

とが重要である。

③小さいサイズ(100kb以下)のバンドは、解析が困難であるので、100kb以上のバンドを対象にする方法も今後考慮する必要がある。

④画像の写真の大きさを一定にした方が解析しやすい。

⑤DNA量が多くて太いバンドは、解析時に選ぶバンドの位置の決定が難しいので、薄いコーム(0.7mm)を使う方法を検討する必要がある。

G. 知的所有権の取得状況
なし

E. 結論

関東甲信静に分散する11地方衛生研究所は、PFGE法による解析技術も進歩し、パルスネット構築のための環境整備が図られてきた。

腸管出血性大腸菌O157の共通菌株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ソフトを用いて解析を試みた結果、PFGE画像上の100kb以上のバンドを対象に作成した系統樹では一定の成績が得られた。

しかし、パルスネットを構築し、解析ソフトを運用するために、検討を要する技術的な問題点もまだ残されている。

F. 研究発表

中田友里他，病院および老人保健施設で発生したO157による集団下痢症事例，第15回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会2003（静岡県）

武藤哲典他，焼肉店を原因とした腸管出血性大腸菌O157食中毒事例，第15回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会2003（静岡県）

表1. 2002年9~10月に東京都内で分離された腸管出血性大腸菌O157
菌株の疫学的性状解析成績

No.	菌株No	検体搬入日	血清型 O	血清型 H	VT1	VT2	薬剤耐性パターン	PFGEパターン (目視)
1	1790	9/6	157	7	-	+	SM.TC	T-44
2	1795	9/11	157	7	-	+	-	T-44b
3	1787	9/2	157	7	-	+	-	T-11b
4	1789	9/6	157	7	-	+	-	T-11f
5	1796	9/11	157	7	-	+	-	T-5c
6	1794	9/11	157	7	-	+	-	T-5
7	1798	9/13	157	7	+	-	-	T-8
8	1799	9/18	157	7	+	-	-	T-8
9	1791	9/4	157	7	-	+	-	T-5b
10	1797	9/13	157	7	-	+	-	T-48b
11	1788	9/3	157	7	+	+	-	T-1f
12	1792	9/10	157	7	+	+	-	T-1f
13	1793	9/10	157	7	+	+	SM.TMP	T-4
14	1815	10/8	157	7	+	+	TC	T-5d
15	1816	10/16	157	7	-	+	-	T-5e
16	1813	10/10	157	7	+	+	-	T-45
17	1818	10/18	157	7	+	+	-	T-45
18	1793	9/10	157	7	+	+	SM.TMP	T-4
19	1806	10/2	157	7	+	+	TMP	T-4
20	1803	10/1	157	7	+	+	-	T-48b
21	1812	10/7	157	7	+	+	-	T-10c
22	1817	10/17	157	7	+	+	-	T-39d
23	1814	9/26	157	7	-	+	-	T-11g
24	1809	9/19	157	7	+	+	-	T-45
25	1823	10/29	157	7	+	+	-	T-39j
26	1810	10/6	157	7	-	+	-	T-11i
27	1808	10/4	157	7	-	+	-	T-5
28	1820	10/25	157	7	-	+	-	T-5
29	1825	11/12	157	7	-	+	-	T-5
30	1826	11/12	157	7	+	+	-	T-39o
31	1805	10/2	157	7	+	+	TMP	T-4
32	1811	10/6	157	7	+	+	ABPC,SM	T-4b
33	1802	9/30	157	7	+	+	SM,TC,CP	T-39d
34	1807	10/4	157	7	+	+	SM,TC,CP	T-39d
35	1804	10/2	157	7	+	+	-	T-39d
36	1824	10/31	157	7	+	+	-	T-39d
37	1801	9/24	157	7	+	+	-	T-39
38	1819	10/21	157	7	+	+	-	T-11h
39	1822	10/21	157	7	+	+	-	T-11h
40	1800	9/20	157	7	+	+	-	T-11h

