

<PFGE 画像>

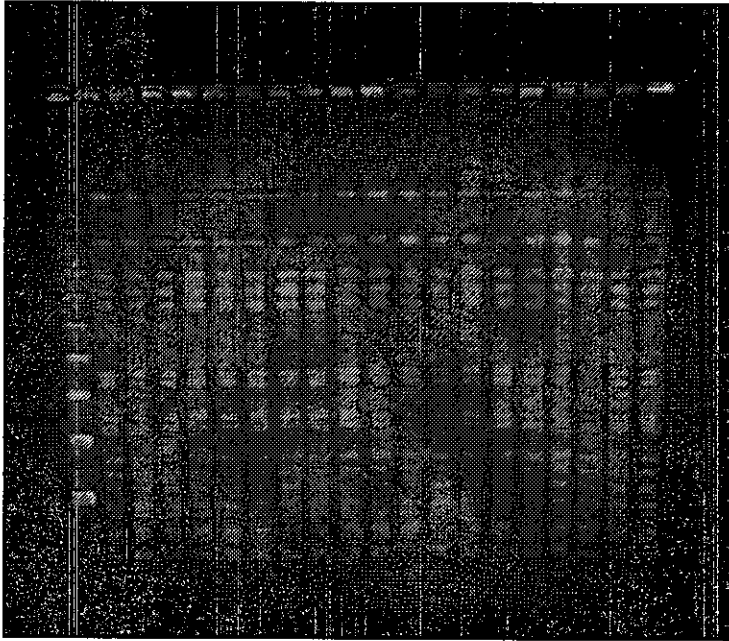
レーン 1 : マーカー

レーン 2~13 : 患者便由来株

レーン 14, 17 : 従業員手指由来株

レーン 15, 16 : 施設ふき取り由来株

レーン 18~20 : 食品由来株



## 事例 2

### <概要>

平成 13 年 12 月の下旬から平成 14 年 1 月初旬にかけて、県東部地区を中心に細菌性赤痢患者 26 名の発生が確認された。

グループ 1：平成 13 年 11 月下旬から発生した韓国産カキを原因とした事例

患者数 12 月 4 名、1 月 3 名

グループ 2：東部地区の幼稚園で発生した事例（原因不明）

患者数 12 月 1 名、1 月 3 名

グループ 3：東部地区にあるペンションでテニス合宿（12 月 27～29 日）を行ったグループに発生した事例

（ペンションの経営者とその家族 3 名はインドネシアへの渡航歴があり帰国後発症したが、病院には行かなかった。同じツアー客で機内で体調を崩した人もいたとの話）

患者数：12 月 1 名、1 月 14 名

検査の状況：分離菌株はすべて *Shigella sonnei* I 相菌であった。また薬剤感受性試験（アピシリン、ストレプトマイシン、テトラサイクリン、シプロフロキサシン、カナマイシン、セフトキシム、クララムフェニコール、ST 合剤、トリメトロプリム、ナジク酸、ホスホマイシン、ゲンタマイシンの 12 薬剤）では、グループ 1 でストレプトマイシン、テトラサイクリン、ST 合剤、トリメトロプリム、ナジク酸の 5 剤耐性で、グループ 2 および 3 では 12 薬剤すべてに感受性を示した。

これらの菌株のうちそれぞれのグループから計 18 株について *Xba* I で切断後に PFGE を行った。（パルスタイム 5-50s 22 時間、6V、14°C）

