

写真1



写真2

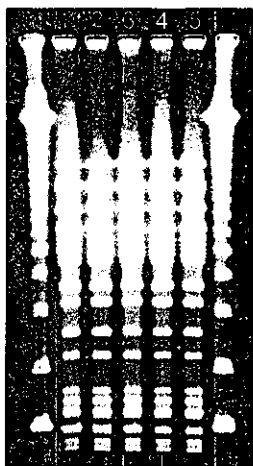


写真3

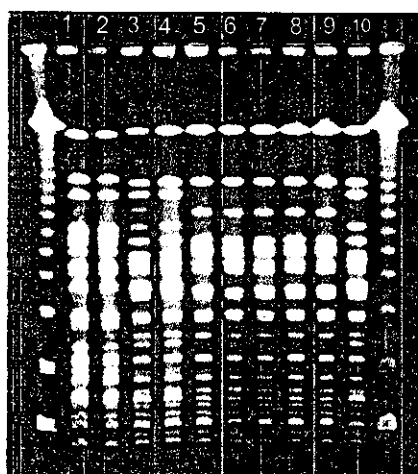


写真4

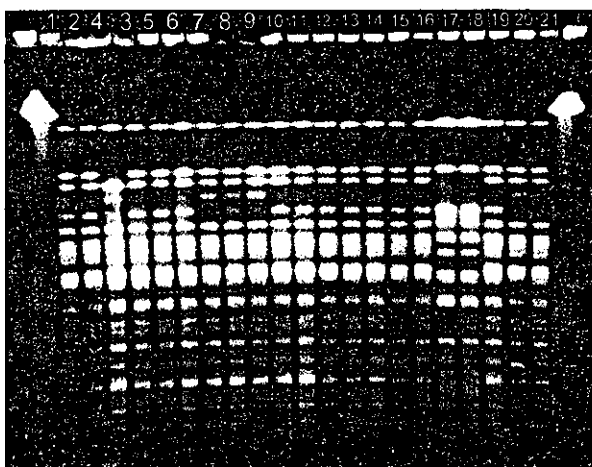


写真5

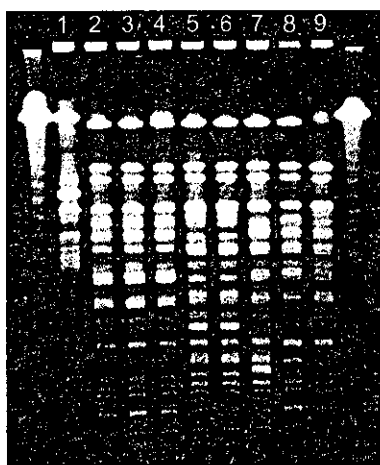
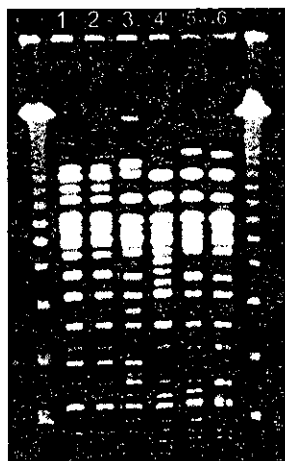


写真6



パルスフィールドゲル電気泳動法の標準化および画像診断を基盤とした 分散型システムの有効性に関する研究

福島県衛生研究所 廣瀬 昌子

研究要旨：平成13年に福島県内で発生した腸管出血性大腸菌0157感染症から分離された45株の内当所で入手することができた38株についてパルスフィールドゲル電気泳動法を行った。その結果、同時期に発生した家族内感染と集団発生事例において同一のバンドパターンが見られたことから地域的な発生があったことが確認された。このことから疫学的調査にはこの方法が有用であることが示された。

A. 目的

福島県内で発生した腸管出血性大腸菌0157についてパルスフィールドゲル電気泳動法(以下PFGE)を用いて解析を行い、疫学的調査への有用性について検討した。

B. 研究方法

検査対象は平成13年に福島県内で検出した腸管出血性大腸菌0157 38株を用いた。

それぞれの菌株について性状確認、血清型、RPLA法(デンカ生研)において毒素の保有状況を調べた。

これらについて産生毒素別にCHEF DR III(BIO-RAD社製)を用い、制限酵素Xba Iを使用してDNAを切断後PFGEを行った。泳動は6V/cm、120°、4 to 8 sec 9 hrs、8 to 50 sec 13hrs の条件で行った。

C. 結果

平成13年には52件の腸管出血性大腸菌感染症の発生があり、血清型で見ると0157が45件(87%)、026が7件(13%)であった。当所で入手できた38株を使用した。

PFGEに用いた0157の内訳はVT1 & 2産生株18株、VT2産生株20株であった。それぞれの詳細を表1及び2に示した。血清型は0157:H7が36株、0157:

H-が2株であった。VT1 & 2産生株による患者は17人、保菌者が1人に対してVT2産生株では患者が7人保菌者は13人であった。これらの菌株のPFGEのバンドパターンをVT1 & 2産生株については図1、VT2産生株は図2に示した。

(1)VT1 & 2産生株のバンドパターン

レーン1, 2は高校の合宿に参加した生徒2人から分離された菌のパターンであるが436.5kb以上でバンドが1本異なっていた。レーン11, 12は家族内感染事例でパターンが同一であった。その他は散発事例であるがレーン5, 7, 14, 15, 16のグループ、レーン4, 10, 13のグループに分かれた。レーン3は5, 7, 14, 15, 16のグループとバンドが1本異なっていた。しかし、レーン8はスメア状態になって解析不能であった。また、0157:H-のレーン17, 18のバンドは一致しなかった。

(2)VT2産生株のバンドパターン

レーン2~4は家族内感染事例であり、194kb付近と436.5kb以上において1本ずつ異なる2種類のパターンが見られた。レーン5~20までは野球の試合に参加したスポーツ少年団内で起きた集団発生である。その中のレーン6, 11, 14, 20は患者の菌株で、その他は保菌者である。保菌者のパターンにはバンドが1本多い

