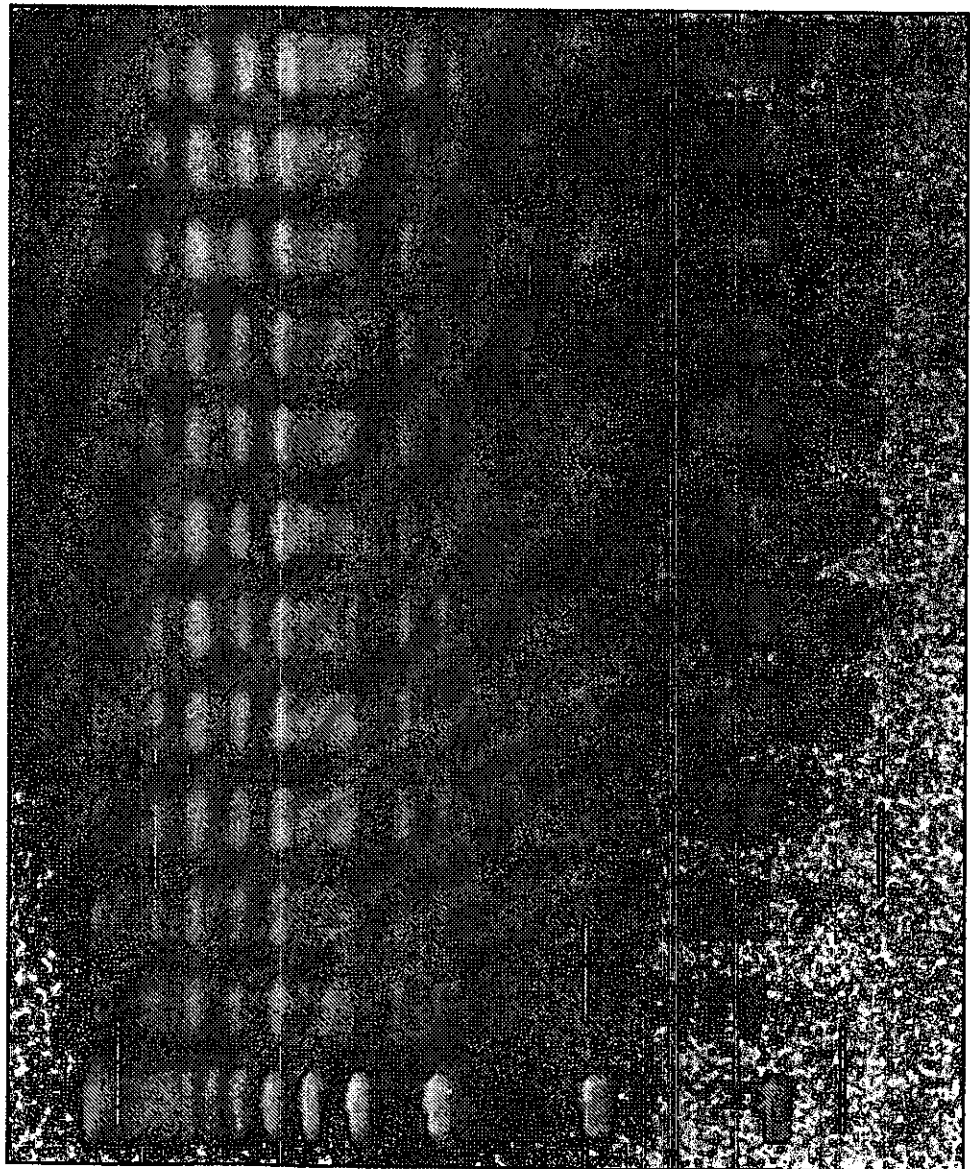


PFGE型

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11



M : Lambda  
 1 : 患者K (Y店従業員)  
 2 : 患者K家族①  
 3 : 患者K家族③  
 4 : Y店従業員n  
 5 : Y店従業員h  
 6 : 患者y (Y店従業員)  
 7 : 患者t (Y家族)  
 8 : 患者a (M店利用)  
 9 : }  
 10 : } 患者A家族  
 11 : }

PFGE型  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d  
 T-39d

# 八王子集団例のPFGEパターン

## 2. 茨城県衛生研究所

### パルスネット研究班報告

#### 1) 当研究所で経験した食中毒及び散発事例について

##### 概要

2001年5月頃から全国各地において報告のあったO157による事例は、埼玉県の商品会社が製造した「和風キムチ」が感染源とされた。茨城県においても、散発例が「和風キムチ」を喫食した患者のPFGEの泳動パターンと一致し、「和風キムチ」の喫食が推測された。

