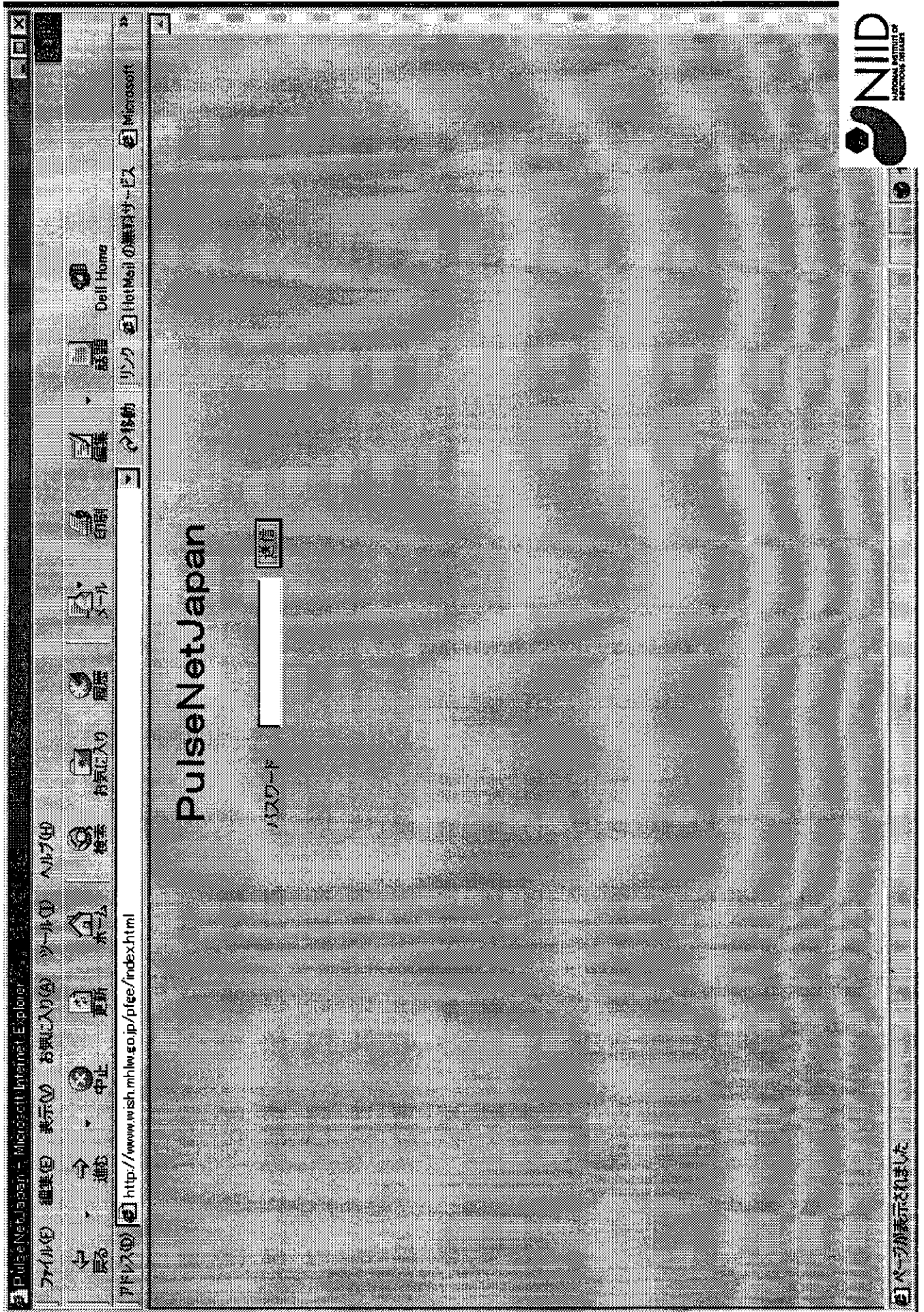


別紙 2







Microsoft Internet Explorer

アドレス http://top.wish.mhiw.co.jp/www/pfeg/index.html

検索 検索 印刷 移動 リンク HotMail 無料サービス Microsoft

# PulseNetJapan

解析データ

5月10日-7月19日受付分	none
1月-6月25日受付分	none
1月-4月27日受付分	none

トピックス

トピックス: 首都圏等広域流行株の 一覧表 8/21現在	PFGE画像
トピックス: サイコロスア-キ関連株	PFGE画像:5月以降流行株
トピックス: 生タタキ関連株	PFGE画像:157 in May
トピックス: No data	PFGE画像:サイコロ・生タタキ
トピックス: No data	PFGE画像:Compo XE digestion
トピックス: No data	PFGE画像:No data
トピックス: No data	PFGE画像:No data