ものが3株みられた。それ以外は同一のパターンであった。

D. 考察

VT1 & 2 産生株は散発患者から分離された菌株であったが5、7、14、15、16の同一パターンを示した事例は県北地区、相双地区、いわき市で分離された菌株であり原因食品の究明には至らなかったが県内でこの菌株の侵淫があったと推定された。また、4、10、13のグループについても同様なことがうかがえた。

VT2 産生株のP F G Eにおいては事例17以外はいわき市で発生した事例であり、事例18は家族内感染、事例19は集団発生であった。これらの2つの発生は発生時期が同時期であったことと同一パターンを示したので同じ起源のE H E C 0157(V T 2)による感染と考えられた。

事例18の家族内感染の4株は2種類のパターンが見られたことから複数の菌による感染が考えられた。また、このようなことから1人1菌株についてP F G Eを行うのではなく疫学調査を行うにあたっては1人から複数の分離菌について行うべきと思われた。

E. まとめ

(1)平成13年に福島県内で発生した腸管出血性大腸菌0157 38株についてP F G Eを行い検討した結果、多種類のパターンに分類された

(2)いわき地区において発生した事例18と事例19から分離されたVT2 産生株は同一のパターンであったことから同じ起源のVT2 株による汚染があったことが示唆された。

このことからP F G Eを用いた分類は疫学的調査に有用と思われた。

表1 腸管出血性大腸菌O157(VT1+2)

| PFGEレーン | 事例 | 発症日 | 保健所 | 年齢 | 性別 | 散発/集発 | 区別 | 血清型 | 症状 |
|---------|----|-------------|------|----|----|-------|-----|---------|-------------------|
| 1 | 1 | 2000. 6. 6 | 県北 | 17 | F | 集発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(軟水、粘血) |
| 2 | | 2000. 6. 8 | 県北 | 17 | F | 集発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(軟水、粘血) |
| 3 | 2 | 2000. 6. 16 | 県北 | 49 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(軟水、血) |
| 4 | 3 | 2000. 6. 18 | 県北 | 23 | M | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(軟水、血) |
| 5 | 4 | 2000. 6. 27 | 県北 | 1 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(水、血)、嘔吐 |
| 6 | 5 | 2000. 7. 21 | 県中 | 80 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(血) |
| 7 | 6 | 2000. 8. 11 | 県北 | 21 | M | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(水、血) |
| 8 | 7 | 2000. 8. 11 | 県北 | 34 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(水、血) |
| 9 | 8 | 2000. 9. 8 | 南会津 | 12 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(血) |
| 10 | 9 | 2000. 5. 15 | いわき市 | 9 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(水、血)、嘔気 |
| 11 | 10 | 2000. 6. 27 | いわき市 | 33 | M | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(軟、血) |
| 12 | | | いわき市 | 38 | F | 散発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 13 | 11 | 2000. 7. 25 | いわき市 | 11 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 下痢(軟) |
| 14 | 12 | 2000. 7. 27 | 相双 | 36 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(水) |
| 15 | 13 | 2000. 8. 21 | いわき市 | 9 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(軟、血)、嘔吐、HUS |
| 16 | 14 | 2000. 8. 24 | いわき市 | 9 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(水、血) |
| 17 | 15 | 2000. 8. 31 | 相双 | 40 | F | 散発 | 患者 | O157:H- | 下痢(血) |
| 18 | 16 | 2000. 9. 30 | 県北 | 49 | F | 散発 | 患者 | O157:H- | 腹痛 下痢(水、血) |

表2 腸管出血性大腸菌O157(VT2)

| PFGEレーン | 事例 | 発症日 | 保健所 | 年齢 | 性別 | 散発/集発 | 区別 | 血清型 | 症状 |
|---------|----|-------------|------|----|----|-------|-----|---------|-------------|
| 1 | 17 | 2000. 8. 17 | 県北 | 1 | M | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(血)、血尿 |
| 2 | 18 | 2000. 7. 19 | いわき市 | 12 | M | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢(血)、嘔吐 |
| 3 | | | いわき市 | 45 | M | 散発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 4 | | | いわき市 | 44 | F | 散発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 5 | | 2000. 7. 22 | いわき市 | 17 | F | 散発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 下痢 |
| 6 | 19 | 2000. 7. 18 | いわき市 | 12 | M | 集発 | 患者 | O157:H7 | |
| 7 | | | いわき市 | 45 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 8 | | | いわき市 | 44 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 9 | | | いわき市 | 46 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 10 | | | いわき市 | 16 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 11 | | 2000. 7. 23 | いわき市 | 44 | F | 集発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 |
| 12 | | | いわき市 | 24 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 13 | | | いわき市 | 42 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 14 | | 不明 | いわき市 | 10 | M | 集発 | 患者 | O157:H7 | 軟便 |
| 15 | | | いわき市 | 7 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 16 | | | いわき市 | 38 | F | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 17 | | | いわき市 | 39 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 18 | | | いわき市 | 9 | F | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | |
| 19 | | | いわき市 | 11 | M | 集発 | 保菌者 | O157:H7 | 下痢(水) |
| 20 | | 2000. 7. 20 | いわき市 | 10 | F | 集発 | 患者 | O157:H7 | 腹痛 |

