブは、IS6110由来245bpのPCR産物をRandom primer DNA labeling kit (Enzo Diagnostics) によりビオチン標識した。

RFLPパターンの検出は、ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ (Amersham Pharmacia Biotech) および発光基質ルミホス530 (Wako) を用い、化学発光によりX線フィルム上で行った。

RFLPパターンのクラスター解析は、解析ソフト Finger Printing Plus (Bio Rad) を用い、UPGMA法で行った。

ii) Spoligotyping

Spoligotypingは、Kamerbeekらの方法⁴⁾に従って実施した。すなわち、結核菌DNAをあらかじめ一方をビオチンラベルしたDRに相補的なプライマーを用い、PCRにより、隣接するDR間に存在するspacer配列を増幅し、メンブレンに固相化した43の合成オリゴヌクレオチドとハイブリダイズさせ、パターンを検出し、spacer配列の有無を解析した。プライマーおよび43の合成オリゴヌクレオチド固相化メンブレンは、市販のキット (Isogen Bioscience BV) を用い、ハイブリダイズには、Miniblot-

ter45 (Immunetics) を使用した。パターンの検出は、RFLP分析と同様に化学発光システムで行った。

結 果

(1) 142株のIS6110-RFLP分析

IS6110のコピー数の分布は、1~17の間で、ピークは10であった (Fig. 1)。RFLPパターンは多様性を示したが、類似度80%以上で分けると、流行株と思われる主要な4グループ (A-B, C, DおよびE) が認められ、それらを含む類似度65%以上の3つの範囲 (I~III) に60株 (42%) が含まれた (Fig. 2)。

これらの結果は、日本の他地域の調査結果^{14)~17)}と同様であった以前の岡山県全体の調査結果¹⁸⁾に一致した。

(2) 142株の Spoligotyping

142株中、103株 (72.5%) が、spacer配列35-43のみを保有する Beijing family 遺伝子型に典型的なパターンを示し、沖縄県における調査結果¹²⁾と類似していた。これらのIS6110コピー数の範囲は8~17で特に10~13に多く (Fig. 1)、4つの流行株グループのうちA-B, CおよびDの3つが含まれた (Fig. 2)。

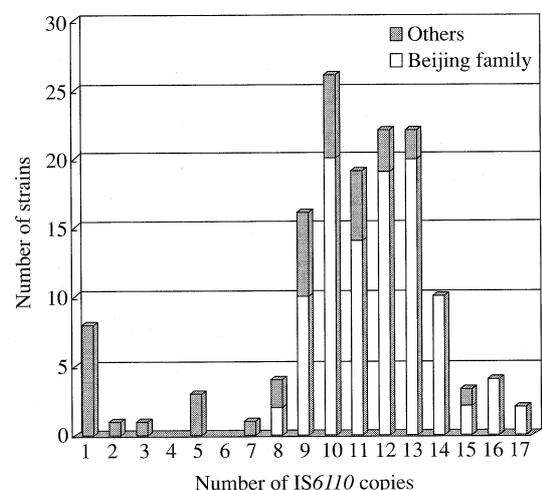


Fig. 1 Distribution of IS6110 copies

Beijing family 以外の39株では、IS6110コピー数は1～15で (Fig. 1), 流行株グループEが含まれた (Fig. 2)。これら39株のうち、21株はSolaらのデータベース⁸⁾に示される259の shared types (STs) の中のST7, ST19, ST35, ST42, ST48, ST50, ST51, ST52, ST53およびST99の10種類のいずれかに分類された (Fig. 3)。一方、16株はFilliolらがまとめたデータベース SpolDB3⁹⁾に示される36の主要な families のうち、Haarlem 3, T1, T2, LAM9, EAI1 および EAI2 の6種類に分類された (Fig. 3)。また、ST35 および ST99 に分類された3株は Haarlem 3 と類似し、Haarlem family の特徴¹⁹⁾を示していた (Fig. 3)。その他、IS6110コピー数1～5の13株中7株では、259の STs に含まれない共通したパターン “Unique” が認められた (Fig. 3)。