病因物質 *E.coli* (O157:H7) VT1&2

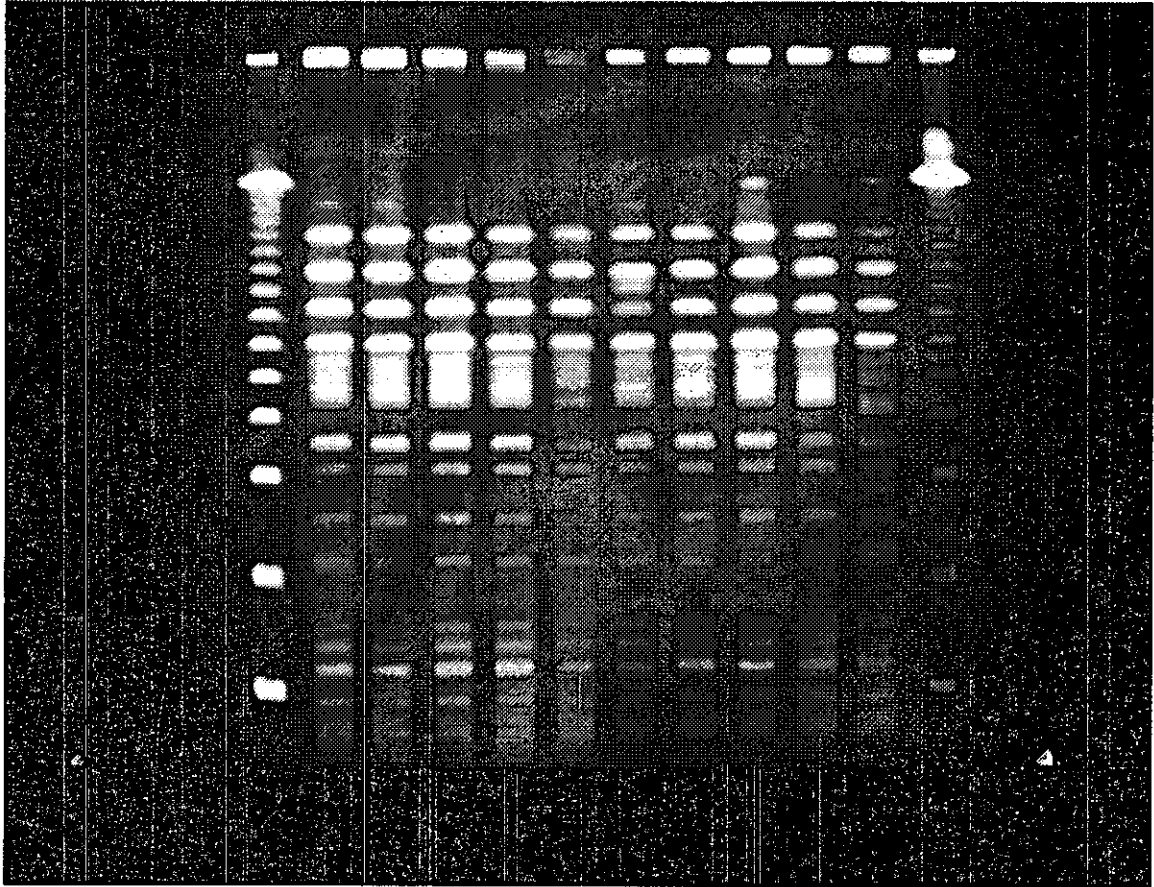
原因と思われる食品 「和風キムチ」

PFGE 散発例分離株10株のXba Iで消化後の泳動パターンがほぼ一致。

「和風キムチ」による感染を逆に察知できた。

しかし、遡って喫食調査をおこなっても喫食の有無は不明のままであった。

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



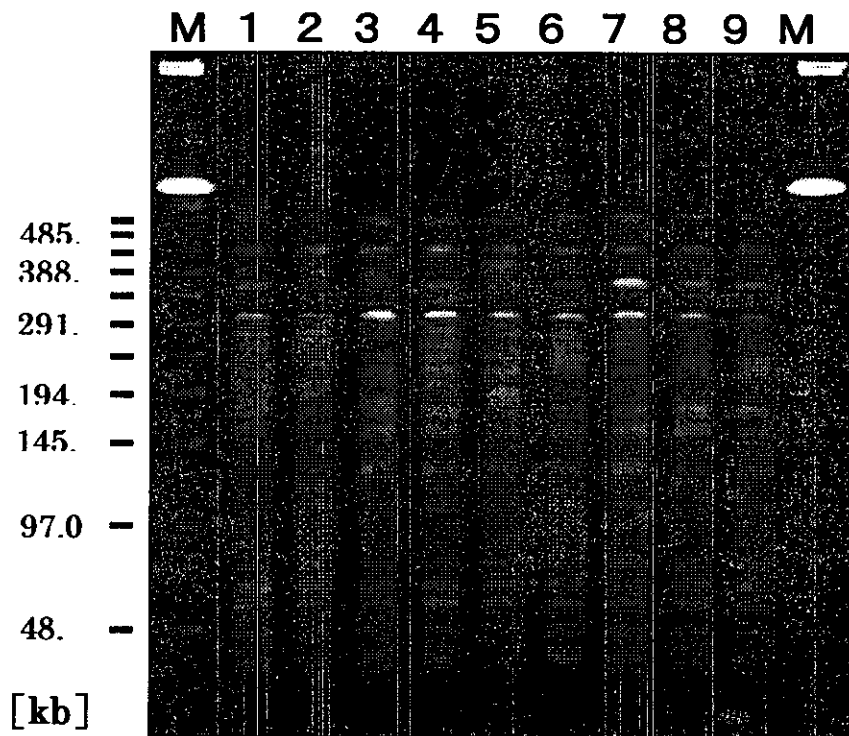
- 1.~4. 感染研 IIa IIa I キム子喫食不明  
 5.~7. 感染研未提出 キム子喫食不明  
 8. 感染研 IIa IIa I キム子喫食不明  
 9. 感染研 IIa IIa I キム子喫食有(銘柄不明)  
 10. 感染研 IIa IIa I キム子喫食不明

泳動条件  
 4-8sec 9hr.  
 8-50sec. 13hr.

### 3. 群馬県衛生研究所

#### 腸管出血性大腸菌 O157 散発事例（群馬）

2001年5月以降、県内の医療機関から下痢を主訴とする患者から腸管出血性大腸菌 O157 を検出したとの届出が管轄の保健所に相次いだ。感染症法に基づきそれぞれ疫学調査は進められたが、感染源の特定に至らなかった。また、患者の家族には健康保菌者も存在した。当所での分離株の同定結果は、全て O157:H7(VT1&VT2 産生)の性状で、薬剤感受性試験は使用した 12 剤に感受性であった。PFGE を実施して菌株の相同性を確認し、近県の衛生研究所に照会したところ、同一の DNA パターンを示すことが確認され、広域事例との関連が推定された。そして、県南部に発生の多いことから、1997年から2000年頃にこの地域で分離された株と PFGE での DNA パターンを比較したが、今回の散発事例の株とは全て異なっていた。国立感染症研究所の PFGE 解析では、首都圏で頻発している IIa, IIa, I のパターンで、他県から送付された O157 株には近似する 3 種のパターンが存在していた。



**EHEC O157 : H7 (VT1&VT2) 分離株 PFGE パターン**

制限酵素 : *Xba* I

M : *Lambda* Ladder

1~5 : ヒト由来株(1997年~2000年)

6~9 : ヒト由来株(2001年, 首都圏関連散発事例)

Lane6~9 は Lane 1~5 の DNA 切断パターンと異なり、

Lane7 は 240Kb 付近のバンドが Lane6, 8, 9 と異なる。

## 4. 埼玉県衛生研究所

### 腸管出血性大腸菌 O157 による集団感染例（2001 年）

#### 事例 1

##### 老人保健施設における集団発生事例 1

2001 年 5 月下旬、県内の老人保健施設（長期入所者 49 名）で集団下痢症が発生した。検査の結果、入所者、施設利用者及び患者家族 13 名から腸管出血性大腸菌 O157:H7（VT1&2）が検出された。一方、給食従事者を含む施設職員からは分離されなかった。症例の発生した状況から 5 月 16 日に施設で提供された昼食あるいはおやつが原因として疑われたが検食量が不十分で細菌検査が十分に行えなかったため原因食品の同定までには至らなかった。