情報源元

細菌部からのお知らせ

感染研No. 検査

検査





Microsoft Internet Explorer

アドレス http://www.wish.nih.go.jp/pfee/ce1-bin/menu.cgi

検索 入力 印刷 移動 リンク HotMail の無料サービス Microsoft

# PulseNetJapan

## Topics: #1 サイロスターキ関連株

発症日・分産日

No.	感染研No.	機関名	発症日・分産日
1	10261	千葉県衛生研究所	2001/3/13
2	10262	千葉県衛生研究所	2001/3/14
3	10263	千葉県衛生研究所	2001/3/12
4	10264	千葉県衛生研究所	2001/3/13
5	10265	千葉県衛生研究所	2001/3/14
6	10276	横浜市衛生研究所	2001/3/13
7	10276	横浜市衛生研究所	2001/3/13
8	10279	神奈川県衛生研究所	2001/3/12
9	10323	茨城県衛生研究所	2001/3/26
10	10324	群馬県衛生環境研究所	2001/3/12
11	10325	群馬県衛生環境研究所	2001/3/24
12	10326	群馬県衛生環境研究所	2001/3/23
13	10327	群馬県衛生環境研究所	2001/3/26
14	10328	東京都立衛生研究所	2001/3/14
15	10329	東京都立衛生研究所	2001
16	10330	山形県衛生研究所	2001/3/25
17	10332	神奈川県衛生研究所	2001/3/26
18	10345	千葉県衛生研究所	2001
19	10346	千葉県衛生研究所	2001
20	10347	千葉県衛生研究所	2001/3/20
21	10349	神奈川県衛生研究所	2001/3/23

情報選元  
細菌部からのお知らせ

感染研No. 検索

検索

ウェブが表示されました

NIID  
NATIONAL INSTITUTE OF  
DIAGNOSTIC AND  
INVESTIGATIVE  
EPIDEMIOLOGY

Microsoft Internet Explorer ヘルプ(出)

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(O) ツール(T) ヘルプ(H)