(3) 患者の構成

142株が分離された患者について、年齢階級別患者数の分布を比較したところ、Beijing family とそれ以外および Beijing family と対象全体との間で、有意な差は認められなかった (それぞれ、 χ^2 検定による有意確率 $P = 0.31$, $P = 0.98 > 0.05$) (Table 1)。また、対象全体と岡山市、岡山県および全国の2001年の新登録患者について年齢階級別患者数の分布をそれぞれ比較した結果、いずれの間にも有意な差は認められなかった (それぞれ $P = 0.69$, $P = 0.83$ および $P = 0.62 > 0.05$) (Table 1, 2)。

(4) 岡山市以外の患者由来 IS6110コピー数1～5の13株における Spoligotyping

13株中、8株が Unique パターンを示し、6株はそれぞれ259の STs に含まれない異なったパターンを示した。Unique を示した株が分離された患者の年齢は、48～92歳で、居住地は県内広範囲であった (Fig. 4)。

考 察

Spoligotyping の結果、約70%が Beijing family に属し、また、大部分の流行株がこれに含まれたことから、この地域における Beijing family の感染力の強さが示された。

Beijing family は、分離株の約90%を占める北京地域をはじめ、ベトナムで54%、タイで44%などアジアの諸地域で高率に検出されているほか^{11)20)~25)}、ロシアやヨーロッパなどでも検出が報告されており、その強い感染力と薬剤に対する抵抗性で注目されている^{26)~29)}。また米国でも、テキサス州の分離株の25%を占めており³⁰⁾、1990年代初頭にニューヨークで発生した大規模な多剤耐性結核による集団院内感染事例は、Beijing family が分

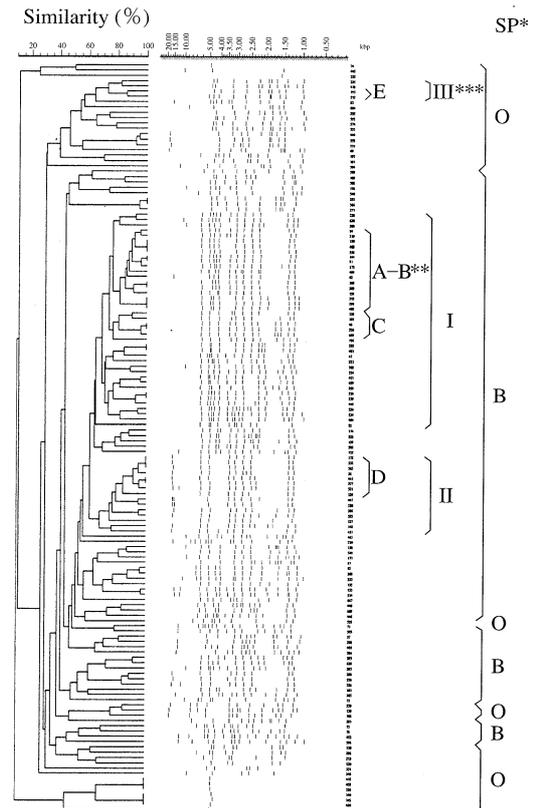


Fig. 2 IS6110-RFLP patterns from 142 strains

*Spoligotype pattern, Beijing family B; Others O

**Main similarity $\geq 80\%$ clusters showed A-B, C, D and E¹⁸⁾

***The groups classified by similarity $\geq 65\%$ showed I, II and III¹⁸⁾

Table 2 Number of newly registered tuberculosis cases in 2001

Age	Okayama City (%)	Okayama Prefecture (%)	Whole country (%)
<20	2 (1)	7 (1)	616 (2)
20-29	16 (12)	40 (8)	3,157 (9)
30-39	14 (10)	33 (7)	3,041 (9)
40-49	11 (8)	30 (6)	3,012 (8)
50-59	25 (18)	65 (13)	5,383 (15)
60-69	19 (14)	72 (15)	6,218 (18)
70-79	20 (15)	112 (23)	7,901 (22)
80 \geq	30 (22)	129 (26)	6,161 (17)
Total	137 (100)	488 (100)	35,489 (100)