#### 事例 2

##### 老人保健施設における集団発生事例 2

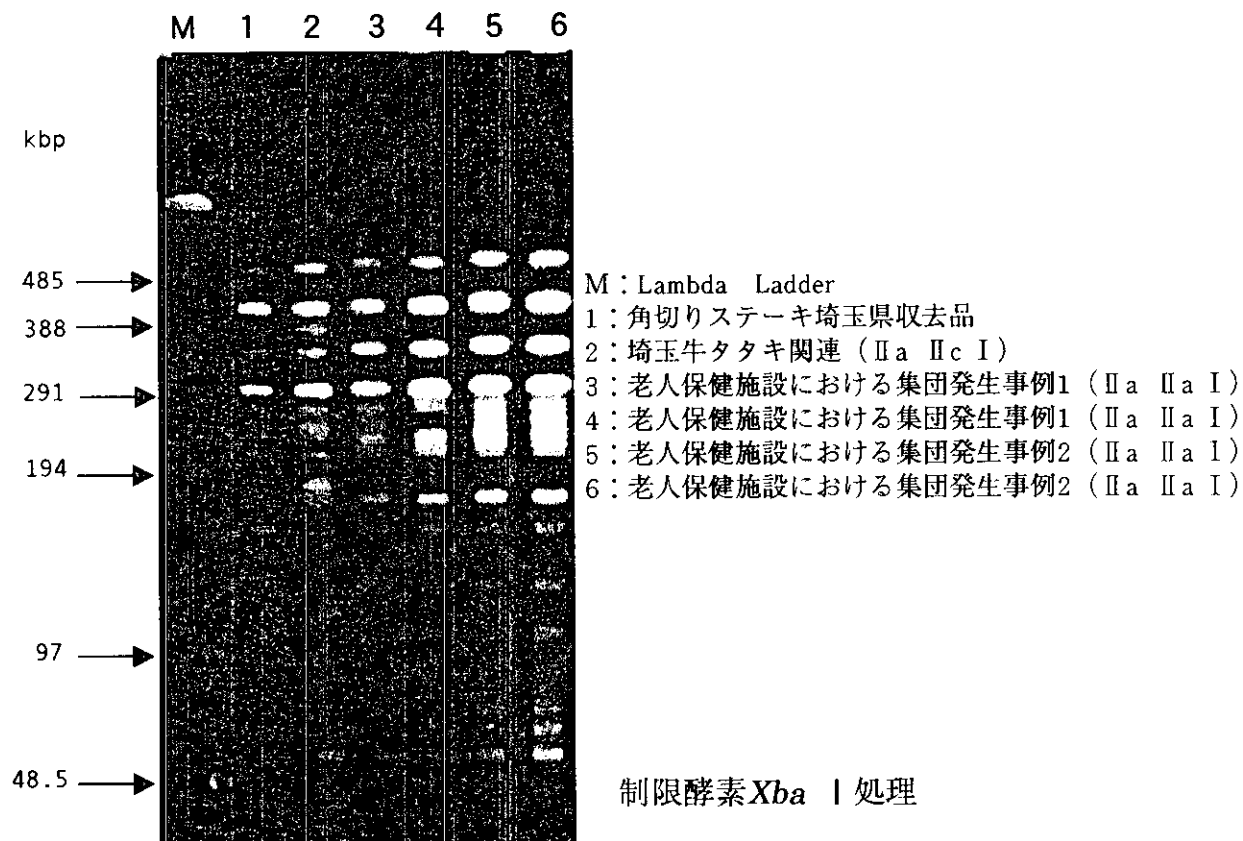
2001 年 7 月下旬、県内の老人保健施設（長期入所者 50 名）で集団下痢症が発生した。検査の結果、入所者 4 名から腸管出血性大腸菌 O157:H7（VT1&2）が検出された。検食からは菌が検出されず、委託給食会社が共通の食事を提供していた病院、保育所からは患者の発生報告がみられなかったことなどから施設内での接触感染が疑われたが、感染源、感染経路は不明であった。

#### 事例 3

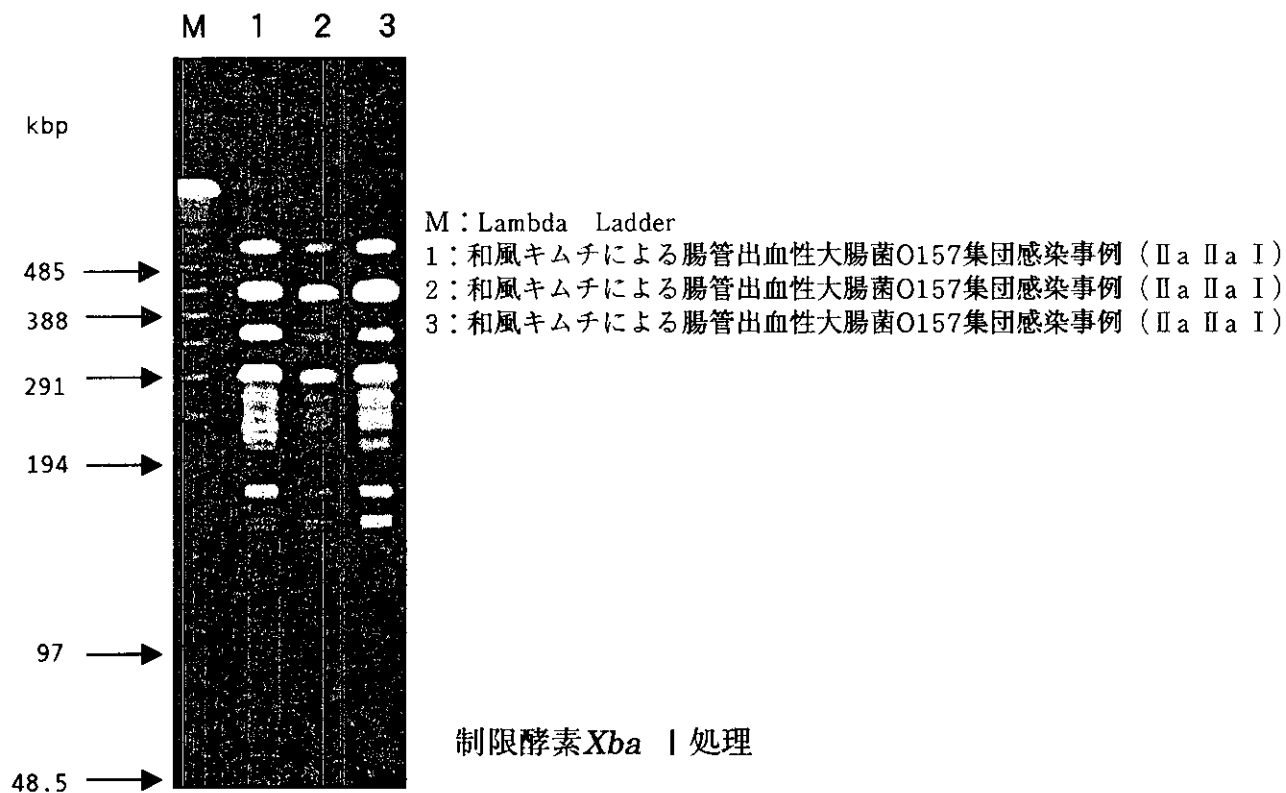
##### 「和風キムチ」による腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例