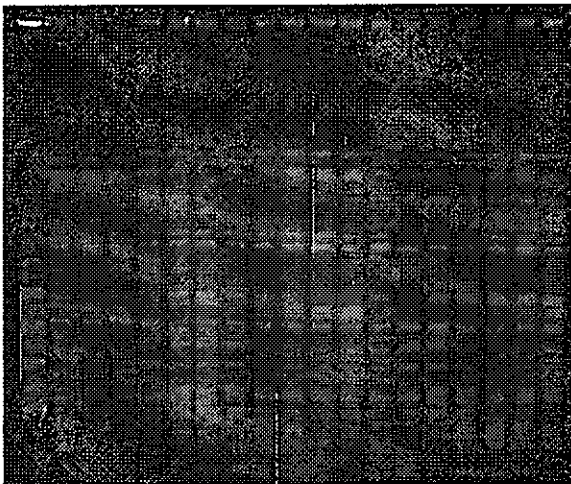
### <PFGE 画像>

レーン 1：マーカー

レーン 2～3：グループ 1 患者由来株

レーン 4～7：グループ 2 患者由来株

レーン 8～18：グループ 3 患者由来株



### 事例 3

発病日：平成 13 年 7 月 8 日

・ 9 日に 3 類感染症として診断され定点の病院から届出（9 歳男児、下痢、血便）

検査で VT1,2 産生の O111 を検出

・ 家族 7 人の保菌検査の結果、母（37）と弟（7）から O111 を検出

母親は無症状。

弟は以前に下痢のため小児科で受診し、処方された薬で既に回復していた。

・ その後の検査で、いずれも *E.coli* O111 : H- VT1,2 産生を確認（PCR、RPLA）

#### <PFGE 画像>

レーン 1：マーカー

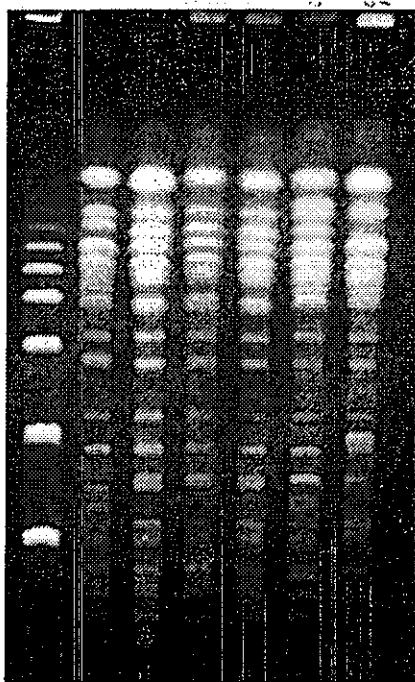
レーン 2：同月の少し前に別の地区で発症した散発患者株（O111 : H- VT1 産生）

レーン 3：患者株（9 歳男児）

レーン 4：患者母親株

レーン 5：患者弟株

レーン 6, 7：平成 11 年と平成 10 年の散発事例患者株



## II. 研究所間における PFGE 画像の電送による交換例

### 1. 千葉県から東京都へ電送された PFGE 画像 (送付日時 : 2001.4.2)

千葉県で3月に分離された O157 の遺伝子解析結果  
本事例は、「牛タタキ」による Diffuse outbreak であることが判明した。

### 2. 感染研から Puls-net 研究班へ電送された PFGE 画像 (送付日時 : 2001.4.11)

サイコロステーキ関連株および牛タタキ関連株の PFGE 画像

### 3. 東京都から埼玉県へ電送された PFGE 画像 (送付日時 : 2001.9.6)

八王子集団事例の PFGE 画像

### 4. 埼玉県から東京都へ電送された PFGE 画像 (送付日時 : 2001.9.6)

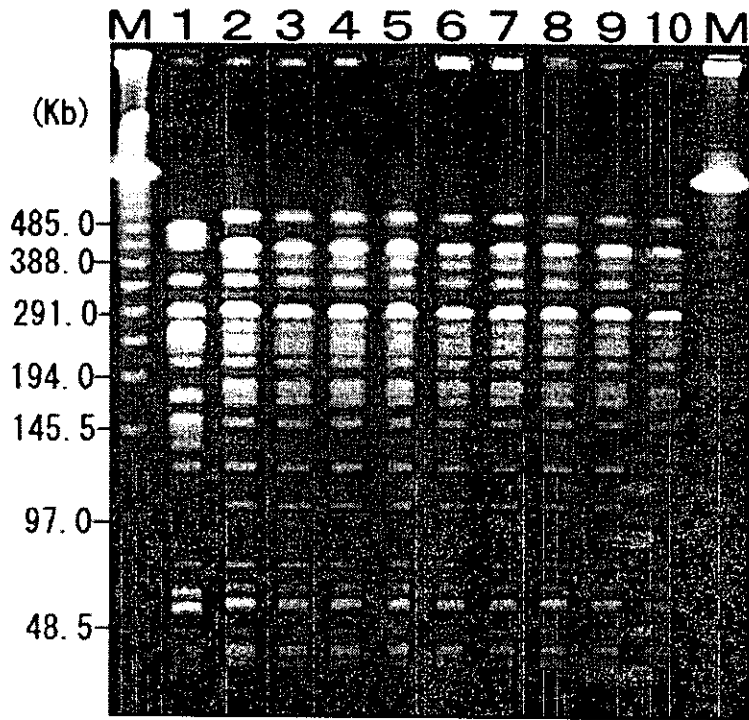
M 学園関連の PFGE 画像

\*3 および 4 の情報交換をいち早く行ったことが、その後の適切な調査に

結びつき、「和風キムチ」が原因食品であることが解明できた。

千葉 → 東京 (2001. 4. 2)

千葉県で分離された O157 遺伝子解析結果  
千葉県で3月に分離された O157 の遺伝子解析結果をお送りします。



M : Lambda Ladder

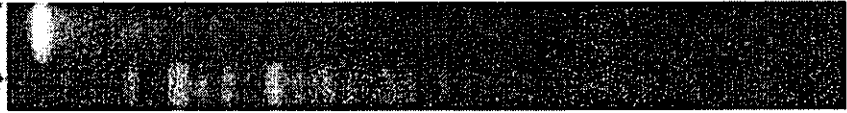
1 : VT 2 陽性株

2 - 10 : VT 1 & VT 2 陽性株

2 - 10 が diffuse outbreak が疑われています。

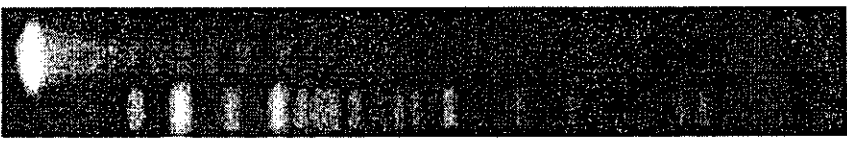
牛肉多分  
# 関連株 (報告)