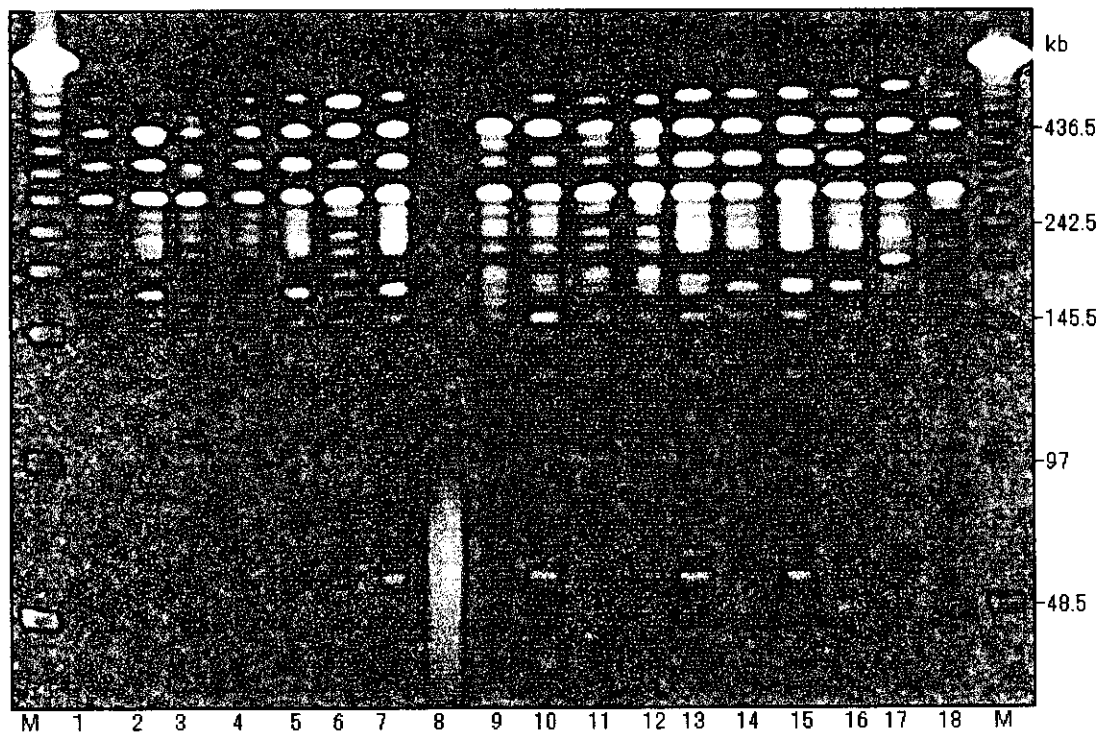


图 1 腸管出血性大腸菌 O157(VT1&2) P F G E

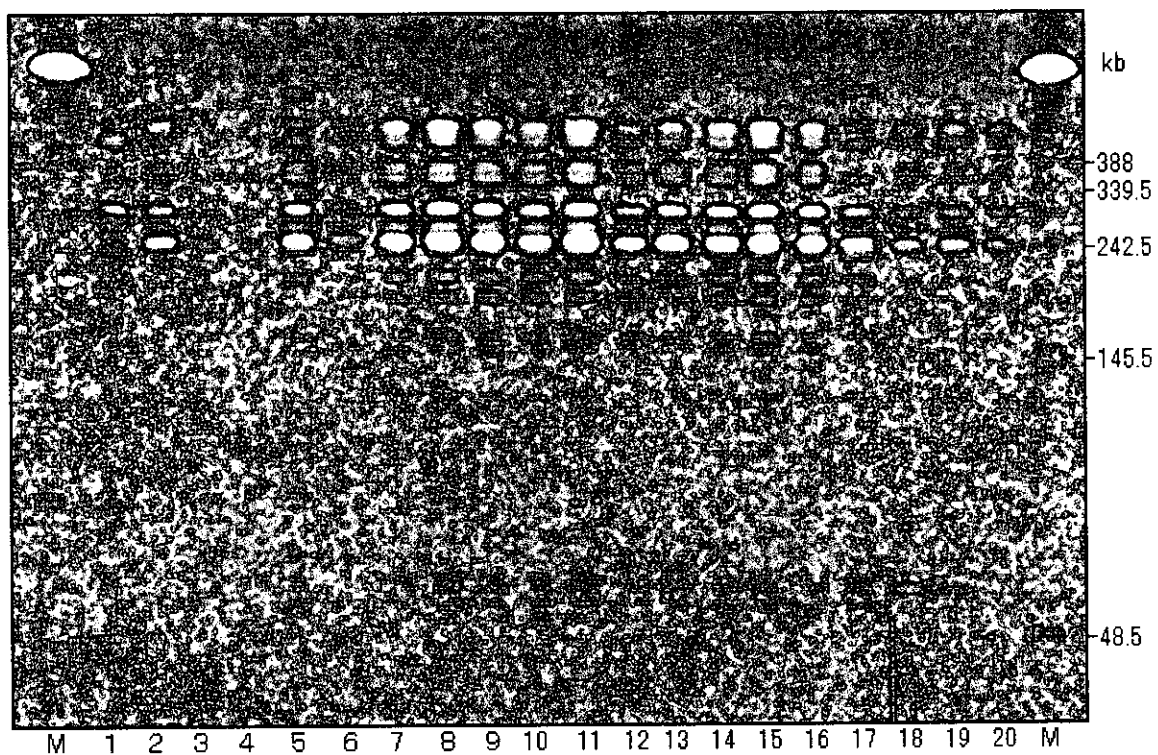


图 2 腸管出血性大腸菌 O157(VT2) P F G E

パルフィールドゲル電気泳動法の標準化および画像診断を基盤とした
分散型システムの有効性に関する研究
山形県衛生研究所 早坂晃一

A. 研究目的

山形県内における平成 13 年の腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症発生状況をまとめ、その動向を調べるとともに、分離された EHEC O157 (以下 O157) について、パルフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) により菌株の比較を実施し、疫学的検討を行った。