埼玉県内にある全寮制の児童自立支援施設の生徒等 13 名が 2001 年 8 月 24 日から食中毒様症状を呈し、うち 5 名が入院した。患者及び関係者 90 名の細菌検査により、29 名から腸管出血性大腸菌 O157:H7（VT1&2）が検出された。給食の保存検食及び環境材料から当該菌は検出されなかったが、喫食調査や他県の発生状況及び調査から県内で製造された「和風キムチ」が疑われた。散発事例で和風キムチを喫食した患者宅から搬入された和風キムチの残品から腸管出血性大腸菌 O157:H7（VT1&2）が分離された。和風キムチから分離された菌株と集団例や散発例で和風キムチを喫食したことが確認された患者の分離株の PFGE パターンが一致していたことから今回の集団発生の原因は、この和風キムチであると推定した。

## 事例 1 及び 2



## 事例 3



## 5. 千葉県衛生研究所

2001年に千葉県で分離された腸管出血性大腸菌(EHEC)の PFGE による解析

千葉県衛生研究所

近年、食品流通の広域化に伴い、離れた地域で散発的に発生している感染症あるいは食中毒が実は大きな集団発生の一部であった事例、いわゆる diffuse outbreak の報告が散見されている。

食中毒あるいは感染症が diffuse outbreak であるか否か、あるいは食品等から分離された菌が広範囲に分布し、diffuse outbreak を引き起こす可能性があるか否かを科学的に証明するには、疫学的な情報に加え、分離された病原細菌の遺伝学的解析が必要であり、この解析に現在最も一般的に用いられている方法がパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)による泳動パターンの比較である。

千葉県では今年度“腸管出血性大腸菌感染症の菌株取扱要領”を定め、diffuse outbreak の早期発見および原因の解明を行うために、県内で分離された腸管出血性大腸菌(EHEC)の PFGE 解析を行ってきた。

2001年12月現在、千葉県衛生研究所には368株のEHECが搬入された。(表)

血清型	毒素型	ヒト	食品	計
O157 :	VT1	2		2
	VT1 & VT2	273	4	277
	VT2	44	1	45
小計		319	5	324
O26 :	VT1	16		16
	VT1 & 2	24		24
	小計	40		40
O29 :	VT2	1		1
O63 :	VT2	1		1
Out :	VT1	2		2
総計		363	5	368

由来別ではヒト由来 363 株、食品由来5株、血清型別では O157 が 324 株(ヒト由来 319 株、食品由来5株)、O26が40株、その他の血清型が4株であった。毒素産生性は、O157 は VT1 が2株、VT2 が 45 株、VT1 & VT2 が 277 株、O26 は VT1 が 16 株、VT1 & VT2 が 24 株であった。

これらの株について PFGE 解析を行ったところ、O157:VT1 & VT2 産生株で同一泳動パターンあるいは同一のグループに属すると解析されたのは、牛タタキ関連、焼肉店食中毒の他、7グループであった。このうち4グループ

の株は感染研、埼玉県および東京都との情報交換により、埼玉県で製造されたキムチから分離された O157:VT1 & VT2 産生株と同一のグループに属する株と考えられた。

O157-VT2 産生株が同一泳動パターンであったのは家族内発生を除き2グループであった。疫学調査の結果、このうち1グループでは多くの感染者が8月上旬に同一の飲食店を利用していることが明らかとなり、追跡調査が行われたが感染源を明らかにすることはできなかった。

O26-VT1 産生株では家族内発生あるいは接触者由来株を除き、同一泳動パターンは2株であったが関連は不明であった。また、O26-VT1 & VT2 産生株は集団発生例以外に同一パターンを示す株はみられなかった。

以下、牛タタキを原因とする O157:H7 による広域集団感染事例と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 の解析結果を示す。

### I 牛タタキを原因とする O157:H7 による広域集団感染事例



わが国では、1996年の腸管出血性大腸菌(EHEC)O157の大規模発生以来、患者発生は増加傾向で推移している。これは、散発患者や施設における小・中規模な集団発生事例が続発していることによるが、その原因食品が特定された事例は少ない。

2001年3月中旬から4月初旬にかけて、千葉県東葛飾地域を中心に関東1都5県と山形県において、EHEC O157:H7(VT1&2)による、患者・感染者約260名に及ぶ大規模な広域集団感染事例が発生した。患者の喫食状況調査から原因が疑われた食肉加工食品を中心に検査を行った結果、牛タタキからEHEC O157:H7(VT1&2)が分離された。

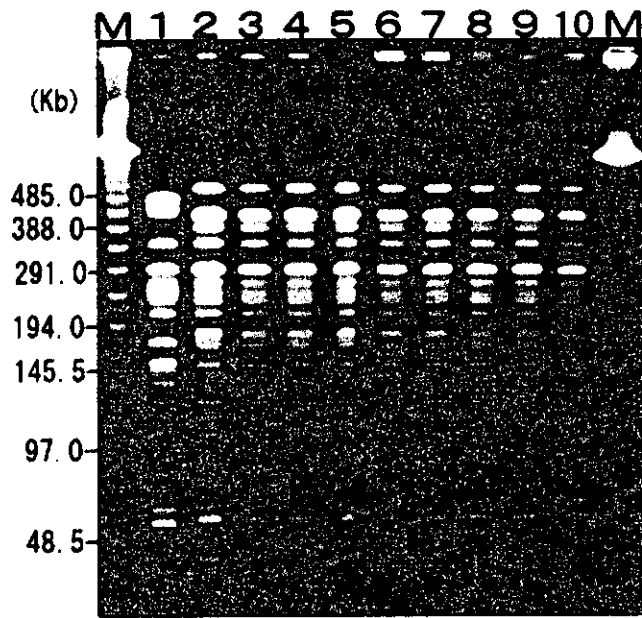
事件の概要:3月16日に、本事例初発となるEHEC O157:H7による患者発生が届け出られ、その後19日までに7例の患者発生が届け出られた。これら患者は管轄保健所が異なり地理的関連がないものの、3月中旬としては患者発生の集積性が高いことから、分離株のPFGE解析を行ったところパターン的一致が認められ(図1)、広域集団感染が強く疑われた。また患者の喫食状況調査から、某スーパー、某スーパー(A)系列店で販売された牛タタキおよびローストビーフが原因食品として疑われた。当該食品は27日に店頭から自主撤去されたもののその後も患者数は増加し、千葉県内で191名にのぼった。このうちHUSを併発した患者は12名であった。また、当該食品がA系列店以外でも販売されていたことから、隣接する埼玉県28名、神奈川県23名など1都5県で合計68名の患者が報告された。