330



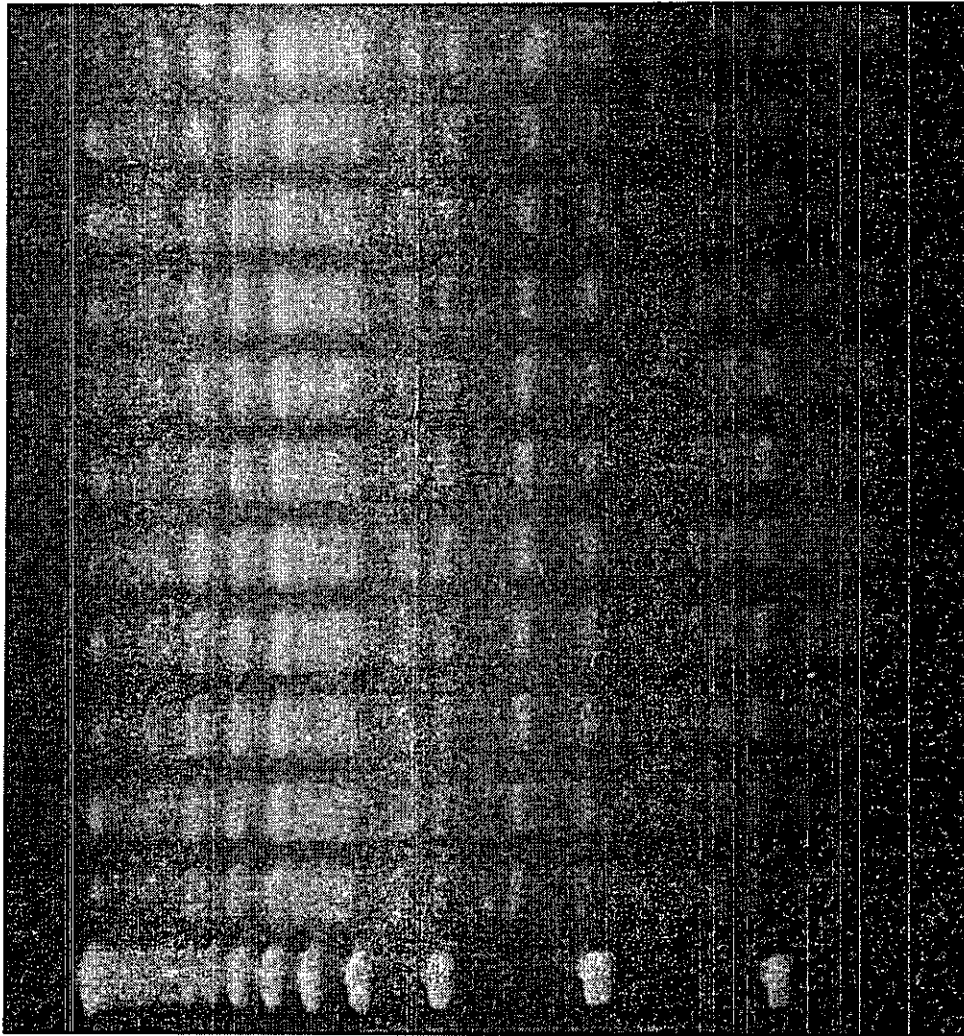
女子人口入手一  
# 関連株 (Food)

210



感染研 → 研究班員 (2001.4.11)

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



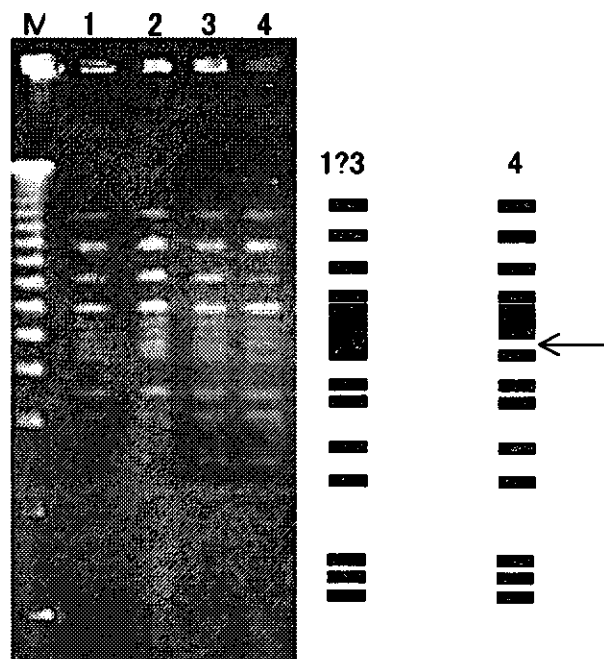
レーン1~3 : A宅  
4 : B宅  
5 : C宅  
6~7 : D宅  
8~11 : F宅

レーン5のみ少しパターンが  
異なっています

## 八王子集団事例のPFGEパターン

東京 → 埼玉 (2001.9.6)

M学園関連 STEC O157:H7 (VT1&2) のPFGEパターン



*Xba* I 処

埼玉 → 東京 (2001.9.6)