B. 研究方法

平成 13 年に山形県内で発生があった EHEC 感染症の情報を収集した。同時に、EHEC 感染者から分離された菌株を収集し、それぞれの菌株について性状確認の後、市販の病原大腸菌免疫血清を用い血清型別した。また、PCR 法により VT1、2 毒素型別及び他の腸管病原性大腸菌 (EPEC) 関連の病原性遺伝子 (*eaeA*、*astA*) の保有状況を調べた。PFGE による菌株比較は O157 52 株について行った。PFGE は常法によりゲルブロックを作成後 1% アガロースゲルにアプライした。Gene Path System (BIO-RAD) をもちい、国立感染症研究所の条件で泳動を行い、泳動終了後エチジウムブロマイドで染色、紫外線下で泳動パターンを観察した。

C. 研究結果

1. 平成 13 年の EHEC 感染症発生状況

平成 13 年に山形県で発生があった EHEC 感染者数を表 1 に示した。感染者数は O157 が 27 事例 52 人 (患者 31 人、健康保菌者 21 人) O26 が 6 事例 8 人 (患者 6 人、健康保菌者 2 人) O103 が 1 事例 (患者 1 人) 及び OUT が 1 事例 (健康保菌者 1 人) であった。感染者数事例数ともに本県としてこれまでの最高であった。患者の年齢は 10 歳未満が 15 人、60 歳以上が 8

人、20 歳台が 6 人であった。患者または感染者発生に伴う検便で新たな患者や健康保菌者が 35 事例中 14 事例で確認された。1 事例は焼き肉屋が感染の原因と考えられるもので、焼き肉屋の主人も健康保菌者であった。また、業態者検便で 5 人が保菌者として検出され、2 人は家族内にも保菌者が確認された。事例発生は 7 月、8 月の夏期に多かったが 3 月、11 月、12 月の寒い時期にも発生があった。

2. 分離菌の性状

35 事例から分離された EHEC の血清型、毒素型を表 2 に示した。起因菌の O 血清型の割合は事例数として O157 が 27/35 (77.1%)、O26 が 6/35 (17.1%) で O157 によるものが多かった。O103 は患者発生に伴う検便で、OUT は業態者検便で検出された。血清型 O157:H7、毒素型 VT1,2 のタイプのものが 22 事例と一番多かった。*eaeA* 遺伝子は O103 及び OUT の 2 株を除く全ての株が保有していた。*astA* 遺伝子を保有する株はなかった。

3. PFGE による O157 菌株の比較

27 事例の感染者から分離された O157 52 株を PFGE により菌株の比較をした。その結果、27 事例 52 株が 17 のパターンに分類された (表 3)。パターンを便宜的に A~L とした。事例内の PFGE パターンは 1~2 バンド違いのものもあったが、基本的に同一のものと思われた。

C と分類したパターンは 4 事例間で同一パターンを、A、L、O と分類したパターンはそれぞれ 3 事例間で同一パターンを、H と分類したパターンは 2 事例間で同一パターンを示した。C、H、O と分類したパターンの事例は発病時期、発生地域が近接していた。L と分類したパターンの事例は、発生地域は近接している

が発病時期が8月と12月であった。A、C、H、L、Oの 패턴の事例はいずれも事例間に関連性を見いだせなかった。

北海道立衛生研究所からサイコロステーキ関連患者由来株の PFGE 画像をメールで送ってもらい当所で実施した画像と照合したところ、Aと分類した事例1、事例2及び事例16の图案が極めて類似していた。それぞれの事例においてサイコロステーキとの関連は見いだせなかった。

事例3は、3月に関東地方で牛タタキを原因とした事件との関連性の可能性が考えられたため、千葉県衛生研究所から牛タタキ関連患者由来株の PFGE 画像をメールで送ってもらい、当所で実施した PFGE 画像と照合した。その結果極めて類似している PFGE パターンであることがわかった。同時に国立感染症研究所に株を送り一連のものであるとの成績を得た。

事例17は感染源の可能性の一つとして箱根の旅館があったもので、同時期に複数の県で感染者が認められ関連が疑われた。当所で実施した PFGE の画像を神奈川県に送付し照合したところ、異なるということで箱根の旅館が原因施設とは決められなかった。

D. 考察

本県における平成13年の EHEC 感染症発生状況は過去数年に比べ変化がみられた。過去数年間は O157 の比率が事例数で 50%以下であったが、本年は事例数で 77%、感染者数で 84% と O157 の比率が増加した。一方 non-O157 は事例数、感染者数ともに減少した。また、EHEC 感染症全体の年間発生事例数、感染者数とも過去最高であった。後述する地域的な diffused outbreak のため増加しているとも考えられた。

PFGE パターンが事例間で同一と考えられるものが5組認められた。5組とも事例間に疫学的関連性を見いだすことはできなかったが、時

期や地域の近接性もみられるなど地域における diffused outbreak であった可能性も考えられた。今後、菌株の収集及び PFGE による菌株の比較を速やかに行い、データが担当部局においてリアルタイムで活用される体制作りが必要である。このことが、より深く掘り下げた疫学調査に結びつくこととなり、感染源特定の可能性を高める要因となりうる。感染源を特定することは感染症の拡大を防止し、新たな感染症の発生を減少させる上で極めて重要である。

特定のサイズスタンダードを付けた PFGE 画像をネットでやりとりすることは広域の diffuse outbreak の探知や複数の県に患者が存在するような場合、感染の原因となった施設を特定するうえで極めて有効な手段と考えられる。

E. 結論

平成13年山形県で過去最高の35事例62人の腸管出血性大腸菌感染症が確認された。特に O157 の事例が約8割と多くを占め、ここ数年 non-O157 が約半数を占めていた状況と異なっていた。

O157 感染者から分離された菌株の PFGE パターンは 17 パターンに分類された。5種の图案が4~2事例間で同一の图案を示した。事例間の関連は得られなかったが地域的な diffused outbreak の可能性も考えられた。

ネットを利用した PFGE 画像のやりとりによる菌株の比較は広域的な diffused outbreak の探知や感染源の特定に極めて有効と思われた。また PFGE の結果を担当部局の疫学調査に生かすため、リアルタイムに近い条件で PFGE が実施できる体制作りの必要がある。