原因食品の調査:食品25gにノボビオン加mEC培地を加え、軽くリンス後42℃で18~20時間静置培養を行い、免疫磁気ビーズで集菌後CT-SMACおよびクロモアガーを用いて分離培養を行った。その結果、A系列店の食肉加工食品である牛タタキ1検体から患者由来株とPFGEパターンが一致するEHEC O157:H7(VT1&2)が分離された。(図2) MPN法により汚染菌数の測定を試みたが、測定レベル以下であり菌数は不明であった。

本事例では、「牛タタキ」あるいは「ローストビーフ」を購入して喫食した人に加えて、店内で試食をただけの人も感染していた。EHEC O157:H7を含めた多くの腸管病原菌は、室温でも十分増殖可能である。生ものや加熱が不十分の食肉製品等の店内試食については今後注意が必要である。また、本事例の原因食品である牛タタキ、ローストビーフの製造は栃木県内、原料肉(輸入肉)の保管は大阪市内と関係機関は多岐であったが、関係者の協力で原料肉から患者由来株と同じPFGEパターンのEHEC O157:H7が分離された。(図2)本事例は、患者発生から原因食品の原材料まで追跡ができた希有な事例といえる。

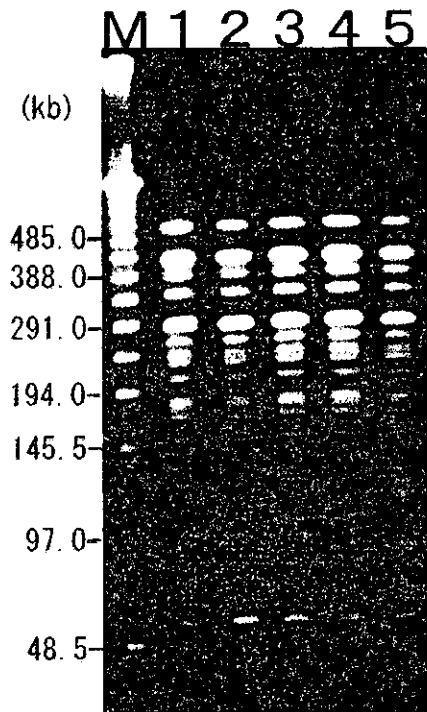
## II 埼玉県で分離されたキムチ分離株と同一の泳動パターン(グループ)と考えられたO157:H7の解析

2001年5月中旬頃から、O157:H7(VT1&VT2)による患者が野田、松戸、市川保健所管内を中心に散見されるようになった。PFGE解析の結果、これらの患者は2つの泳動パターンに分類されたが患者同士の間には認められず、原因となるような食品の共通性も明らかにすることができなかった。ところが8月下旬に東京都および埼玉県でキムチを原因とする食中毒が発生し、これらの事例から得られた株と当県で解析されていた株についてPFGE解析を行ったところ、5月から分離されていた多くのEHECは埼玉県で分離されたキムチ由来株と同一の泳動パターン(グループ)を示すことが明らかとなった(感染研577パターンおよび548パターン)。なお、このパターンを示す株は9月上旬まで分離された。また、キムチ事例に際して感染研から情報提供された588パターン、1191パターンと思われる株の県内での分離も確認された。(図3)



M : Lambda Ladder  
 1 : 2001 年 2 月 分離株  
 2 - 10 : 牛タタキ事例患者由来株

図1 牛タタキ事例由来株の PFGE 解析 I



M : Lambda Ladder  
 1 : 患者株 (千葉県)  
 2 : 患者株 (埼玉県)  
 3 : 牛タタキ由来株 (千葉県)  
 4 : 牛タタキ由来株 (横浜市)  
 5 : 保存原料肉由来株 (大阪市)