戻る 進む 停止 更新 ホーム 検索 お気に入り 履歴 メール 印刷 移動 リンク H!Mailの無料サービス Microsoft

アドレス(AD) http://www.wish.mhlw.go.jp/pifee/cgi-bin/menu.cgi

# PulseNetJapan

**情報還元**

細部からのお知らせ

感染研No.検索

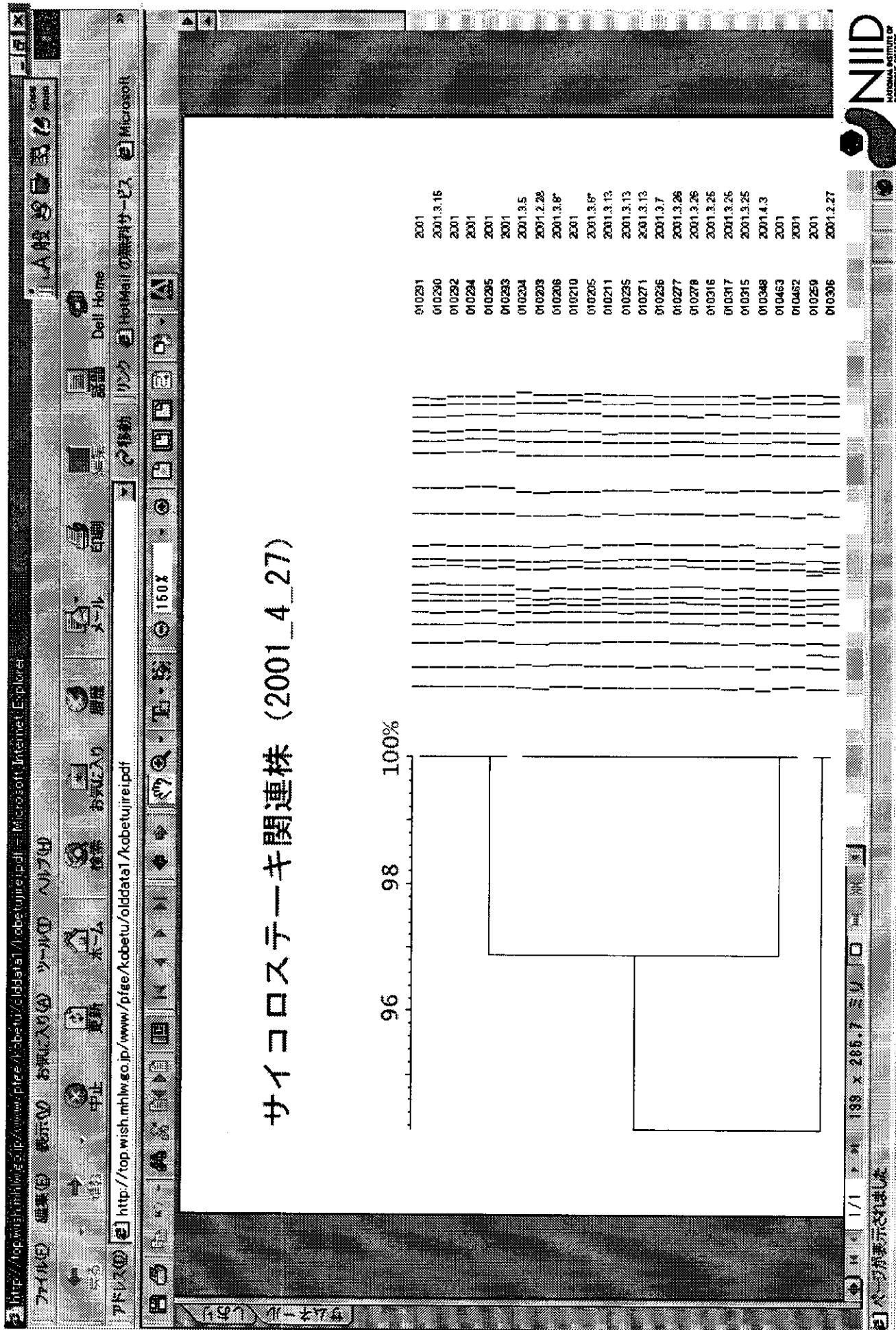
## 詳細情報

感染研管理番号	110364
機関名	神奈川県衛生研究所
発症日-分離日	2001/4/5
年齢	35
患者性別	F
症状	無症状
添付書のSsA1	*
添付書のSsB2	*
XbaI-<100kb	無
XbaI-100~200kb	無
XbaI->200kb	無
PFGE コント	same as 201
備考	保菌者、393の家族、たまたま関連(スーパーで豚肉)
備考2	
備考3	

ページが表示されました

















厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

平成13年度 分担研究報告書

パルスフィールドゲル電気泳動法（Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE）標準化及び  
画像診断を基礎とした分散型システムの有効性に関する研究

分担研究者	矢野昭起	北海道立衛生研究所
研究協力者	斎藤紀行	宮城県保健環境センター
	対馬 典子	青森県環境保健センター
	微生物部細菌担当	秋田県衛生科学研究所
	細菌担当	岩手県環境保健研究センター
	廣瀬 昌子	福島県衛生研究所
	早坂 晃一	山形県衛生研究所

研究要旨：北海道・東北地方で、平成13年に発生した腸管出血性大腸菌感染症の集団発生事例及び散発事例由来株についてパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）を用いたDNA解析を実施した。それぞれの地研での成績から、PFGEによって、散発事例由来株と集団感染事例由来株とが区別しうることを示された。また、ソネ赤痢菌については、西日本で流行した菌株のPFGE画像が現在構築中のパルスネットを通じて各地研に配布されたことによって、西日本流行株と地方で分離された菌株との迅速な比較が可能となり、本ネットワークの有用性が示された。一方、O157菌については、各地研で実施したPFGEの画像についてDNA解析用ソフトであるゲルコンバーIIを用いたクラスター解析を行い、北海道・東北地方におけるO157菌の遺伝子型について調べた。その結果、各地研でのPFGEパターンは、そのおのおのがクラスターを形成する傾向を示し、手技や泳動条件の標準化等の必要性が示唆された。

A. 目的

集団感染事例の発生時における迅速な感染源の究明や分子疫学データの蓄積等のための分子疫学手法として、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）は多種多様な病原体について現在もっともよく用いられている手技である。また近年、複数の自治体にまたがる広域な分散型集団発生事例（diffuse outbreak）も確認されており、詳細な疫学調査とともに、菌学的特性を迅速に把握検討することにより、このような集団発生事例の早期探知を図る必要がある。そのためには全国的なネットワーク（パル

スネット）の構築が不可欠である。本研究は、ネットワークの構築にあたり、北海道・東北地方における腸管出血性大腸菌感染症（EHEC）の実態把握と本症例に対するPFGEの応用例を収集し、さらに同地域でのEHECの分布状況を把握することを目的とした。また、これらの成績はパルスネット構築に向けた基礎資料として利用することができる。

B. 研究方法

各地研で分離されたEHECについてPFGEを用いたDNA解析を実施した。また、西日本

で流行したソネ赤痢菌についても解析を行った。サンプル調整については、各地研の方法で実施し、泳動条件については国立感染症研究所の方法に準じた。すなわち、電圧は 6V/cm、パルスタイムは 4-8 秒 9 時間、8-5-秒 1 3 時間、アングルは 120°、泳動バッファーは 0.5x トリス・ホウ酸緩衝液 (TBE)、バッファー温度 14°C で泳動した。また、各地研から得られた PFGE データについてゲルコンバーII を用いたクラスター解析を行った。

### C. 結果及び考察

各地研の成績から、平成 13 年には 4 件の EHEC による集団感染事例が発生しており、PFGE を用いた解析で、散発事例由来株と集団感染事例由来株とが識別可能であることが示された。また、いくつかの散発事例でその PFGE パターンが一致し、diffuse outbreak を疑う事例が確認されたが、解析の時期が遅く疫学調査に反映させることができなかった。従って、菌株の迅速な収集と PFGE による菌株の比較を速やかに行い、その結果が担当部局に即座に活用される体制づくりが必要であると思われた。

各地研から得られた PFGE の写真データについてゲルコンバーII を用いたクラスター解析を行った。その結果得られたデンドログラム (図 1) によると、各地研からの分離株同士がクラスターを形成する傾向が見られた。これは、それぞれの地研が集団感染事例株を中心に報告しており、もともと同一の PFGE パターンを示す株が多いことがその一因と思われる。しかし、散発事例由来株においても同様の傾向がみ