F. 研究発表

なし

表1 平成13年のEHEC感染者数

| O血清型 | 事例数 | 感染者数 | 患者数 | 健康保菌者数 |
|------|-----|------|-----|--------|
| O157 | 27 | 52 | 31 | 21 |
| O26 | 6 | 8 | 6 | 2 |
| O103 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| OUT | 1 | 1 | 0 | 1 |
| 合計 | 35 | 62 | 38 | 24 |

表2 平成13年にEHEC感染事例から分離された菌の血清型、毒素型

| O血清型 | H血清型 | 毒素型 | 事例数 |
|------|------|-----|-----|
| 157 | 7 | 1,2 | 22 |
| | | 2 | 2 |
| | — | 1,2 | 2 |
| | | 2 | 1 |
| 26 | 11 | 1 | 4 |
| | — | 1 | 2 |
| 103 | 2 | 1 | 1 |
| UT | 21 | 1 | 1 |

表3 平成13年EHEC(O157)発生状況とPFGEパターン

| 事例番号 | 発病/採材時期 | 感染者居住地域 | 感染者数 | 患者数 | H血清型 | 毒素型 | PFGEパターン |
|------|-----------|---------|------|-----|------|-----|----------|
| 1 | 3/4 | 置賜 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | A |
| 2 | 3/21 | 庄内 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | A |
| 3 | 3/25 | 村山 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | B |
| 4 | 5/31 | 置賜 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | C |
| 5 | 6/4 | 置賜 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | C |
| 6 | 6/2~9 | 置賜 | 3 | 3 | 7 | 1,2 | C |
| 7 | 6/21 | 村山 | 1 | 1 | — | 2 | D |
| 8 | 6/6 | 置賜 | 1 | | 7 | 1,2 | C |
| 10 | 7/6 | 置賜 | 4 | 2 | 7 | 2 | E |
| 12 | 7/20~28 | 村山 | 2 | 1 | 7 | 1,2 | F |
| 13 | 7/24~31 | 村山 | 2 | 1 | 7 | 1,2 | G |
| 14 | 7/29~8/9 | 庄内 | 6 | 1 | 7 | 1,2 | H |
| 15 | 7/30 | 置賜 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | I |
| 16 | 8/7 | 置賜 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | A |
| 17 | 8/7~10 | 村山 | 2 | 2 | 7 | 2 | J |
| 18 | 8/3~13 | 庄内 | 2 | 1 | 7 | 1,2 | H |
| 19 | 8/7~11 | 庄内 | 3 | | — | 1,2 | K |
| 20 | 8/8 | 村山 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | L |
| 22 | 8/25~8/30 | 村山 | 5 | 2 | 7 | 1,2 | L |
| 23 | 8/24 | 村山 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | M |
| 25 | 8/31 | 村山 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | N |
| 27 | 9/24 | 置賜 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | O |
| 29 | 9/22 | 庄内 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | P |
| 30 | 10/9~13 | 置賜 | 2 | | 7 | 1,2 | O |
| 31 | 10/14~20 | 置賜 | 3 | 3 | 7 | 1,2 | O |
| 33 | 11/10 | 庄内 | 1 | 1 | 7 | 1,2 | Q |
| 35 | 12/5~9 | 村山 | 3 | 1 | 7 | 1,2 | L |
| 27事例 | | | 52人 | 31人 | | | 17パターン |

パルスフィールドゲル電気泳動法（Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE）の標準化及び画像診断を基盤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 甲斐 明美 東京都立衛生研究所・微生物部

研究要旨： 腸管出血性大腸菌O157等による感染症・食中毒事例をいち早く探知し、感染源や原因食品を解明することによって、その蔓延を防止する。その手段として、菌学的情報システム（パルスネット）を構築するために、関東甲信静ブロックの11地方衛生研究所で共同研究を行った。

各研究所は、実際に発生した集団および散発事例の分離株について、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による解析を実施し、非常に有効であった事例を数多く確認した。さらに、PFGE画像の電送を相互に行った。PFGE画像の目視による比較においても、事件発生直後の早い情報は感染源解明のために非常に有効であった。このような手段が非常に有効に発揮され、原因食品の解明にまで繋がったDiffuse Outbreak事例として、「牛タタキ」を原因とした腸管出血性大腸菌O157事例(2001年3月)、「和風キムチ」を原因とした腸管出血性大腸菌O157による事例(2001年8月)が特記される。このように、パルスネット構築のための環境整備がかなり図られてきた。しかし、PFGE解析手法の統一化等に一部の問題点も認められた。また、画像解析のためのプログラムソフトを用いて一部試行したが、技術的な問題点の解決には、更に研究が必要であった。

A. 研究目的

食中毒や感染症の集団発生やDiffuse Outbreakを迅速に発見し、その拡大を防止するために、PFGE法により解析された成績を菌学的情報システム（パルスネット）に結合するための環境整備を図る。本研究では、関東甲信静地域に分散する11地方衛生研究所においてPFGE解析を行い、主に以下の3点について検討した。

1. 腸管出血性大腸菌O157等による集団および散発の感染症・食中毒事例

の分離株を対象にPFGE解析を行い、PFGE技術の確認と有用性を検討する。

2. 腸管出血性大腸菌O157のPFGE解析画像を研究所間で電送することにより相互交換の有用性を検討する。必要ならば、菌株の交換を行い、同時にPFGE解析を試みる。