図2 牛タタキ事例由来株の PFGE 解析 II

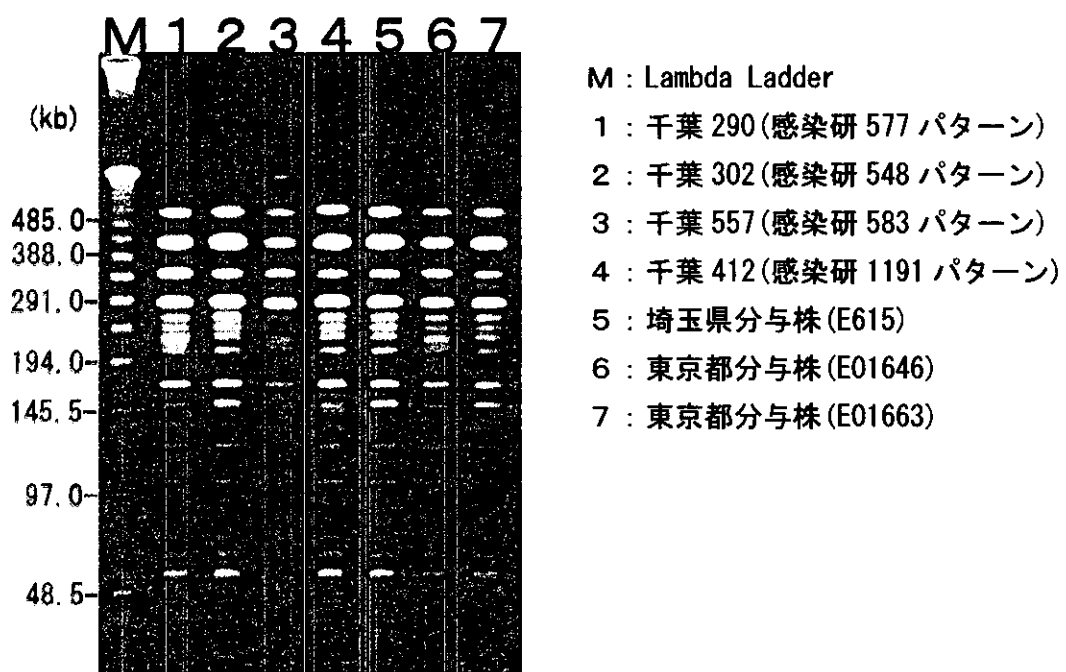


図3 埼玉県で分離されたキムチ分離株と同一の泳動パターン(グループ)と考えられた O157:H7

## 6. 神奈川県衛生研究所

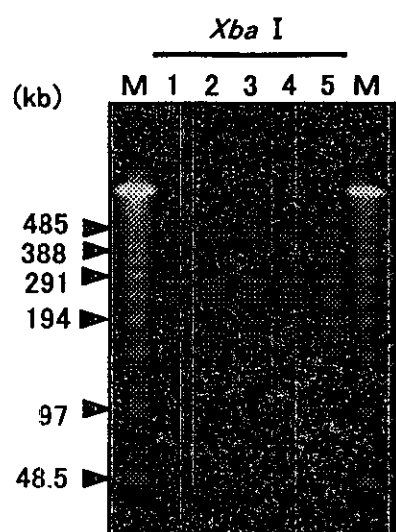
### 毒素原性大腸菌（O169：NM）による食中毒の一事例について

平成 13 年 8 月、茅ヶ崎保健所管内のセレモニーホールで仕出し料理を喫食した 1 グループ 63 名中 39 名が下痢、腹痛等の食中毒症状を呈していると報告があった。管轄保健所で原因調査を行った結果、8 月 23 日から 24 日に提供された料理が原因食として疑われ、摂食者ふん便 37 件、調理従事者ふん便 13 件、環境 24 件および検食 34 件の検査を行った。その結果、摂食者 17 名、調理従事者 1 名、計 18 検体より病原性大腸菌 O169：NM が検出された。これら菌株について病原因子の検索を行ったところ、18 株中 16 株から耐熱性腸管毒素 (ST) 遺伝子が検出されたことから、毒素原性大腸菌 O169：NM による食中毒事例であることが判明した。

また、検出された 18 株について制限酵素 *Xba* I および *Bln* I を用いて PFGE 検査を実施した結果、両酵素とも ST 遺伝子保有株 16 株と非保有株 2 株に大きな違いは認められなかったが、ST 遺伝子非保有株の *Bln* I 切断パターンでは 190kb 付近のバンドが認められなかった。

### 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

平成 13 年 2 月、横須賀市保健所、鎌倉および藤沢保健所管内で同時期に腸管出血性大腸菌 O157 患者（各保健所 1 名）発生届け出があった。各保健所において疫学調査を実施したところ、患者は T 焼肉チェーン店の各々異なった店舗での喫食が確認され、横須賀市保健所管内の患者家族（保菌者）および参考食品「ホルモン」から同菌が検出された。分離菌はいずれも血清型 O157：H7、VT1,2 産生株であったことから、横須賀市、鎌倉および藤沢保健所より送付された菌株 5 株（患者由来 3 株、患者家族由来 1 株、参考食品由来 1 株）について制限酵素 *Xba* I を用いて PFGE 検査を実施した。その結果、いずれの菌株も切断パターンは一致しており、これら 3 事例は焼肉チェーン店を原因とする感染事例であることが判明した。



O157:H7(VT1,2)分離株のPFGEパターン

M: Lambda Ladder

- 1: 横須賀市衛生試験所(M.E.ふん便由来株)
- 2: 横須賀市衛生試験所(M.M.ふん便由来株)
- 3: 横須賀市衛生試験所(参考食品「ホルモン」由来株)
- 4: 藤沢保健所管内(N.H.ふん便由来株)
- 5: 鎌倉保健所管内(H.M.ふん便由来株)

## 7. 横浜市衛生研究所

### 仕出し弁当を原因とした腸管毒素原性大腸菌による食中毒事例

#### 概要

平成13年6月29日に同一事業所内の複数のグループから、腹痛、下痢等の食中毒症状を呈しているとの連絡があり、ただちに、調査を実施し情報収集がなされた。その結果、いずれもがA区内の飲食店の仕出し弁当を摂食していた。

本事例での仕出し弁当の摂食者は1598名で患者数は472名に及んだ。そのうちの患者便124検体中57検体から、また、従事者便20検体中2検体から耐熱性毒素産生の腸管毒素原性大腸菌 O25:NM が検出された。食品及びフキトリからは原因菌は検出されず、原因食品は特定されなかったが、疫学調査により当該飲食店が6月26日から27日に提供した仕出し弁当が原因食であることが推定された。

下記に今回の事例の腸管毒素原性大腸菌 O25:NM 18株の制限酵素 *Xba I* による PFGE 切断パターンを示した。UPGMA 法による遺伝子解析の結果、17株のパターンは同一であった。また、レーン5の1株は他の株と1バンド異なっていたが、類似度0.98であり同一クローンによる集団であると思われた。

原因物質：腸管毒素原性大腸菌 O25:NM

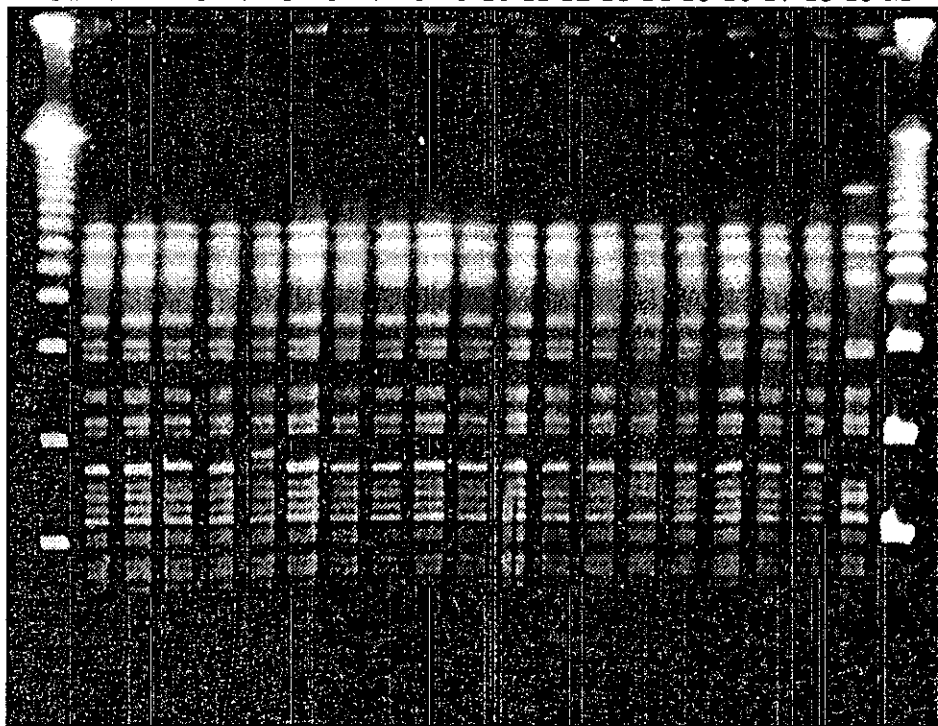
発生日：平成13年6月26日～平成13年7月2日

摂食者数：1598人

患者数：472人

原因食品：不明

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 M



M : Maker (Lambda)  
1~11,13~18 : 患者  
12 : 従事者  
19 : Cont.ETEC(O25:NM)