られたことから、この結果は各地研で個別に泳動された PFGE の画像データを直接比較することの困難さを表しており、方法の標準化等の精度管理の必要性が示された。

今年度は、EHEC O157 についてはサイコロステーキや和風キムチを感染源とする diffuse outbreak の発生がみられた。その際、感染研から当該菌株の PFGE パターンが適宜、全地研に配布され、地方流行株との速やかな比較が可能になった。また、西日本を中心に流行したソネ赤痢菌の PFGE 像についてもパルスネットを通じて各地研に情報提供が行われ、東北地方で分離されたソネ赤痢菌との迅速な比較が可能であった。これらは感染源対策において本ネットワークが有用であることを示している。

### D. 結論

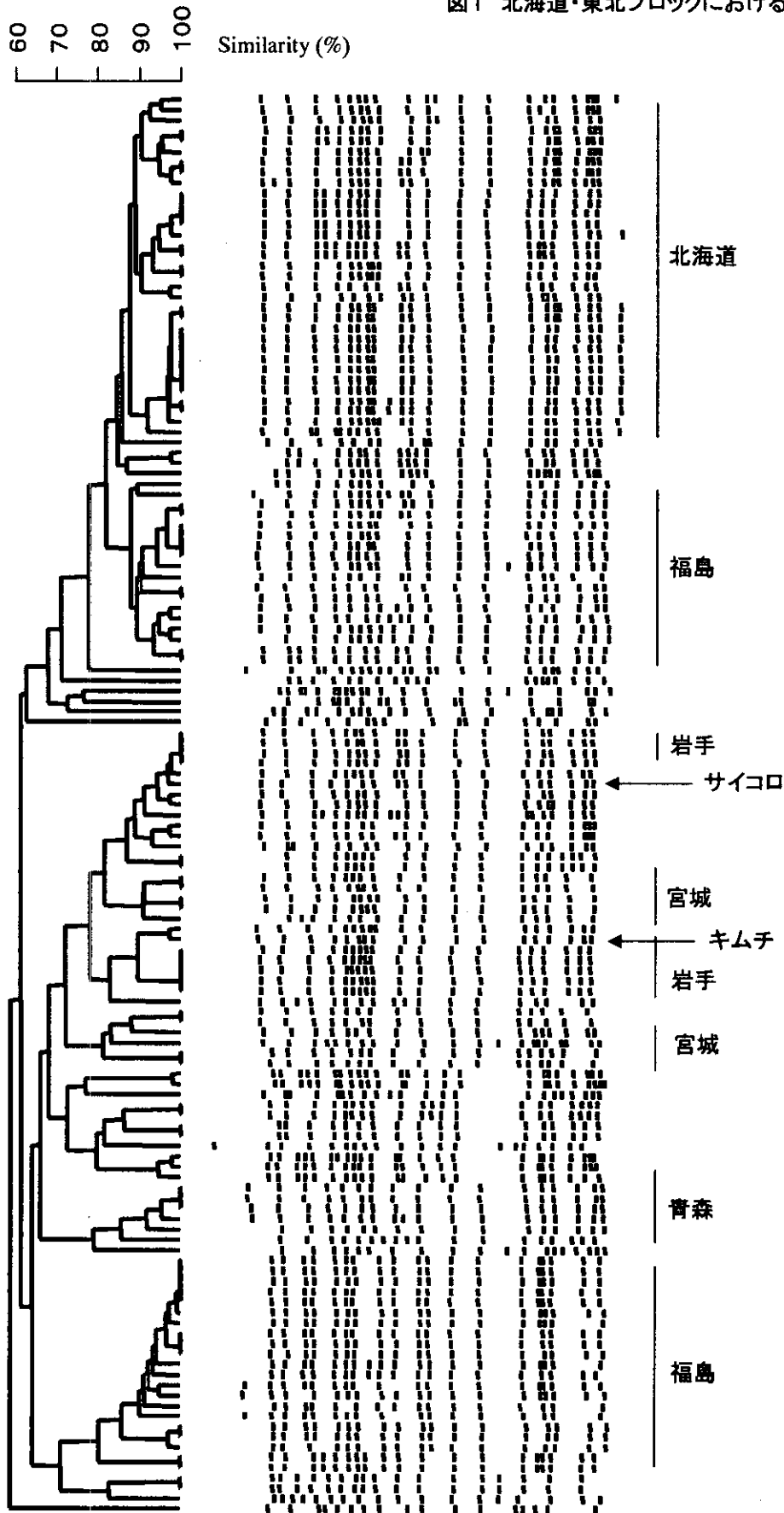
EHEC O157 感染症は全国的に毎年多数発生しており、分離菌株数においても散発事例数においてもここ数年減少していない。多数の菌株を用いた PFGE 解析から、O157 ゲノムが多様性を有していることから明らかとなり、本法が疫学マーカーのひとつとして利用可能であることが示された。従って、PFGE データは疫学情報をサポートし、diffuse outbreak の早期探知に有用な方法論であることが証明された。しかし、PFGE 情報を迅速に行政に還元するためには、菌株の早期収集が必要であり、そのための体制づくりが緊要であることが示された。