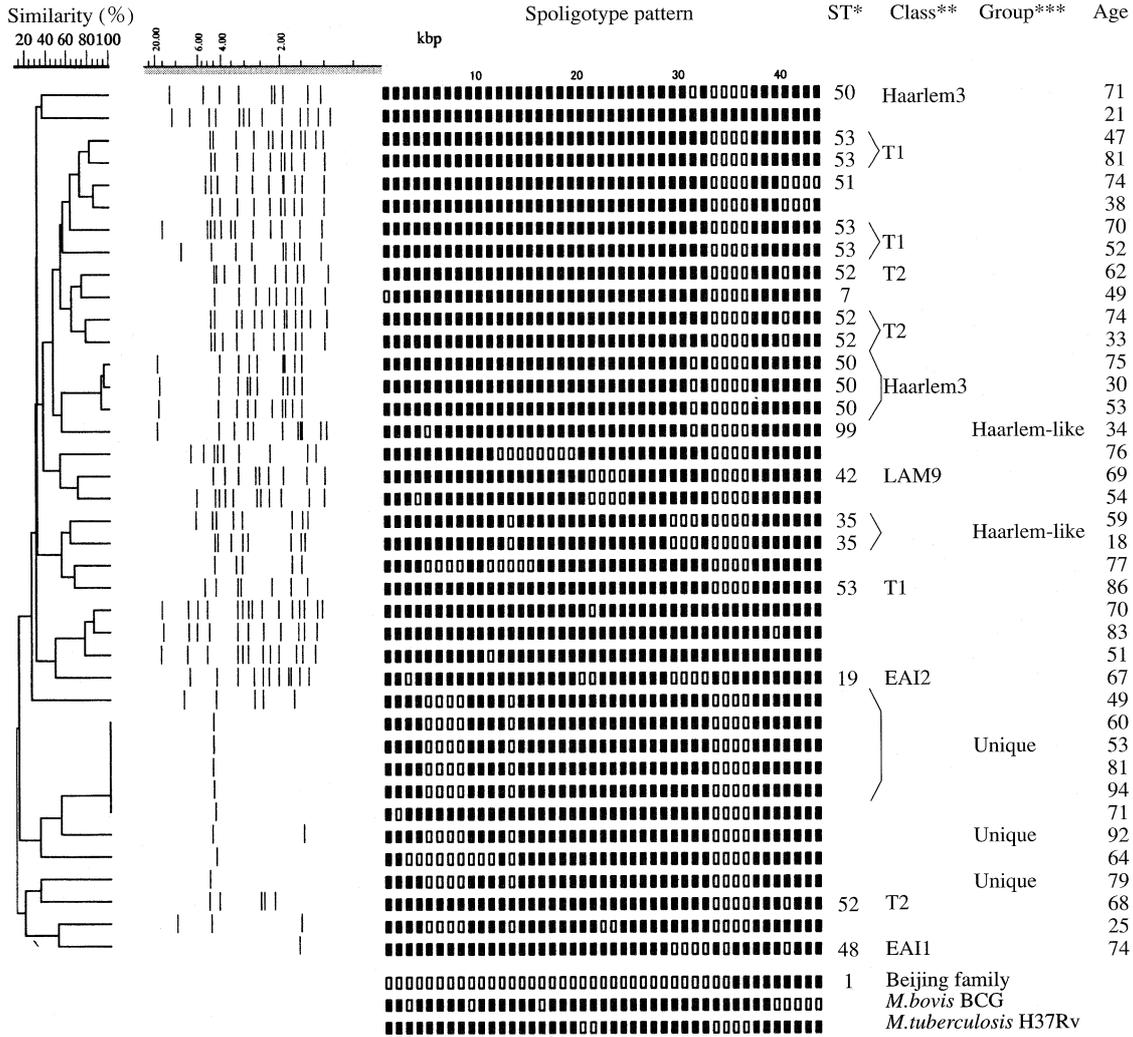


Fig. 3 IS6110-RFLP patterns from 39 strains showing non-Beijing spoligotype patterns, in combination with the respective spoligotype patterns