患者および飲食店従事者由来 O25:NM 株の PFGE パターン

## 8. 山梨県衛生公害研究所

### 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

平成13年11月下旬から、西日本を中心に赤痢患者が多数発生し、その原因のひとつとして山口県の2加工業者の生かきが発表され、製品の回収が命じられた。

このような状況のなか、山梨県でも平成13年12月5日から14日にかけて、生かきの関与が疑われる3事例5名の赤痢菌感染者（患者3名、保菌者2名）が発生した。その概要は下表のとおりであった。3事例で喫食された生かきは、回収命令の出た2加工業者の製品ではなく、各事例ごとに別々の加工業者の製品であった。

なお、12月28日に厚生労働省は、前述の2加工業者の仕入先である韓国産生かきから赤痢菌が検出され、患者由来株と遺伝子型が一致したことから、韓国産生かきの輸入禁止の措置を行っている。

表 赤痢菌感染者発生状況

事例	感染者	年齢	性別	発症月日	分離月日	血清型	生かき喫食月日	備考
1	A	37	女	12.5	12.10	S.sonnei I	11.29	
1	B	44	男	—	12.13	//	11.29	*1
1	C	87	女	—	12.14	//	11.29	*1
2	D	25	男	12.10	12.15	//	12.8?	*2
3	E	66	男	12.13	12.19	//	12.9	*3

\*1：家族の検便で赤痢菌を分離（保菌者）

\*2：家族3名は12月8日に生かきを喫食しているが感染者Dの喫食は不明。検便で他の家族は赤痢菌陰性。残品の生かきの検査も行ったが赤痢菌陰性。

\*3：家族1名も12月9日に生かきを喫食したが、検便で赤痢菌陰性。

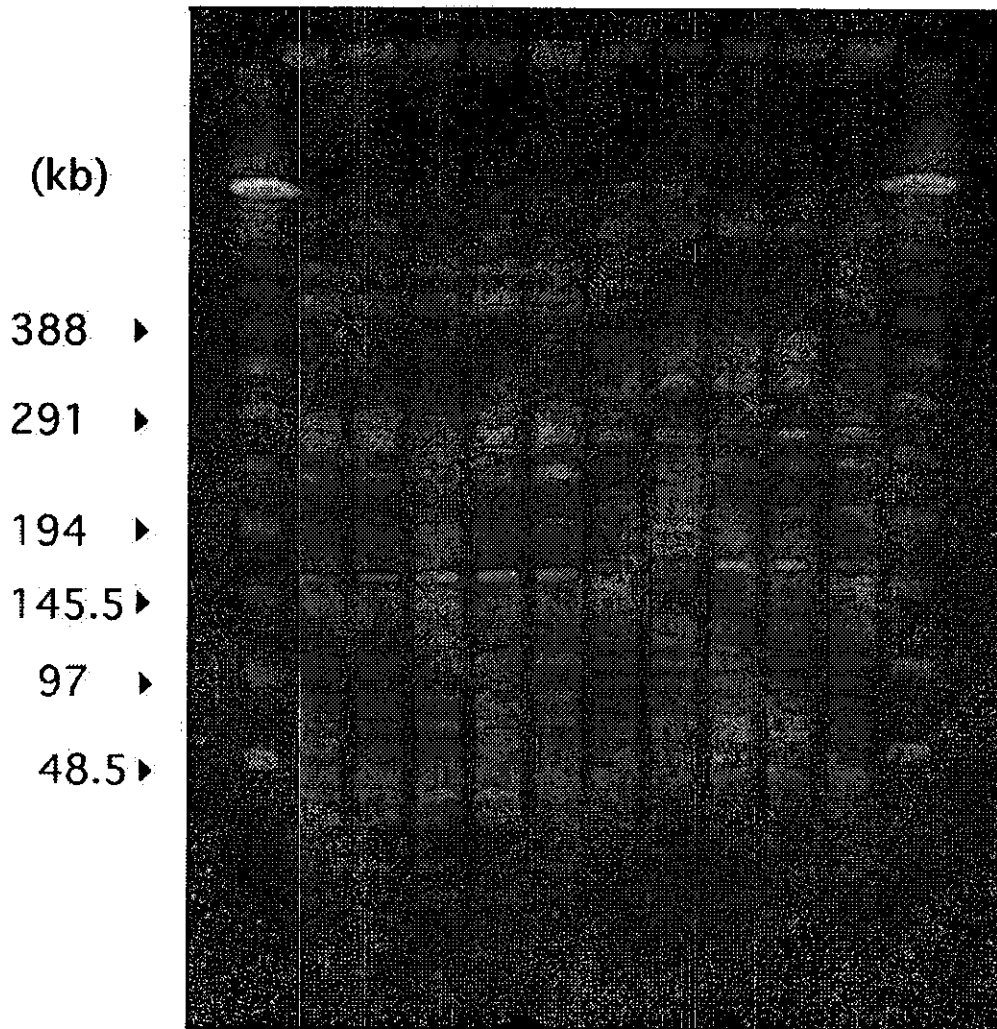
分離された5株は、18薬剤を使用した薬剤感受性試験で SA・SM・TC・NA・ST・TMP・DOXY の7剤に耐性を示した。

制限酵素 *Xba*I と *Bln*I を用いて PFGE を実施した。(図) レーン2, 7で1本のバンドの違いがみられたが、残りの4株は *Xba*I、*Bln*Iともすべて同一のパターンを示し、株の起源が同一である可能性が PFGE によって明らかにされた。国立感染症研究所に菌株を送付し、全国の分離株との比較を依頼したところ、韓国産生かき由来株および大多数の患者由来株と同一の PFGE タイプ (typeA) とのことであった。