### E. 研究発表

なし。



図1 北海道・東北ブロックにおけるO157のデンドログラム



北海道における STEC の PFGE 解析と家族内感染、集団感染の解析

分担研究者 矢野昭起 北海道立衛生研究所 疫学部

研究要旨

平成13年に北海道で発生した志賀毒素産生性大腸菌（STEC）による家族内感染事例は3件、集団感染事例は2件であり、O157による事例が3件、O26による事例が2件であった。これらの事例について、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）を用いてDNA解析を実施したところ、同一事例内のPFGEパターンは高い相同性を示した。また、同年6月上旬にH市とA市で発生した患者由来株を解析したところ、90%以上の相同性を示し、diffuse型の集団発生を思わせたが、喫食調査からはこれらの患者に飲食店などの共通項目は見いだされず、詳細については不明であった。

A. 目的

北海道では毎年100名前後のSTEC感染者が発生している。平成8年のSTEC O157による大規模な集団事件以来、この状況は続いている。また近年、複数の自治体にまたがる広域な分散型集団発生事例も確認されており、詳細な疫学調査とともに、菌学的特性を迅速に把握検討することにより、このような集団発生事例の早期探知を図る必要がある。さらに、感染症の拡大防止策の策定においては、感染源の究明とそれについての対策が重要である。菌のゲノムDNAを扱うパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）は、現在のところこのような目的に合致したもっとも優れた方法として多種多様な病原体について応用されている。

今回の研究では、北海道で発生した事例についてPFGEを応用し、その有用性を検討した。

B. 研究方法

STECの血清型についてはデンカ生研社製の<sup>®</sup>大腸菌診断用免疫血清を用いた凝集試験で決定した。志賀毒素（Stx）型はPCRで決定し、

毒素産生能は逆受け身ラテックス凝集反応（RPLA）で確認した。PFGEは国立感染症研究所のプロトコールに準じて実施した。

C. 結果

1. 家族内感染事例（事例1、2）

家族内感染事例については、O157:H7菌による1例、O26:H-菌による1例の2事例であった。

Stx2産生性O157による事例1では有症者2名、無症者3名であった。本事例のPFGE像を図1に示す。これら5株は同一のPFGEパターンを示した。

Stx1産生性のO26による事例2では有症者2名、無症者3名であった。本事例のPFGE像を図2に示す。これら5株は同一のPFGEパターンを示した。

2. 集団感染事例1（事例3）

M市の保育所において8月下旬からO26による集団感染事例が発生した。感染者数は21名（患者11名、無症状保菌者10名）で、内訳は園児17名、職員2名、園児家族2名であ



った。また、保育所内の拭き取り検査、保存食検査については全て陰性で、感染源を特定することはできなかった。このうち、14株について PFGE を行ったところ、その泳動パターンはほとんど同じで、同一感染源に由来する菌であることが示唆された（図3）。

### 3. 集団感染事例3（事例4）

9月下旬からO市の保育所において園児5名と職員1名、及び一人の園児宅の近隣に居住する1家族（7歳の小児とその両親）の8名がO26に感染していることが分かった。園児5名中3名と7歳の小児が有症者であった。保育所の保存食等の検査は陰性であり、感染源を特定することはできなかった。これら8株のPFGE像はほとんど同じPFGEパターンを示した。このことから、近隣に住む居住者と保育所の園児との接触による二次感染事例であるが示唆された。

### 4. その他の事例（事例5）

H市で6月に2家族（それぞれ2名と3名）を含む11名のO157:H7感染者が発生した。また、同時期にA市内に居住する家族2名の感染者が確認された。これらの13株についてPFGEを実施したところ、1株を除き他の12株はほとんど同じパターンを示した。この1株についても、90%以上の相同性を示した。これらの感染者に関する疫学調査からは、H市の家族内感染以外の6名の感染者のうち2名については同じ職場に勤務していることが確認されているが、その他の感染者についての疫学的な接点は確認されなかった。同様に、A市の感染者とH市の感染者との接点についても確認されなかった。本事例については、PFGE解析の結果からdiffuse outbreakが疑われたが、疫学調査からはそれを裏付けることはできず、感染ルートは不明であった。

### 5. 平成13年に北海道で分離されたSTECのデンドログラム

平成13年に北海道で分離されたSTECをXbaIで消化したDNA断片のPFGE泳動パターンについて、ゲルコンバーIIを用いたクラスター解析を行った。分離菌株の血清型についてはO26、O55、O157、O111の4種類であった。図6に示したように、O26、O157はそれぞれ独立したクラスターを形成し、別の系列で分化してきたことを示している。O55とO111は1株のみであったが、他の血清型の株とは独立していた。また、それぞれの集団発生株は独自のクラスターを形成した。

### D. 考察

家族内感染、集団感染事例など同一感染源に由来すると思われる菌株についてのPFGE像では、そのパターンは同じか、あるいは1、2本のバンドの違いのみであった。また、感染源を異にする菌株間では異なったPFGEパターンを示し、家族内、集団感染の確認、diffuse outbreakの探知等にPFGEが有用であることが示された。