### Ⅲ. 各施設におけるPFGE条件の違い

PFGE機種	ブロックアガロス	濃度	泳動アガロス	濃度	バッファー	電圧	スイッチ	泳動時間	バッファー温度(°C)	室温(°C)	その他
1 CHEF-DR III	1	1%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	12	23	
2 CHEF-DR III	1	1%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	12	20	Angle 120°
3 CHEF-DR II	2	1%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	14	25	
4 CHEF-DR III	1	1%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	12	20	
5 CHEF-Mapper	3	0.7%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	14	20	
6 CHEF-DR II	1	0.5%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	11	18~22	
7 CHEF-DR III	1	1.6%	1	1%	TBE0.5%	200V	2	22時間	7		2~50sec
8 CHEF-DR III	1	1.6%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	14	23	
9 CHEF-DR III	1	1%	1	1%	TBE0.5%	200V	1	22時間	14	20~25	
10 CHEF-Mapper	1	1%	1	1%	TBE0.5%	200V	2	22時間	14	21	4~8sec 10時間, 8~50sec 12時間

#### ○ブロック作成用アガロス

1. Low Melt Preparative Grade Agarose (Bio-Rad)
2. Agarose Prep. (アマシヤムファアルマシア)
3. Chromosomal Grade Agarose (Bio-Rad)

#### ○泳動用アガロス

1. Plused Field Certified Agarose (Bio-Rad)

#### ○泳動条件(スイッチタイム)

1. 4~8sec 9時間, 8~50sec 18時間
2. その他(備考に記載)

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

分担研究・東海・北陸地方で平成8年から12年に検出された腸管出血性大腸菌 026 の  
解析ソフト「ゲルコンパ II」を用いた分子疫学的解析

主任研究者	渡辺治雄	国立感染症研究所
分担研究者	田中大祐	富山県衛生研究所
研究協力者	松本昌門	愛知県衛生研究所

研究要旨

東海・北陸地方で平成8年から12年に検出された105株の026についてそのPFGE画像を解析ソフト「ゲルコンパ II」を用いて解析を行なった。その結果、東海・北陸地方で検出された105株の026は71の異なったPFGE型に型別分類された。このうちの52の型（73.2%）は1PFGE型1株であった。さらに、東海・北陸地方の8地研のうち6地研で全PFGE型の約6割若しくはそれ以上が1PFGE型1株のPFGE型であり、検出年および地研ごとに特定のPFGE型が認められた。一方、1PFGE型に2から6株の026が認められた型は19（26.8%）であり、それぞれ1から3の地研から検出されていた。これらのPFGE型のうち、5の型では検出年が同一であった。少数ではあるが同一のPFGE型を有する026が同時期に異なった東海・北陸地方の県に存在し、集団事例および散発事例の原因となっていたことを示していた。他の14の型に属する026ではその検出年は連続した2年から最長5年の間隔があり異なっていた。

これらの結果から、東海・北陸地方で検出された026は分子レベルで多様性を有していることが明らかとなった。さらに、その多様性は毎年、異なった県で出現する多数の異なったPFGE型の026と異なった年に異なった県に繰り返し出現する少数の同一のPFGE型の026から構成されていると推測された。この分子レベルでの多様性は026による集団事例等の際にはPFGEによる解析が感染源および感染経路の究明といった疫学解析の有用な手段となることを示している。

21株の薬剤耐性026は19の異なったPFGE型に分類された。また、このうち9の型には薬剤感受性026も含まれていた。これらの結果から、薬剤耐性とPFGE型との明確な関連は認められなかった。

## A. 研究目的

平成8年大阪府堺市での大規模な食中毒事例以降、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は我が国の主要な細菌性腸管感染症のひとつとなり、年間約2000名の患者発生が認められている。

我が国のEHEC感染症を起こすEHECの血清型はO157、O26、O111の血清型で全体の90%以上を占めている。このなかでもO157が最も多く検出され、平成12年には全体の約70%を占めていた。これに対してO26はO157に次いで多く検出され、我が国のEHEC感染症原因血清型の約18%を占めている。

これまでO157に関しては我が国および諸外国で疫学的研究を含む多くの研究がなされ多くの知見が得られている。しかし、O26に関してはO157ほど研究がなされておらず分子疫学的知見はさほど蓄積されていない。そこで、昨年度の本研究では、平成8年から12年に東海・北陸地方の地研で検出された196株のEHEC O26について12種類の抗生物質に対する感受性試験及びパルスフィールドゲル電気泳動（pulsed-field gel electrophoresis, PFGE）を用いた解析を行なった。これらの解析から、196株のO26のうち、33事例由来39株（事例で24.3%の耐性率）に薬剤耐性が認められた。これら耐性菌の大半はストレプトマイシン（79%）、及びテトラサイクリン（52%）に耐性であり、両者が同時に認められる2剤耐性パターンが全耐性パターンの内で最も多く認められた（21%）。一方、ナリジクス酸（9%）、及びトリメトプリム（6%）に対する耐性の割合が低かった。またPFGE解析の結果から、各県由来株が3から18の異なったPFGE型に型別分類され、各県由来O26の分子レベルでの多様性が明らかとなった。