3. 各衛生研究所でPFGE解析し、電送された画像を基に東京都立衛生研究所で画像解析のためのプログラムソフトを用いて解析を試み、パルスネット構築を図る。

B. 研究方法

1. PFGE法による解析

各研究所で分離された腸管出血性大腸菌O157を中心に、PFGE用DNAブロックを作製する。そして、制限酵素 *Xba*I で処理後、PFGE解析を行う。

2. PFGE解析成績の電送

各研究所で解析したPFGE画像を、電子メールで添付ファイルとして相互に送付し、各自の研究所で実施されたPFGE解析画像を比較検討する。

3. 配布された画像解析のためのプログラムソフト GelCompar II を用いて解析を試みる。

C. 研究結果

1. PFGE解析が有効に活用された事例

10研究所で合計17事例についてPFGE解析を行い、疫学解析として非常に有効に活用できた。各事例の概要は後述の通りである。

2. PFGE解析画像の電送による交換
各研究所で解析したPFGE画像を、事件発生後出来るだけ早い時期に、電子メールで添付ファイルとして送付し、各自の研究所で分離・解析した結果と比較検討した結果、感染源解明に実際に有効に活用できた。特に、「牛タタキ」を原因とした腸管出血性大腸菌O157事例（2001年3月）、「和風キムチ」を原因とした腸管出血性大腸菌O157による事例（2001年8月）は、いずれも関東地方の複数県にまたがるDiffuse Outbreakであり、早期のPFGE解析結果の電送は、原因食品の解明にまで繋がった。代表的な電送成績は後述の通りで

ある。

3. 画像解析のためのプログラムソフトを用いての解析

電送されたPFGE画像を対象に、プログラムソフト GelCompar II を用いて解析を試みたが、目視と異なり、コンピュータ上では更に厳密な方法の統一化と鮮明な泳動像が必要であった。そこで、再度DNAブロック作製方法、PFGE泳動条件等をアンケートで調査した結果、細部で違いが確認された。

D. 考察

各研究所は、いずれも実際に発生した集団および散発の感染症・食中毒事例について、独自にPFGE法による解析を実施し、非常に有効であった事例を多数確認し、パルスネット構築のための環境整備が図られていることが明らかとなった。

また、PFGE泳動像を電送することにより、研究所間での菌株の比較がある程度可能であった。この方法は、簡単であり、感染源調査の方向性を決定するのに非常に有用であることが確認された。

更に、腸管出血性大腸菌O157を各研究所でほぼ同一の条件下でPFGE解析を行い、その成績を都立衛生研究所に電送して画像解析のためのプログラムソフトを用いて解析を試みた結果、研究所間に未だ手法上の差があり、コンピュータを用いて解析するためには、更に詳細な方法の統一化の必要性が示唆された。

E. 結論

関東甲信静に分散する11地方衛生研究所は、いずれも実際に発生した集団および散発の感染症・食中毒事例について、独自にPFGE法による解析を実施し、非常に有効であった事例を確認し、パルスネット構築のための環境整備が図られていることが明らかとなった。

一方、各研究所で解析したPFGE解析画像を、事件発生後出来るだけ早い時期に電送することは、Diffuse Outbreakの解明に非常に有効であり、原因食品の解明にまで繋がった。

電送されたPFGE画像を対象に、プログラムソフト GelCompar II を用いて解析するためには、更に詳細な方法の統一化の必要性が示唆された。

F. 研究発表

畠山 薫, 「和風キムチによる0157感染事例について」-0157分離株の疫学マーカーによる解析と散発型集団発生事例の検査成績-, 第14回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会2002 (横浜市)

斉藤章暢, 「和風キムチによる0157感染事例について」-埼玉県における集団発生事例について-, 第14回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会, 2002 (横浜市)

尾関由姫恵他, 埼玉県内の腸管出血性大腸菌検出状況2001-今後の感染症原因究明に向けて-, 第76回日本感染症学会総会, 2002 (東京都)

小西典子他, ペットが関与したと推定されるサルモネラ血清型Typhimuriumによる散発下痢症3事例について, 第76回日本感染症学会総会, 2002 (東京都)

野田裕之他, 散発下痢症患者由来*Salmonella* serover Enteritidisの分離頻度と諸性状 (1996~2000), 第76回日本感染症学会総会, 2002 (東京都)

G. 知的所有権の取得状況

なし

H. 研究協力機関および代表者

| | |
|--------------|-------|
| 茨城県衛生研究所 | 増子京子 |
| 栃木県保健環境センター | 長 則夫 |
| 群馬県衛生環境研究所 | 黒澤 肇 |
| 埼玉県衛生研究所 | 倉園貴至 |
| 千葉県衛生研究所 | 小岩井健司 |
| 神奈川県衛生研究所 | 鈴木理恵子 |
| 横浜市衛生研究所 | 武藤哲典 |
| 山梨県衛生公害研究所 | 金子通治 |
| 長野県衛生公害研究所 | 関 映子 |
| 静岡県環境衛生科学研究所 | 川森文彦 |

I. PFGE 解析が有効に活用された事例

1. 東京都立衛生研究所

- 1) 牛タタキによる広域的散発事例
- 2) 焼肉店による腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例
- 3) 和風キムチを原因とする Diffuse outbreak

2. 茨城県衛生研究所

- 1) 当研究所で経験した食中毒および散発事例について

3. 群馬県衛生研究所

- 1) 腸管出血性大腸菌 O157 散発事例

4. 埼玉県衛生研究所

- 1) 老人保健施設における集団発生事例 1
- 2) 老人保健施設における集団発生事例 2
- 3) 「和風キムチ」による腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例

5. 千葉県衛生研究所

- 1) 牛タタキを原因とする O157 : H7 による広域集団感染事例
- 2) 埼玉県で分離されたキムチ分離株と同一の泳動パターン (グループ) と考えられた O157 : H7 の解析