*Shared types (STs) defined in spoligotype database by Sola et al.⁸⁾

**36 major classes of circulating *M.tuberculosis* in Excerpt SpolDB3 by Filliol et al.⁹⁾

***Other classes of circulating *M.tuberculosis* out of Excerpt SpolDB3.

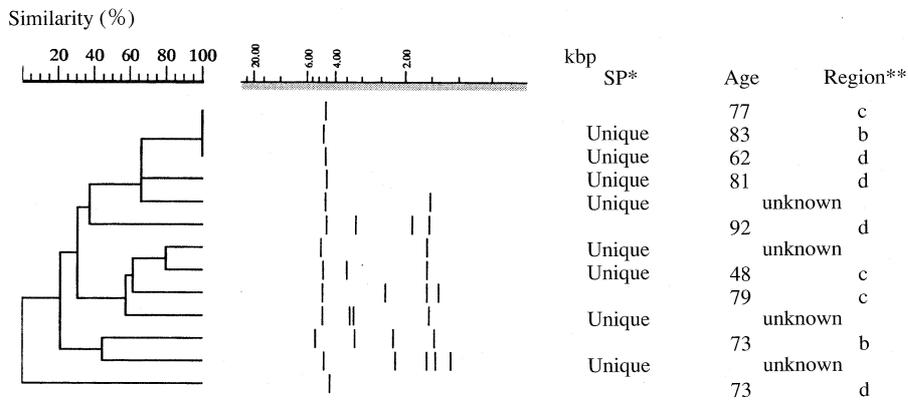


Fig. 4 IS6110-RFLP patterns and spoligotype patterns of 13 strains having 1-5 IS6110 copies

*Spoligotype pattern

**Region of patient's residence in Okayama Prefecture except Okayama City

Northeast a; Northwest b; Southeast c; Southwest d

岐したと考えられる strain Wが原因である。さらに、strain Wに遺伝子的に酷似した株による集団感染事例が、南アフリカでも報告されている³¹⁾。

このように、Beijing familyは広汎に分布し、世界的な問題となっているが、その伝播時期には違いが見られる。アジアの中でも、患者の年齢層に特徴が見られないインドネシア²³⁾やタイ²²⁾と対照的に、ベトナムでは²¹⁾若い年代での感染が有意に多いことから、伝播が最近であることが示唆される。また、カナリア諸島では、1992年から1996年の4年間でBeijing familyの占める割合が0%から27%に急増していた²⁹⁾。

岡山市の場合は、Beijing familyとそれ以外の遺伝子型の株で、分離された患者の年齢分布に差がなく、60歳以上が58%を占めていた (Table 3)。よって、Beijing familyの伝播が、ベトナムやカナリア諸島のように最近ではなく、古いことが推測された。特にわが国では、高齢者の結核の大部分が、1940年代の高蔓延時代の感染に起因する内因性再燃であるため³²⁾、この遺伝子型が、1940年代には既に強い感染力でわが国に伝播していたと思われる。さらに、これらの株のIS6110コピー数は大部分が10~13で (Fig. 1)、他のアジア地域等で見られるBeijing familyの14~20^{11) 23) 27) 28) 31)}とは異なっていた。従って、古くに伝播したBeijing familyがわが国に定着して広がったと考えられた。

一方、東アジアやベトナムの分離株を対象にした調査で、BCG接種により他の株に比較して、Beijing familyの株が有意に選択される可能性が議論されている^{11) 21) 23)}。わが国では、BCG接種は1951年の結核予防法の改正以降一般的になったので、60歳以上の多くはBCG未接種と考えられる。今回の調査では、Beijing familyと他の株で、60歳を境界とした年齢構成に有意な差は認められなかったため (Table 3, $P = 0.72 > 0.05$)、BCG接種とBeijing familyの選択性についての関連は確認できなかった。