事例5では、PFGEのパターン分析から、共通の感染源が示唆されたが、菌の分析が遅れたため、疫学調査に反映させることができなかった。PFGEの解析データを行政に反映させるには、菌株の迅速な収集システムの構築が必要である。また、diffuse outbreakのような早期探知を要する事例についてはPFGEデータの迅速な解析と集積が求められ、そのためにもネットワークの早期の構築が必要になると思われる。

### E. 結論

PFGEは、疫学情報をサポートし、diffuse outbreakの早期探知に有用な方法論であるこ

とが証明された。また、問題点としては、PFGE  
情報を迅速に行政に還元するための菌株の早  
期収集システムの構築の必要性が示された。

F. 研究発表

なし。

G. 研究協力者

長野秀樹、森本洋、熊田洋行（北海道立衛生  
研究所疫学部）

図1 事例1

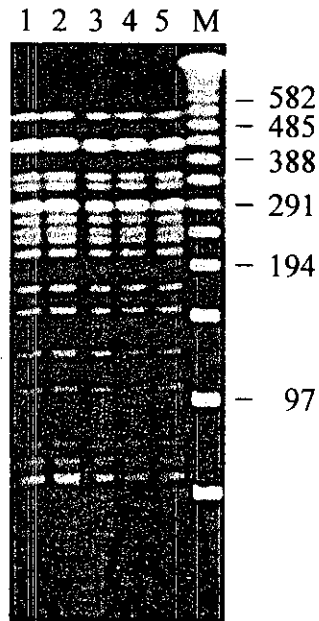


図2 事例2

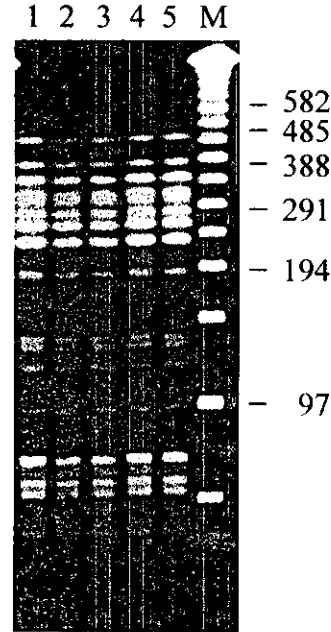


図1事例1

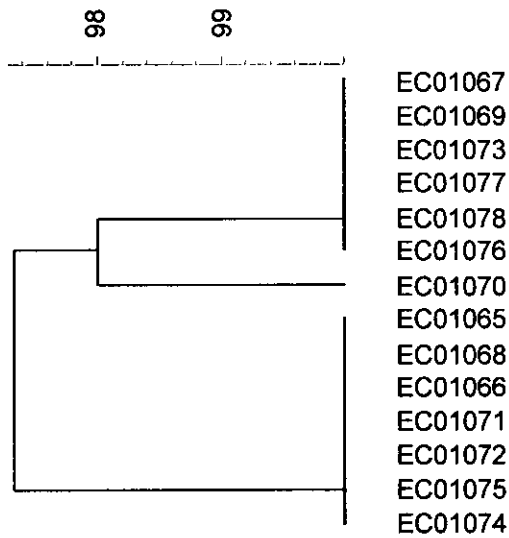
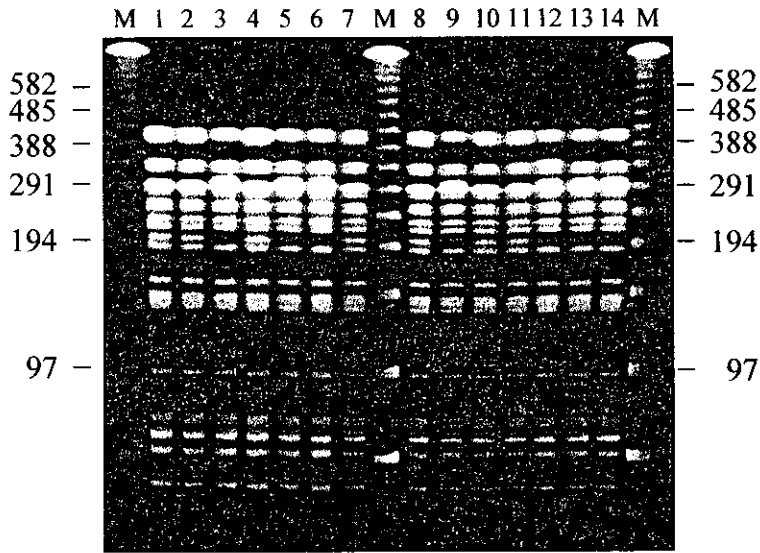
No.	検出日	発生地	菌株No.	年齢	性別	採取日	O抗原	H抗原	Stx	区分
1	2001/5/31	A市	EC01035	9ヶ月	男	2001/5/29	157	7	2	無症状
2	2001/5/29	A市	EC01042	2	男	2001/5/26	157	7	2	患者
3	2001/5/30	A市	EC01043	28	女	2001/5/30	157	7	2	無症状
4	2001/6/6	A市	EC01044	54	女	2001/5/30	157	7	2	患者
5	2001/6/8	A市	EC01045	54	男	2001/6/6	157	7	2	無症状