本年度の研究では、昨年度試験に用いた196株のO26のうち東海・北陸地方の地研で検出された薬剤耐性株21株を含む105株について解析ソフト「ゲルコンパ II」を用いてそのPFGE画像の解析を行なって比較し、分子レベルでの多様性の有無について検討を行なった。

さらに、薬剤耐性菌と薬剤感受性菌とのPFGE型別結果の比較も併せて行なった。

## B. 研究方法

菌株：散発、及び集団食中毒98事例に由来する105株のEHEC O26を用いた（表1）。その内訳は、富山県衛生研究所での分離株16株（8散発事例由来8株、5集団事例由来8株）、名古屋市衛生研究所で分離された20株（16散発事例由来16株、3集団事例由来4株）、愛知県衛生研究所での分離株22株（18散発事例由来18株、2集団事例由来3株、1健康保菌者由来1株）、石川県保健環境センターでの分離株6株（3散発事例由来3株、3集団事例由来3株）、岐阜県保健環境研究所での分離株14株（11散発事例由来11株、3集団事例由来3株）、三重県科学技術振興センター保健環境研究所での分離株16株（10散発事例由来10株、3集団事例由来5株、1健康保菌者由来1株）、福井県衛生研究所での分離株7株（6散発事例由来6株、1集団事例由来1株）、それに岐阜市衛生試験所での分離株4株（3散発事例由来3株、1集団事例由来1株）である。また、富山県衛生研究所由来1株は平成4年に検出されたが、その他のO26は全て平成8年から12年の間に検出された（平成4年1株、8年9株、9年35株、10年26株、11年13株、12年21株）。OH血清型別分類に関しては、菌株を分離した各施設において市販の病原大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて行なった。

ベロ毒素遺伝子及び産生性試験：ベロ毒素遺伝子は市販のベロ毒素遺伝子検出用プライマー（タカラ）を用い、PCRにて検出した。ベロ毒素産生性は、培養上清を用いて市販のVTEC-RPLA（デンカ生研）を用いて毒素の検出を各施設において実施した。

薬剤感受性試験：12種類の抗生物質を試験に用い、寒天平板希釈法にて行なった。その薬剤と括弧に耐性と見なした濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）を以下に示した。ピペラシリン(128)、セフォペラゾン(64)、カナマイシン(64)、アンピシリン(32)、クロラムフェニコール(32)、フォスфоマイシン(32)、ナリジクス酸(32)、ゲンタマイシン(16)、ストレプトマイシン(16)、テトラサイクリン(16)、トリメトプリム(16)、ノルフロキサシン(16)。トリプトソイ液体培地（栄研化学）で一夜培養したO26菌液を、滅菌リン酸緩衝液で約 $10^4$ に希釈した。その希釈液を耐性と見なす濃度の抗生

物質を加えたミューラーヒントン II 寒天平板培地 (BBL) にマイクロプランターで接種した。37℃、一夜培養後、抗生物質を加えた培地に発育が認められた 026 の菌株をその抗生物質に耐性であるとした。本試験は愛知県衛生研究所にて行なった。

PFGE : 国立感染症研究所の方法に従って行なった。なお集団事例由来株については昨年度の解析結果から、各集団事例において検出菌株が全て同じ PFGE パターンを示した場合には代表 1 株を本年度の解析に用いた。また、集団事例内で菌株の PFGE パターンが異なる場合にはそれぞれの PFGE パターンを示した菌株各 1 株を解析に用いた。

その方法を簡単に述べると、寒天平板培地で一夜培養した 026 の 1 コロニーを滅菌精製水 200  $\mu$ L に懸濁し、その菌液を等量の 2% 軟寒天と混和した。その 100  $\mu$ L をインサートプラグ内に注入し氷中で 30 分放置した。固化したゲルをリゾチーム溶液 (組成: 0.5M EDTA pH8.0+lysozyme (1 mg/ml)、1 ml/サンプル) で 37℃、一夜処理し、さらにプロテナーゼ K 溶液 (組成: 0.5M EDTA pH 8.0+proteinase K (1mg/ml)、1 ml/サンプル) で 50℃、一夜処理した。その後、制限酵素 *Xba* I で 37℃、一夜処理を行ない (30U/サンプル)、LKB 2015 (ファルマシア社) によって電気泳動を行なった。

泳動条件は、LKB 2015 の場合は電圧 200V、泳動時間 22 時間 1 分、パルスタイム 4 秒から 8 秒 6 時間、8 秒から 4 秒 1 分、4 秒から 8 秒 6 時間、8 秒から 50 秒 10 時間であり、CHEF DR-III (バイオラド社) の場合は 6 V/cm、パルスタイム 4 秒から 8 秒 9 時間、8 秒から 50 秒 13 時間である。

型別分類は、解析ソフト「ゲルコンパ II」にて行ない、お互いのバンドの相違に基づいてデンドログラム (系統樹) を作成した。そして、お互いのバンドパターンの相同性が 85% 以上の場合には同一の PFGE 型と見なし、85% 未満の相同性の場合には異なった PFGE 型とした。なお PFGE 型は 1 から 71 までの整数をその PFGE 型とした (図 2)。東海地方 (名古屋市、岐阜県、岐阜市、三重県、愛知県) の地方衛生研究所 (地研) で分離された 026 は、愛知県衛生研究所に