Beijing family遺伝子型以外の39株では、世界各地に分布しているSTsとfamiliesに21株が一致したが (Fig. 3)、特にST50およびST53は、アフリカ、北アメリカ、中央アメリカ、南アメリカ、ヨーロッパ、中東・中央アジア、東アジアおよびオセアニアの各地に分布しており⁹⁾、今回の調査でも他のSTsよりも高率に見られた。一致したすべてのSTsでは、ST7、ST35およびST99以外は、株が分離された患者に60歳以上が含まれており、これらのSTsの伝播が古いと考えられた。

一方で、岡山市のIS6110コピー数1~5の7株で、259のSTsに含まれない共通パターンUniqueが見られたが (Fig. 3)、分離された患者の年齢が、49~94歳と高かったため、これらの株もまた、古くからの感染源であ

Table 3 Proportion of tuberculosis cases over/under 60 years old

Age	Beijing family (%)	Others (%)
< 60	43 (42)	15 (38)
≥ 60	60 (58)	24 (62)
Total	103 (100)	39 (100)

ると推測された。さらに、岡山市以外でも、県内広範囲に居住する高齢の患者からUniqueを示す株が分離された (Fig. 4)。そのうえ、Uniqueを示す株の多くは、IS6110-RFLP分析で5 kb付近に1本のバンドをもつ、わが国で多いと言われるパターン¹⁴⁾を示しているため (Fig. 3, 4)、これらの株は、古くから国内に広く分布する、わが国の固有株の可能性が高いと思われる。

今回調査した岡山市は、平成8年度から中核市に移行した人口約63万の典型的な地方都市で、都市部と田園・山間部の特徴を併せ持つ地域である。2001年の結核罹患率は21.8 (人口10万対)で、岡山県および全国の罹患率 (それぞれ25.0, 27.9)と著しい差はない^{33) 34)}。また、対象となった患者の年齢構成でも、市全体、県全体および全国と有意な差はない。従って、以前の調査で、岡山県と全国で流行株のパターンが一致し¹⁸⁾、今回の岡山市のIS6110-RFLP分析結果も同様であったことから、当調査結果は、県全体および全国の状況を類推する一指標になるとと思われる。ただし、今回の対象株は3年間集積したものであり、年間あたりでは、新登録患者数の約30%にとどまるため、誤差は考慮に入れなければならない。

以上のことから、岡山地区の結核菌は、Beijing family遺伝子型がアジアの他の地域以上に高率に分布し、その強い感染力で感染源の主流となっていることが判明した。さらに、その伝播は1940年代以前に遡り、わが国で定着し広がったことが推測された。Beijing familyの薬剤に対する抵抗性が多く報告されていることから^{21) 23) 26) ~28) 31) 35)}、今後、薬剤耐性遺伝子の検出頻度の調査等を加えることで、結核対策に役立つ所見が得られると思われる。また、Beijing family以外の遺伝子型では、半数以上が世界的に分布する遺伝子型と一致し、伝播は古いと考えられた。これらのことから、結核の伝播の多くは、世界規模で起こり、優勢な株が各地域に定着して広がることが推測された。

一方で、わが国固有株の可能性が高いと考えられる遺伝子型Uniqueを示す株のグループも見られた。これらがBeijing familyの強い勢力下にもかかわらず、古くから継続されてきたことには、何らかの要因があると思われる。従って、このUniqueパターンに関与する遺伝子や遺伝子転写産物を同定し、抗原蛋白やこれらの抗原蛋

白に対する抗体等を用いて、新しい診断・治療の解析や新しい結核病態の解明につなげることが今後の課題である。

謝 辞

本稿をまとめるにあたり、ご指導・ご助言をいただきました財団法人結核予防会結核研究所の高橋光良先生、ならびに、当センターの小倉肇所長に厚く感謝いたします。また、菌株の収集および疫学情報の収集にご協力いただきました、岡山県保健福祉部健康対策課感染症対策係、県内保健所、県内医療機関および検査機関の担当者の皆様に感謝いたします。