6. 神奈川県衛生研究所

- 1) 毒素原生大腸菌 O169 : NM による食中毒の一事例について
- 2) T 焼肉チェーン店を原因とする腸管出血性大腸菌 O157 感染事例

7. 横浜市衛生研究所

- 1) 仕出し弁当を原因とした腸管出血性大腸菌による食中毒事例

8. 山梨県衛生公害研究所

- 1) 生かきが原因食品と推定された赤痢菌による食中毒事例

9. 長野県衛生公害研究所

- 1) 焼肉 K 店における腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例

10. 静岡県環境衛生科学研究所

- 1) ホテルで発生した黄色ブドウ球菌食中毒事例
- 2) 東部地区を中心に発生した赤痢菌感染事例

1. 東京都立衛生研究所

事例1 牛タタキによる広域的散発事例

原因菌：腸管出血性大腸菌 O157 : H7 (VT1+VT2 産生)

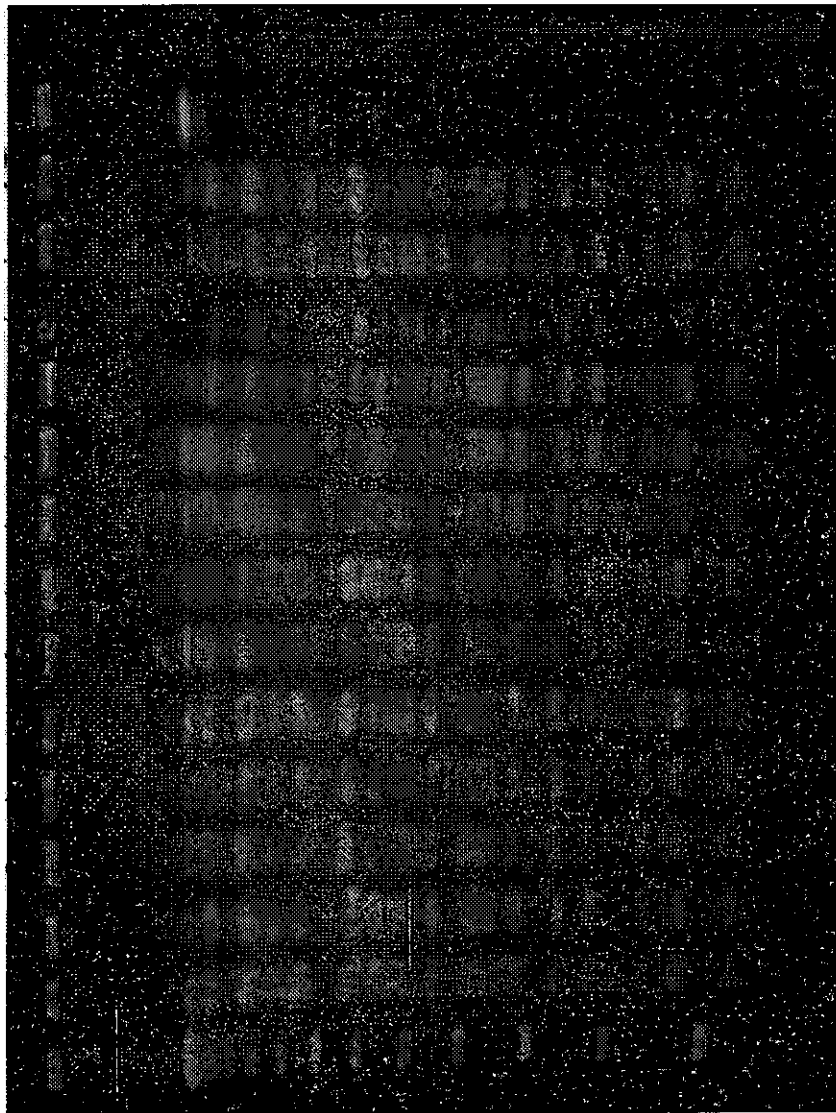
概要：平成 13 年 3 月下旬から千葉県を中心に発生した腸管出血性大腸菌 O157 による散発事例は、その後患者が 1 都 6 県にもおよぶ広域的散発事例となり、東京都内でも、最終的に 7 名の患者が確認された。患者判明の過程について報告する。

S 区には 2 家族 5 名の感染者がおり、一方の家族は 3 月 12 日～16 日に牛タタキを喫食しており、2 名が発症、事件が報道されたことから、店に苦情を寄せたことで判明した（家族 A）。もう一方の家族は 3 名が発症、内 1 名から O157 が分離された。さらに無症状の家族 2 名からも O157 が分離された。これら 3 菌株の PFGE パターンが一致したので喫食調査を行ったところ、牛タタキやローストビーフを喫食していたことが判明した（家族 B）。A 区には 1 家族 2 名の発症者がいたが、行動調査時、牛タタキとローストビーフの喫食について記憶していなかった。しかし、菌株の PFGE パターンが本広域的散発事例由来株と一致したこと、再調査の結果、家庭から購入店のレシートが見つかり牛タタキの喫食が確認されたことから、牛タタキを原因とした食中毒と判定した（家族 C）。

牛タタキ関連、都内感染者

| 家族 | 地域 | 発症者および菌検出者 | 判明の過程 |
|-----|----|--------------------------------------|-------------------------------------|
| 家族A | S区 | 発症者 2名 →菌検出者 2名 | 牛タタキ喫食→事件報道後、店に苦情 →PFGEパターンの一致 |
| 家族B | S区 | ①発症者 3名 →菌検出者 1名 ②無症状者2名からも菌検出 | 牛タタキ、ローストビーフ喫食 →PFGEパターン一致 |
| 家族C | A区 | 発症者 2名 →菌検出者 2名 | 喫食記憶無し→PFGEパターンの一致 →レシートから牛タタキ判明 |

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 111213 M



1. 千葉県衛研 T-38
2. O宅① T-38
3. O宅② T-38
4. O宅③ T-38
5. C宅① T-38
7. C宅③ T-38b
8. K宅① T-38
9. K宅② T-38
10. KW宅① T-38
11. KW宅② T-38
12. 埼玉衛研 T-38
13. OK宅 T-38