て LKB 2015 を用いて PFGE を行ない、北陸地方 (富山県、石川県、福井県) の地研で分離された 026 は、富山県衛生研究所にて CHEF DR-III を用いて PFGE を行なった。なお PFGE 画像の解析は愛知県衛生研究所で行なった。

## C. 研究結果

### [I] 解析に用いた 026 の詳細

表 1 には本年度の研究に用いた 026 の詳細を示した。解析に用いた菌株の総計は 105 株で各地研由来株は 4 から 22 株である。これら菌株の大半は平成 8 年から 12 年の間に検出された (富山県由来の 1 株は平成 4 年)。105 株のうち 21 株 (20%) は薬剤耐性菌であり、アンピシリン、フォスホマイシン、カナマイシン、ナリジクス酸、ストレプトマイシン及びテトラサイクリンのいずれかの抗生物質に耐性を示した。また、その耐性パターンは単剤 (9 株)、2 剤耐性 (8 株)、3、4 剤耐性 (各 2 株) であった。これら 026 の由来は散発事例由来が 75 株、集団事例由来が 28 株、健康保菌者由来が 2 株である。またその菌型は、026:H11 が 76 株、026:H- が 29 株であった。志賀毒素産生性は 105 株のうち 101 株は志賀毒素 1 のみを産生しており、残り 4 株は 1、2 の両者を産生していた。

### [II] 東海・北陸地方の地研で検出された 026 の解析ソフト「ゲルコンパ II」を用いた解析

東海・北陸地方の地研で検出された 105 株の 026 について国立感染症研究所の方法に従って PFGE を行なった。図 1 には愛知県で検出された 20 株の 026 PFGE 泳動図を示した。得られた PFGE 画像を「ゲルコンパ II」を用いて解析した。なお、お互いの相同性 85% を同一のグループとするか否かの型別分類の基準とした (図 2)。

その結果、105 株の 026 は 71 の異なった PFGE 型に型別分類することが可能であった。71 の PFGE 型のうち、52 型 (73.2%) は 1 PFGE 型 1 株であった。表 2 には各地研で検出された 1 PFGE 型 1 株の PFGE 型数を示した。菌株数が限られているが、1 PFGE 型 1 株の PFGE 型の割合が最も高かった地研は石川県であり、検出された PFGE 型の全てが 1 PFGE 型 1 株であった (6 型中 6 型、100%)。一方、1 PFGE 型 1 株の PFGE 型の割合が最

も低かった地研は岐阜市あり、検出された3 PFGE型のうち1 PFGE型のみであった(33.3%)。東海・北陸地方の8地研のうち、半数以上の5地研では全PFGE型に対する1 PFGE型1株のPFGE型の割合が約60%(56.3%から58.8%)であった。

一方、71のPFGE型のうち、19の型(26.8%)は1 PFGE型に複数(2株から6株)の026が含まれていた。表3には複数の026が認められたPFGE型とその検出された地研を示した。これら19型のうち、12(63.2%)は1 PFGE型2株、3

(15.8%)は1 PFGE型3株、2(10.5%)は1 PFGE型5株、そして1(5.3%)はそれぞれ1 PFGE型4株および6株であった。また、検出された19の型のうち11(57.9%)は東海地方からのみ検出された。その検出された地研の内訳は、(三重、愛知)、(三重、名古屋市)、(名古屋市、愛知)、(岐阜、愛知)、(岐阜、三重)、

(岐阜市)、(岐阜、岐阜市)、(岐阜、三重、名古屋市)、(岐阜、名古屋市、愛知)の9であった。北陸地方の地研からのみ検出されたPFGE型はわずか2(10.5%)で、その内訳は(富山)のみであった。東海地方及び北陸地方の両方の地研から検出されたPFGE型は6認められた(31.6%)。その内訳は(愛知、富山)、(三重、福井)、(愛知、福井)、(愛知、福井、富山)、(名古屋市、愛知、富山)の6であった。

これら複数の026が認められた19のPFGE型のうち検出年が全て同じ型が5認められた(26.3%)。そのPFGE型と検出された年、地研及び由来は、PFGE型4(平成9年、三重集団事例と愛知散发事例)、PFGE型30(平成10年、富山集団事例)、PFGE型36(平成10年、岐阜散发事例と三重集団事例)、PFGE型65(岐阜市散发事例)、PFGE型28(平成10年、三重散发事例と愛知散发事例と富山集団事例)であった。しかし、他の14 PFGE型(73.7%)では検出された年は異なっていた。このうち、8のPFGE型は連続した年にまたがって各地研から検出されていたが(例えば平成9年と10年)、他の6の型は2年、4年及び5年の間隔の後に同一のPFGE型が同じ、若しくは異なった地研から検出されていた。例えばPFGE型18は富山県で平成4年に検出された後、平成9年に再び同県で検出された。

検出年別に1 PFGE型1株のPFGE型が占める割

合(1 PFGE型1株のPFGE型数/全PFGE型数)は、平成4年100%(1/1)、平成8年62.5%(5/8)、平成9年70%(21/30)、平成10年36.8%(7/19)、平成11年58.3%(7/12)、平成12年63.2%(12/19)であり、平成8年から12年の5年間のうち4年間で1 PFGE型1株のPFGE型の占める割合が約6割若しくはそれ以上であった。しかし、平成10年は他の年とは異なって複数の026が認められるPFGE型が12検出された。このうちの3の型は平成10年のみ、残りの9の型は他の年にまたがって検出されたPFGE型であった。