文 献

- 1) Hermans 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. 1990; 28: 2051-2058.
- 2) van Embden JDA, Cave MD, Crawford JT, et al.: Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendation for a standardized methodology. J Clin Microbiol. 1993; 31: 406-409.
- 3) van Soolingen D, de Haas PEW, Hermans PWM, et al.: Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 1993; 31: 1987-1995.
- 4) Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, et al.: Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. J Clin Microbiol. 1997; 35: 907-914.
- 5) Yang ZH, Ijaz K, Bates JH, et al.: Spoligotyping and polymorphic GC-rich repetitive sequence fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* strains having few copies of IS6110. J Clin Microbiol. 2000; 38: 3572-3576.
- 6) Goyal M, Saunders NA, van Embden JDA, et al.: Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* isolates by spoligotyping and IS6110 restriction fragment length polymorphism. J Clin Microbiol. 1997; 35: 647-651.
- 7) Gouet-de-la-Salmoniere YO, Li HM, Torrea G, et al.: Evaluation of spoligotyping in a study of the transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 1997; 35: 2210-2214.
- 8) Sola C, Filliol I, Gutierrez MC, et al.: Spoligotyping database of *Mycobacterium tuberculosis*: biogeographic distribution of shared type and epidemiologic and phylogenetic perspectives. Emerg Infect Dis. 2001; 7: 390-396.
- 9) Filliol I, Driscoll JR, van Soolingen D, et al.: Global distribution of *Mycobacterium tuberculosis* spoligotypes. Emerg Infect Dis. 2002; 8: 1347-1349.
- 10) Filliol I, Driscoll JR, van Soolingen D, et al.: Snapshot of moving and expanding clones of *Mycobacterium tuberculosis* and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study. J Clin Microbiol. 2003; 41: 1963-1970.
- 11) van Soolingen D, Qian L, de Haas PEW, et al.: Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of east Asia. J Clin Microbiol. 1995; 33: 3234-3238.
- 12) 高橋光良: 結核分子疫学の成果と展望. 結核. 2002; 77: 741-752.
- 13) 高橋光良, 阿部千代治: ISタイピング法: IS6110をプローブとしたRFLP分析による結核菌の亜分類. 日本細菌学雑誌. 1994; 49: 853-857.
- 14) 高橋光良: 結核菌挿入断片 IS6110をプローブとした結核の分子疫学. 資料と展望. 1996; 17: 43-53.
- 15) Takahashi M, Kazumi Y, Fukasawa Y, et al.: Restriction fragment length polymorphism analysis of epidemiologically related *Mycobacterium tuberculosis* isolates. Microbiol Immunol. 1993; 37: 289-294.
- 16) 阿部千代治: ISタイピング法: 抗酸菌の繰返し配列とRFLP分析. 日本細菌学雑誌. 1994; 49: 823-828.
- 17) 長谷 篤, 中村寛海, 春木孝祐: 大阪市内における結核の分子疫学. (財)大同生命厚生事業団第5回「地域保健福祉研究助成」報告集. 平成10年度, 155-159.
- 18) 大島律子, 多田敦彦: 岡山県内で分離された結核菌DNAのIS6110-RFLPパターン分析. 結核. 2002; 77: 629-637.
- 19) Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, et al.: Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. J Clin Microbiol. 1999; 37: 2607-2618.
- 20) Qian L, van Embden JDA, van der Zanden AG, et al.: Retrospective analysis of the Beijing family of *Mycobacterium tuberculosis* in preserved lung tissues. J Clin Microbiol. 1999; 37: 471-474.
- 21) Anh DD, Borgdorff MW, Van NL, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype emerging in Vietnam. Emerg Infect Dis. 2000; 6: 302-305.
- 22) Prodinger WM, Bunyaratvej P, Prachaktam R, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* isolates of Beijing genotype in Thailand. Emerg Infect Dis. 2001; 7: 483-484.
- 23) van Crevel R, Nelwan RHH, de Lenne W, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* isolates Beijing genotype strains associated with febrile response to treatment. Emerg Infect Dis. 2001; 7: 880-883.
- 24) Park YK, Bai GH, Kim SJ, et al.: Restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from countries in the western pacific region. J Clin Microbiol. 2000; 38: 191-197.
- 25) Dale JW, Nor RM, Ramayah S, et al.: Molecular epidemiology of tuberculosis in Malaysia. J Clin Microbiol. 1999; 37: 1265-1268.
- 26) Toungoussova OS, Sandven P, Mariandyshev AO, et al.:

- Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia. J Clin Microbiol. 2002 ; 40 : 1930–1937.
- 27) Pfyffer GE, Strassle A, van Gorkum T, et al.: Multidrug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan. Emerg Infect Dis. 2001 ; 7 : 855–861.
- 28) Kruuner A, Hoffner SE, Sillastu H, et al.: Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia. J Clin Microbiol. 2001 ; 39 : 3339–3345.
- 29) Caminero LA, Pena MJ, Campos-Herrero MI, et al.: Epidemiological evidence of the spread of a *Mycobacterium tuberculosis* strain of the Beijing genotype on Gran Canaria Island. Am J Respir Crit Care Med. 2001 ; 164 : 1165–1170.
- 30) Soini H, Pan X, Amin A, et al.: Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients in Huston, Texas by spoligotyping. J Clin Microbiol. 2000 ; 38 : 669–676.
- 31) van Rie A, Warren RM, Beyers N, et al.: Transmission of a multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain resembling “strain W” among noninstitutionalized, human immunodeficiency virus-seronegative patients. J Infect Dis. 1999 ; 180 : 1608–1615.
- 32) 佐藤敦夫：高齢者結核。「結核」，第3版，泉 孝英，網谷良一編，医学書院，東京，1999，263–269.
- 33) 岡山県保健福祉部健康対策課：「岡山県における結核の現状」，平成13年版。
- 34) 厚生労働省健康局結核感染症課監修：「結核の統計2002」．結核予防会，東京，2002.
- 35) Qian L, Abe C, Lin TP, et al.: *rpoB* genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family isolates from east Asian countries. J Clin Microbiol. 2002 ; 40 : 1091–1094.

Original Article

BEIJING FAMILY AND OTHER GENOTYPES OF
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ISOLATES IN OKAYAMA DISTRICT

¹Ritsuko OHATA and ²Atsuhiko TADA

Abstract [Objective] The purpose of this study is to investigate the distribution of *Mycobacterium tuberculosis* genotypes, such as Beijing family and other genotypes in Okayama district, and to examine the relation between these genotype strains and prevalent strains.

[Methods] The 142 *M. tuberculosis* strains isolated in Okayama City from January 2000 to December 2002 were subjected to IS6110-RFLP and spoligotyping for the population-based study. In addition, 13 strains having 1 to 5 IS6110 copies isolated in Okayama Prefecture excluding Okayama City were also subjected to spoligotyping.

[Results] A total of 103 (72.5%) of 142 strains belonged to Beijing family. Furthermore, 3 of 4 groups of prevalent strains belonged to the family. Twenty one strains out of 39 rest strains could be classified into 10 shared types (STs) of 259 STs in the worldwide spoligotype database. In addition, 15 out of 26 strains from inside and outside of Okayama City having 1 to 5 IS6110 copies showed common unique spoligotype. Moreover, the age of majority patients who were infected with *M.*

tuberculosis of the Beijing family or other genotypes were older than 60 years.

[Conclusion] It was suggested that Beijing family had been the main infection source, and the spread of strains of Beijing family and other genotypes occurred considerably in old times, and the unique genotype strains remained for a long time as peculiar strains.

Key words: *M.tuberculosis*, Beijing family, Prevalent strains, IS6110-RFLP, Spoligotyping

¹Department of Microbiology, Okayama Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health, ²National Minami-Okayama Hospital

Correspondence to: Ritsuko Ohata, Department of Microbiology, Okayama Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health, 739-1, Uchio, Okayama-shi, Okayama 701-0298 Japan. (E-mail: ritsuko_oohata@pref.okayama.jp)