これらのことから、今回の3事例は生かきを原因食品とする同一の赤痢菌による食中毒が疑われ、韓国産生かきの関与が示唆された。



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



レーン1,6 : 感染者A由来株   レーン1~5 : *XbaI*  
レーン2,7 : 感染者B由来株   レーン6~10 : *BlnI*  
レーン3,8 : 感染者C由来株   M : Lambda Ladder  
レーン4,9 : 感染者D由来株  
レーン5,10 : 感染者E由来株

図. 赤痢菌のPFGEパターン

## 9. 長野県衛生公害研究所

### 平成13年度食中毒事例でのPFGE解析について

#### 焼肉K店における腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例

##### 1 概要

平成13年8月、長野県内の3保健所（長野市保健所管内23名、上田保健所管内1名、長野保健所管内1名）および東京都（2名）において腸管出血性大腸菌（O157:H7 VT1+2 産生）による患者（5名）および保菌者（22名）の食中毒事例発生があった。患者および保菌者はすべて長野市内の焼肉K店で喫食しており、保菌者のうち5名は従事者でO157:H7（VT1+2 産生）が検出された。管轄の長野市保健所で同店の食材調査を行った結果、該当菌は検出されなかった。すべての菌株についてPFGEを実施したところ、同一パターンを示し、同店を原因施設とする集団食中毒であると断定した。

##### 2 発生の経緯と行政対応

平成13年8月24日、長野市内の医療機関より腸管出血性大腸菌 O157 による感染症発生の届出が管轄の保健所にあった。調査を開始したところ、さらに28日までに上田保健所への届出1件および長野市保健所への届出3件があり、いずれの患者も共通して8月13日から8月17日にかけて、長野市内の焼肉K店を利用していたことが判明した。その後、同店で患者の同席者および従事者からもO157（VT1+2 産生）が検出されたため、8月30日に同店を原因とする食中毒と断定した。

8月30日までに、保健所への届出患者5名および健康保菌者5名の計10名になり、感染の拡大防止と喫食者の不安解消のため、同店で8月13日から17日までの間の喫食者を対象に、県内各保健所の協力を得て8月30日から9月2日まで相談窓口を開設し無料検便を実施した。その結果、9月4日までの患者・保菌者は、県下で25名および東京都2名の総計27名になった。その上、対象期間以外の喫食者からもO157（VT1+2 産生）が検出されたことを受け、さらに相談体制を強化し、対象者を8月中に同店で喫食した者に拡大するとともに9月7日まで夜間相談も実施した。しかし、その後感染者はみられなかった。全県下での来所相談は、9月20日を最後に相談者約500名、検査件数約490名となった。

##### 3 患者・感染者の状況

5名の患者の主症状は腹痛、下痢、血便等で、喫食から3～7日の間に発症していた。保菌者の中には腹痛、下痢症状のあった者もいた。年齢は1～83歳と幅広く、性差はなかった。

##### 4 検査結果

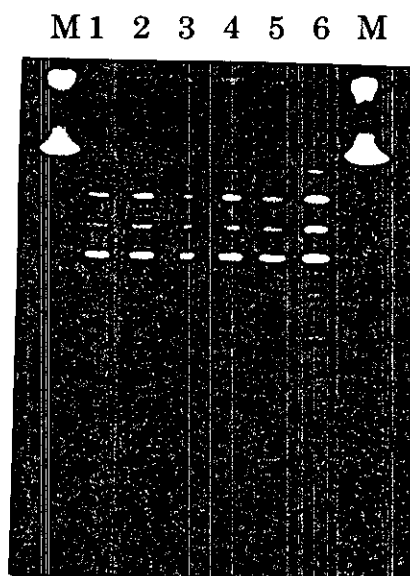
保健所において、患者家族、喫食者および同店従事者の検便を行い、O157（VT1+2 産生）が検出された。初発の6検体（患者4名、保菌者1名、従事者1名）のO157（VT1+2 産生）分

離株について、制限酵素 *Xba*I で処理後 PFGE による DNA パターンの解析を行った。その結果、6 菌株の PFGE パターンはすべて同一であり、同一の感染源であることが推察された (写真1)。

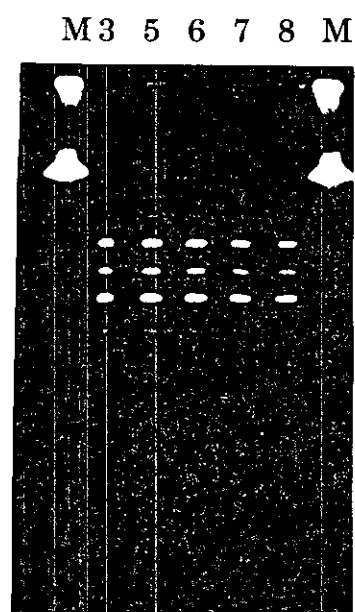
その後、すべての菌株について同様に PFGE を実施したところ、1 菌株を除きすべて同一のパターンであった。その1 菌株も、同一のパターンと比較しバンドが2本異なっているのみで variation の範囲であり、同一集団発生であると考えられた。

参考までに、本事例の代表的な菌株を5 菌株選び、制限酵素 *Xba*I で処理後、国立感染症研究所で実施している条件で PFGE を実施したので示します。(写真2)。

(写真1)



(写真2)



M : Marker (Lambda Ladder)  
 1~4 : 患者  
 5,7,8 : 保菌者  
 6 : 従事者

泳動条件

アガロース濃度 :	1%	1%
バッファー :	0.5×TBE, 7°C	0.5×TBE, 14°C
電圧 :	6V/cm(200V)	6V/cm(200V)
パルスタイム :	2~50sec, 22hr	4~8sec, 9hr
		8~50sec, 13hr

## 10. 静岡県環境衛生科学研究所

### 事例 1

#### <概要>

日時：平成13年7月28日

発生場所：県中部地区

発生の概要：ホテルで提供された昼食のバイキングを喫食した20名中2名および当日の宿泊客260名（大人233名、子供27名）中21名が嘔吐、下痢、腹痛などの症状を呈した。

検査の状況：培養の結果、卵黄加マンニット食塩培地にて患者便から13株、食品から9株、従業員手指等から5株、施設ふき取りから11株、合計38株の卵黄反応陽性株が検出された。このうち患者由来12、食品3、従業員手指2、施設3の合計20株が *S. aureus*（エンテロトキシンA型、コアグラーゼ4型）と同定された。

上記の20株のうち、施設の1株を除く19株について *Sma*Iにて切断後PFGEを行った。（パルスタイム1~40s、20時間、6V、14℃）