また、志賀毒素1, 2を産生する4株の026は全て異なったPFGE型に型別分類された。

#### [III] 薬剤耐性とPFGE型との関係

21株の薬剤耐性026は19の異なったPFGE型に分類された。これら21株のうち4株はそれぞれ2株ずつ同一のPFGE型であった(すなわち、2株はPFGE型7、残りの2株はPFGE型26)。

また、薬剤耐性026が分類された19の型のうち9の型には薬剤感受性026も同時に認められた。

#### D. 考察

東海・北陸地方の地研で平成8年から12年の間(1株は平成4年)に検出された105株の026について解析ソフト「ゲルコンパII」を用いて解析を行ない、各地研で分離された026が他の地研で検出された026と分子レベルで類似しているか否かを検討した。その結果、105株の026は71の異なったPFGE型に型別分類された。このうちの7割以上の52の型は1 PFGE型1株であり、各地研ごとに見ても8地研のうち6地研で約6割、若しくはそれ以上が1 PFGE型1株のPFGE型で占められていた。これらのことから、本年度の研究によって昨年度目視による解析から明らかとなった各地研内すなわち県レベルにおける分子レベルでの多様性の結果を確認すると同時に、東海・北陸地方内においても026は分子レベルで多様性を有することが示唆された。

また、分子レベルでの026の多様性は、026のPFGEを用いた解析が026による集団発生時の感染源、感染経路等の疫学解析に非常に有用な手

段であると思われる。

複数の 026 が認められた PFGE 型のうち 3 の型（4、36、28 型）は、同一の PFGE 型の 026 が同時期に異なった地研から検出されていた。これらはいずれも集団事例由来株が異なった地研の散发事例由来株と同一の PFGE 型を示すものであった。diffuse outbreak などの可能性も疑われるが、その確証を得るには明確な疫学情報が必要であろう。

平成 8 年から 12 年の間（1 株は平成 4 年に検出された。）に検出された 026 に認められた PFGE 型 71 のうち、複数の 026 が認められた PFGE 型は 19 のみ（26.8%）であった。また、前述のとおり複数の 026 が認められた 19 の型のうち検出年も同じ型は 5 のみであり、残りの 14 の PFGE 型は全て異なった年に検出されていた。これらの結果から、特定の年に特定の PFGE 型の 026 が多数検出されるということではなく、PFGE 型と検出年との間に明確な関係は認められなかった。

PFGE および塩基配列のデータに基づいて作成したデンドログラム（系統樹）により病原菌を型別分類する基準として、一例として赤痢菌では相同性 75%および 85%をその基準としたり、デンドログラム上の各クラスター（塊）別に型別分類する等、種々の方法が用いられてきている。

本研究では型別分類の基準としてお互いのバンドの相同性 85%をその基準として用いた。これは、相同性 85%未満がほぼお互いのバンドの違いが 7 本以上に相当し、いわゆる一般に言う PFGE 解析で異なった菌株と見なしてよいとする基準に合う。また上述のとおり分子レベルで大腸菌に類似した赤痢菌で 85%の相同性がひとつの基準として用いられていたことによる。しかし、解析ソフトを用いた PFGE 解析においてこの型別分類の基準は非常に重要であることから、今後、さらに検討を要する課題であろう。

志賀毒素産生性および薬剤耐性と PFGE 型との関連を検討したが、4 株の志賀毒素 1、2 産生 026 及び 21 株の薬剤耐性 026 とともに異なった PFGE 型に分類された。また 2 株の志賀毒素 1、2 産生 026 および 7 株の薬剤耐性 026 は、それぞれ志賀毒素 1 産生 026 および薬剤感受性 026 と同一の PFGE 型に属していた。これらの結果から、志賀毒素産生性及び薬剤耐性と PFGE 型との関連

は認められなかった。これは志賀毒素遺伝子がファージ、薬剤耐性遺伝子がプラスミド等と何れも外来性の遺伝子単位に担われていることが一因と思われる。

## E. 結論

東海・北陸地方で平成 8 年から 12 年に検出された 105 株の 026 についてその PFGE 画像を解析ソフト「ゲルコンパ II」を用いて解析を行なった。その結果、東海・北陸地方で検出され 026 は 71 の異なった PFGE 型に型別分類された。このうちの 52 の型（73.2%）は 1 PFGE 型 1 株であった。一方、残りの 19 の型（26.8%）は 1 PFGE 型に 2 から 6 株の 026 が認められた。これらの結果から、東海・北陸地方で平成 8 年から 12 年に検出された 026 は分子レベルで多様性を有していることが明らかとなった。さらに、このことは 026 による集団事例等の際には PFGE による解析が感染源および感染経路の究明といった疫学解析の有用な手段となることを示している。