図2 事例2

No.	検出日	発生地	菌株No.	年齢	性別	採取日	O抗原	H抗原	Stx	区分
1	2001/5/27	○市	EC01036	1	女	2001/5/21	26	-	1	患者
2	2001/5/30	○市	EC01037	43	男	2001/5/28	26	-	1	無症状
3	2001/5/30	○市	EC01038	25	女	2001/5/28	26	-	1	無症状
4	2001/5/30	○市	EC01039	13	女	2001/5/27	26	-	1	患者
5	2001/5/30	○市	EC01040	4	男	2001/5/27	26	-	1	無症状

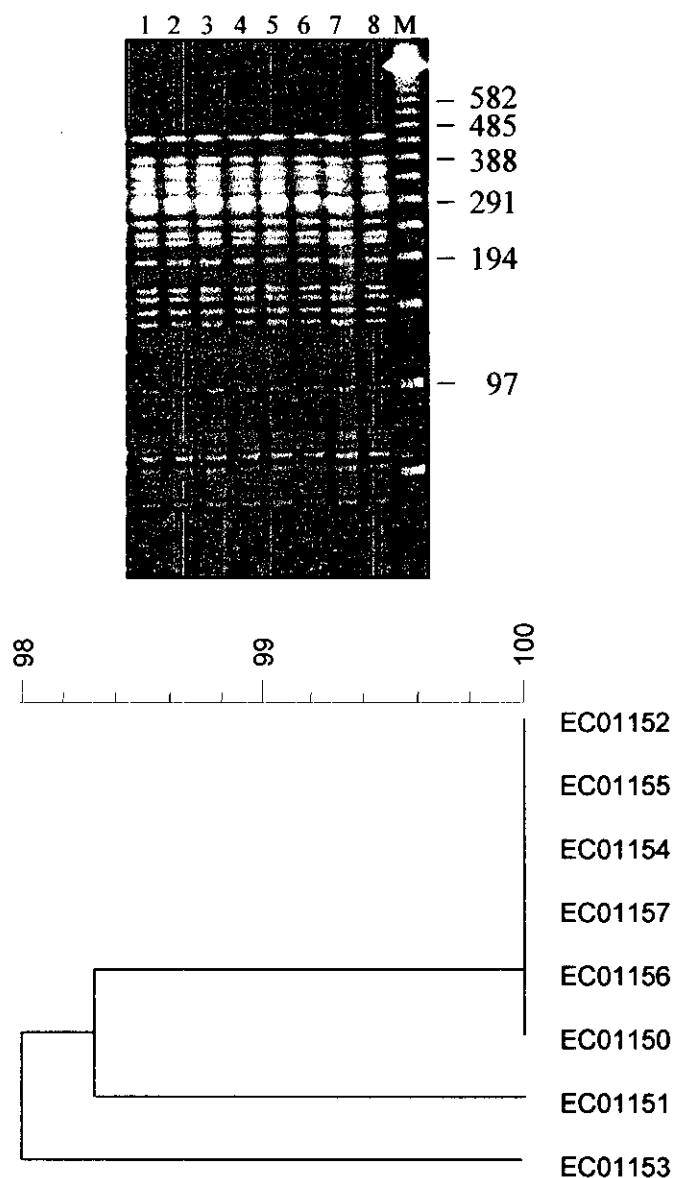


図3 集団感染事例(事例3)