牛タタキによる0157食中毒事例患者由来株のPFGEパターン

事例2 焼肉店による腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例

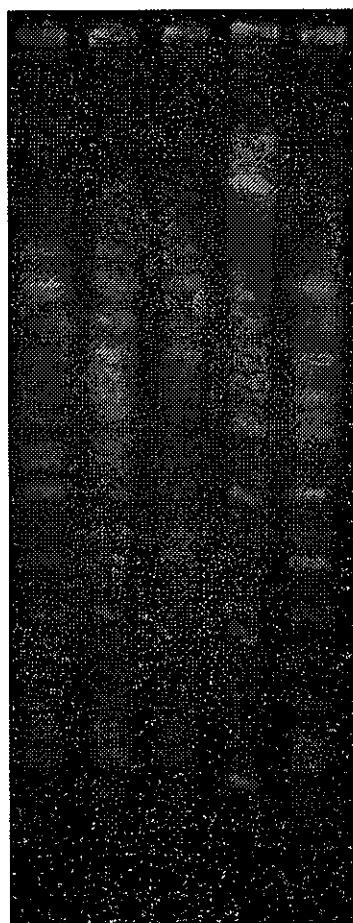
原因菌：腸管出血性大腸菌 O157 : H7 (VT1+VT2)

概要：2001年7月27日、入院中の母親から O157、娘の糞便からペロ毒素が検出された。届け出を受けて、家庭の拭取り、食品を検査したところ、いずれも陰性であった。しかし喫食調査から、娘が発症する2日前に、焼肉屋でレバ刺し、石焼きビビンバ、ユッケビビンバ等を家族で喫食していることが判明した。その後、非発症者の父親からも菌が検出されたことから、当該焼肉店について施設の拭取り、食品、従業員検便の検査を実施した。検査の結果、拭取り検体（流しの拭取り）と従業員1名から O157 が検出された。検出された菌株について PFGE 解析を行った結果、患者由来株と従業員由来株の遺伝子パターンが一致した（流しの拭取り由来株とは一致しなかった）。さらに患者2名と従業員の接点が、該当焼肉店以外には無いことから、当該焼肉店を原因施設と断定した。

検査結果

| | | |
|---------|------------------|-------|
| 母 入院・発症 | O157:H7(VT1+VT2) | T-39 |
| 父 非発症 | O157:H7(VT1+VT2) | T-39 |
| 娘 発症・入院 | ペロ毒素(+) | |
| 焼肉屋 | | |
| 従業員 | O157:H7(VT1+VT2) | T-39 |
| 拭取り(流し) | O157:H7VT2) | T-11c |

1 2 3 M 4



- 1. 父 T-39
- 2. 母 T-39
- 3. 従業員 T-39
- M. Lambda
- 4. 拭き取り T-11c
(流し)

焼肉店を原因としたO157食中毒事例の PFGEパターン

事例3 和風キムチを原因とする Diffuse outbreak

原因菌：腸管出血性大腸菌 O157 : H7 (VT1+VT2 産生)

概要：(1) 事件の探知 2001年8月27～28日にかけてH市内でO157散発事例が3件発生した。保健所の調査で、患者らはAスーパーの従業員および利用者であることがわかったが、原因食品を推定することはできなかった。また、近隣するHM市でも同時期に4件の発生があった。患者はAスーパーと同系列のBスーパーを利用していることがわかったが、原因を推定するには至らなかった。

(2) 共同調査 これらの事例は、発症日時、特定地域での散発発生で、家族に感染者が多く、比較的小さなスーパーが疑われるなどの共通性があった。そのため、9月5日担当する3保健所および全体をまとめる東京都衛生局の担当者、そして衛生研究所の担当者による合同会議が行われた。この時点での3市内における感染者の調査結果は表のとおりであった。

表 3市内におけるO157感染者の調査結果

| | H市 | HM市 | K市 | 3地域の関連性 | |
|--------|--------------|--------------------|---------------|---------|----------------|
| 感染者数 | (10名) | (3名) | (5名) | | |
| 地域性 | 散発型 | 散発型 | 散発型 | 無 | 散発型発生 |
| 発生時期 | 8/21～28 | 8/25, 8/26 | 8/18, 8/22 | 有 | 近似 |
| 牛肉・加工品 | 全員に共通する食事はない | 1家族が牛タタキを喫食 | 関連は不明確 | 無 | 牛肉の関与は見いだせず |
| 飲食店の関与 | 外食しない家族が多い | ファーストフード、ファミリレストラン | 患者は2名とも外食しない。 | 無 | 外食の共通性否定 |
| 量販店の関与 | スーパーA(2店舗) | スーパーB(1店舗) | スーパーB(2店舗) | 有 | スーパーAB間の系列関与なし |

更に、H市関連のO157分離菌はO157:H7(VT1+VT2)でPFGEパターンも一致した。これらの成績をもとに、以下の事を推測した。

- ①スーパーABに共通した流通食品が同時期に販売された。
- ②O157に汚染された原材料を使用したサラダ、総菜等。
- ③汚染された肉類を原材料等に使用し、各ショッピングストアの調理場内における交差汚染による食中毒。

会議の結果から「和風キムチ」が共通の食品として浮上した。

(3) 和風キムチの特定 患者が喫食していた「和風キムチ」の仕入れ先を調査した結果、当該和風キムチは埼玉県の下物製造者の製品であることが確認された。また、埼玉県からの情報提供として、埼玉県内の集団給食施設で発生した O157 による集団食中毒事例で提供された献立に、和風キムチが使用されていたことが明らかとなった。埼玉県と菌株の相互交換を行い、PFGE パターンを比較したところ、遺伝子パターンが一致した。これらの結果から、東京都および埼玉県で発生した O157 事例は、すべて当該下物業者製造の「和風キムチ」を原因とする食中毒事件と断定した。最終的に都内での和風キムチによる O157 感染者は 10 家族 28 名であった。