また、複数の 026 が認められた PFGE 型のうち 5 の型は 026 の検出年も同一であった。このことから、少数ではあるが同一の PFGE 型を有する 026 が同時期に異なった東海・北陸地方の県に存在し、集団事例および散发事例の原因となっていたことを示していた。

21 株の薬剤耐性 026 は 19 の異なった PFGE 型に分類された。このうちの 9 の型には薬剤感受性 026 も含まれていた。これらの結果から、薬剤耐性と PFGE 型との関連は認められなかった。

#### 図1 愛知県で検出された O26 の PFGE 泳動図

検出年はレーン 1 から 3 は平成 8 年、レーン 4 から 13 は平成 9 年、レーン 14 から 15 は平成 10 年、レーン 16 から 17 は平成 11 年、レーン 18 から 20 は平成 12 年。由来はレーン 5 と 6 は集団事例、レーン 20 は健康保菌者、他のレーンは散発患者。菌型はレーン 4、10、15、19 は O26:H-、他のレーンは O26:H11。

#### 図2 東海・北陸地方の地研で検出された O26 の「ゲルコンパ II」による解析

左図のデンドログラムで縦点線は相同性 85%を示す。デンドログラム右の数字は PFGE 型を示す。左図は PFGE バンドパターンの模式図を示す。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし。

##### 2. 学会発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし

表1 解析に用いたO26の詳細

分離された地研	菌株数	分離年(平成)	薬剤耐性パターン	散発、集団	菌型
岐阜	14	8-12	S(1), AST(1), AKST(1)	S(11), O(3事例由来3)	O26:H11(10), O26:H-(4)
岐阜市	4	12	-	S(3), O(1事例由来1)	O26:H11(4)
三重	16	9-12	T(1), AS(1), ST(1), ASF(1)	S(10), O(3事例由来5), HC(1)	O26:H11(16)
名古屋	20	8-12	N(1), AKST(1)	S(16), O(3事例由来4)	O26:H11(10), O26:H-(10)
愛知	22	8-12	N(1), T(2), ST(2)	S(18), O(2事例由来3), HC(1)	O26:H11(16), O26:H-(6)
石川	6	9-12	F(1), S(1), T(1)	S(3), O(3事例由来3)	O26:H11(6)
福井	7	9-11	KS(2)	S(6), O(1事例由来1)	O26:H11(6), O26:H-(1)
富山	16	4-12	ST(1), KS(1)	S(8), O(5事例由来8)	O26:H11(8), O26:H-(8)
合計	105				

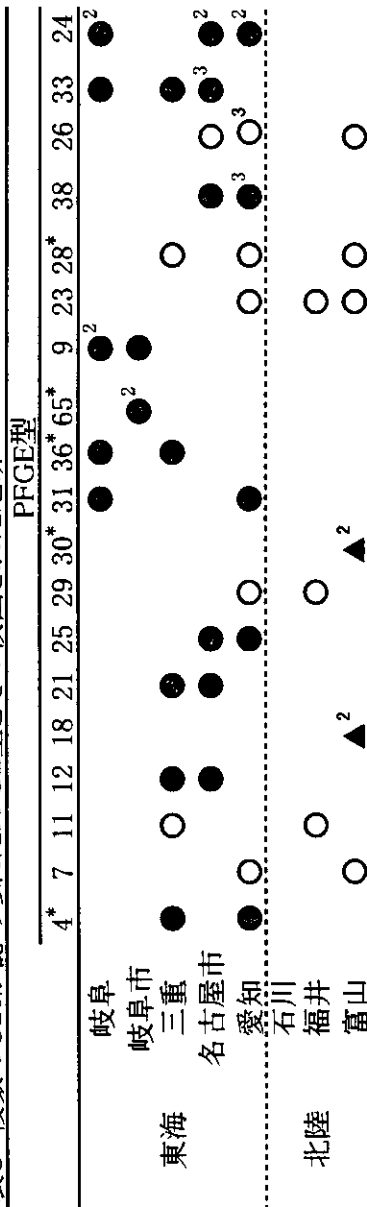
A:アンピシリン、F:フロスフォマイシン、K:カナマイシン、N:ナリジクス酸、S:ストレプトマイシン、T:テトラサイクリン、-:全て感受性  
 ( ):菌株数、S:散発事例、O:集団事例、HC:健康保菌者



表2 各地研で検出された1PFGE型1株のPFGE型数

	1PFGE型1株の型数 / 全PFGE型数 (%)
岐阜	7/12(58.3)
岐阜市	1/3(33.3)
三重	9/16(56.3)
名古屋	10/17(58.8)
愛知	7/17(41.2)
石川	6/6(100)
福井	4/7(57.1)
富山	8/14(57.1)

表3 複数のO26が認められたPFGE型とその検出された地研



PFGE型4から65は1PFGE型2株、PFGE型9、23、28は1PFGE型3株、PFGE型38は1PFGE型4株  
 PFGE型26、33は1PFGE型5株、PFGE型24は1PFGE型6株

\*:検出年が全て同じPFGE型。右肩数字は株数を示す。ただし数字のない記号は1株を示す。

●:東海地方の地研でのみ検出されたPFGE型。○:東海、北陸地方で検出されたPFGE型。

▲:北陸地方でのみ検出されたPFGE型

M 1 5 10 M 11 15 20 M