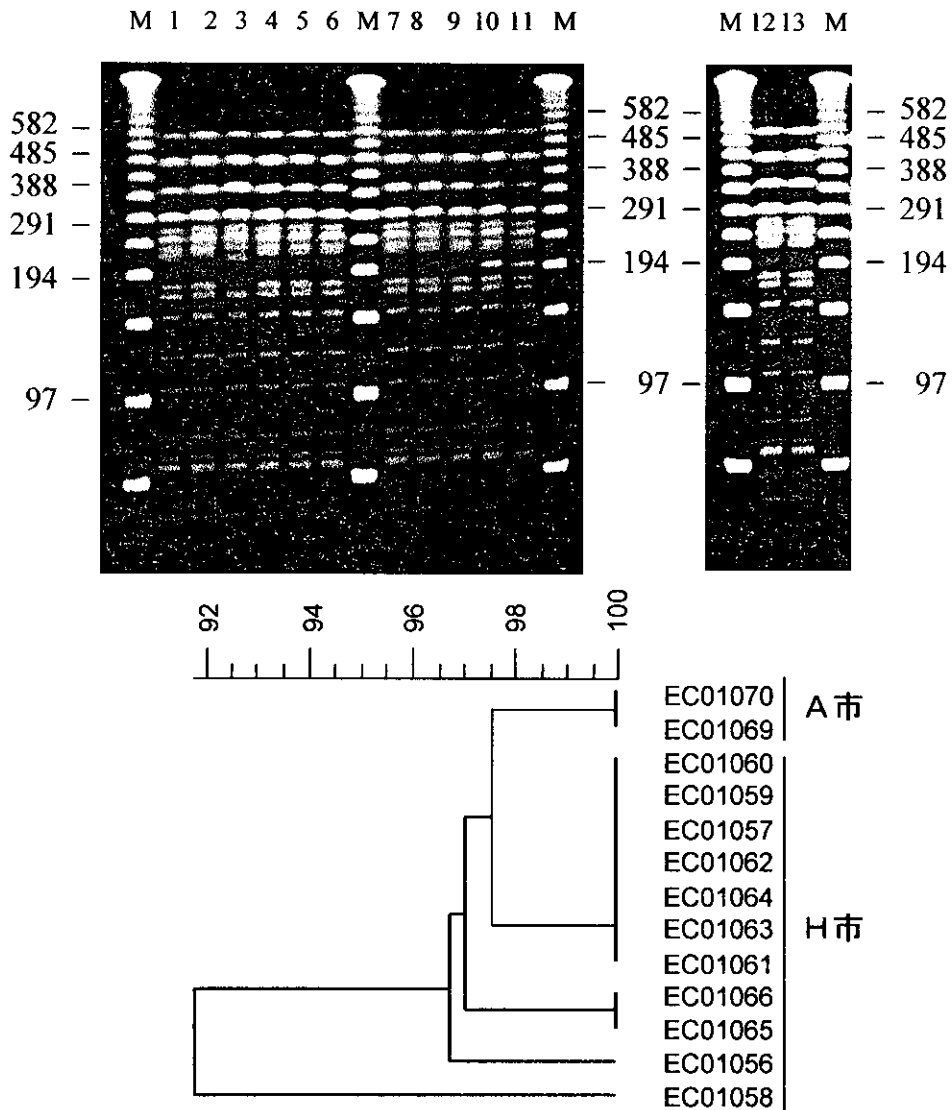
No.	検出日	発生地	菌株No.	年齢	性別	採取日	O抗原	H抗原	Stx	区分
1	2001. 8. 31	M市	EC01165	1	男		26	11	1	患者
2	2001. 8. 31	M市	EC01166	3	女		26	11	1	患者
3	2001. 8. 31	M市	EC01167	2	女		26	11	1	患者
4	2001. 8. 31	M市	EC01168	1	男		26	11	1	患者
5	2001. 8. 31	M市	EC01169	1	男		26	11	1	患者
6	2001. 9. 2	M市	EC01170	25	女		26	11	1	無症状
7	2001. 9. 2	M市	EC01171	3	男		26	11	1	患者
8	2001. 9. 2	M市	EC01172	1	女		26	11	1	患者
9	2001. 9. 2	M市	EC01173	0	男		26	11	1	患者
10	2001. 9. 2	M市	EC01174	1	女		26	11	1	患者
11	2001. 9. 2	M市	EC01175	50	女		26	11	1	患者
12	2001. 9. 4	M市	EC01176	2	男		26	11	1	無症状
13	2001. 9. 4	M市	EC01177	32	男		26	11	1	無症状
14	2001. 9. 6	M市	EC01178	11	女		26	11	1	患者

図4 集団感染事例(事例4)



No.	検出日	発生地	菌株No.	年齢	性別	採取日	O抗原	H抗原	Stx	区分
1	2001.10.23	○市	EC01150	7	男	2001/9/25	26	11	1	患者
2	2001.9.29	○市	EC01151	27	男	2001/9/26	26	11	1	無症状
3	2001.9.30	○市	EC01152	6	男	2001/9/27	26	11	1	患者
4	2001.9.30	○市	EC01153	4	女	2001/9/27	26	11	1	患者
5	2001.9.30	○市	EC01154	2	男	2001/9/26	26	11	1	患者
6	2001.9.30	○市	EC01155	27	女	2001/9/27	26	11	1	無症状
7	2001.10.4	○市	EC01156	4	男	2001/10/1	26	11	1	無症状
8	2001.10.5	○市	EC01157	3	男	2001/10/2	26	11	1	無症状

図5 その他の事例(事例5)



No.	検出日	発生地	菌株No.	年齢	性別	採取日	O抗原	H抗原	Stx	区分
1	2001.6.2	H市	EC01056	28	女		157	7	2	無症状
2	2001.6.2	H市	EC01057	68	女		157	7	2	無症状
3	2001.6.8	H市	EC01058	6	女		157	7	2	患者
4	2001.6.9	H市	EC01059	59	女		157	7	2	患者
5	2001.6.14	H市	EC01060	54	女		157	7	2	患者
6	2001.6.14	H市	EC01061	7	女		157	7	2	患者
7	2001.6.19	H市	EC01062	13	男		157	7	2	患者
8	2001.6.24	H市	EC01063	48	男		157	7	2	無症状
9	2001.6.24	H市	EC01064	47	女		157	7	2	無症状
10	2001.6.22	H市	EC01065	44	女		157	7	2	患者
11	2001.6.20	H市	EC01066	72	女		157	7	2	患者
12	2001.6.11	A市	EC01069	59	男	2001/6/6	157	7	2	患者
13	2001.6.18	A市	EC01070	84	女	2001/6/13	157	7	2	無症状