図1. 2002年9～10月に東京都内で分離された腸管出血性大腸菌O157
 菌株のPFGE画像の解析ソフトによる系統樹

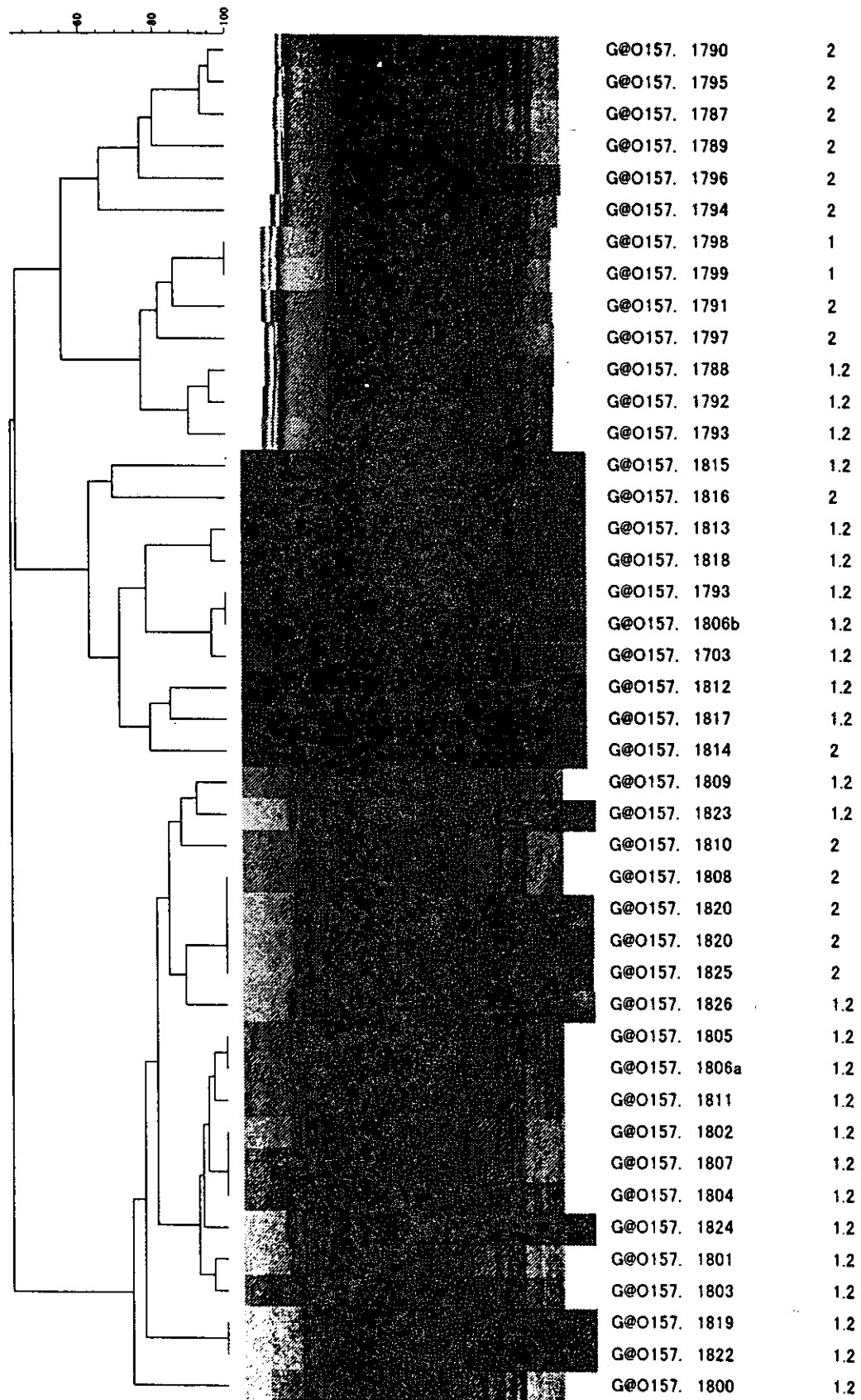
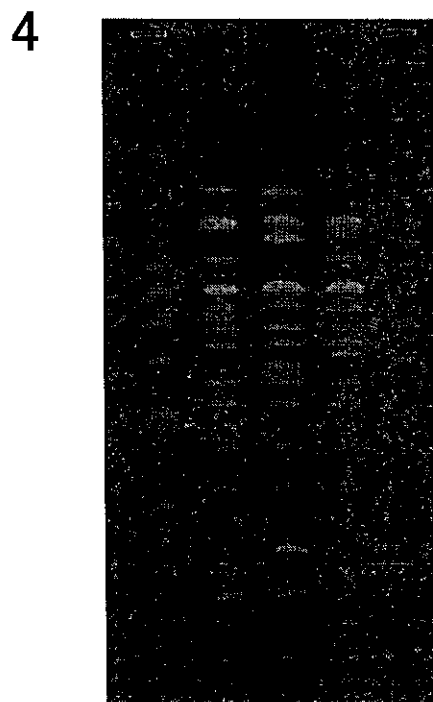
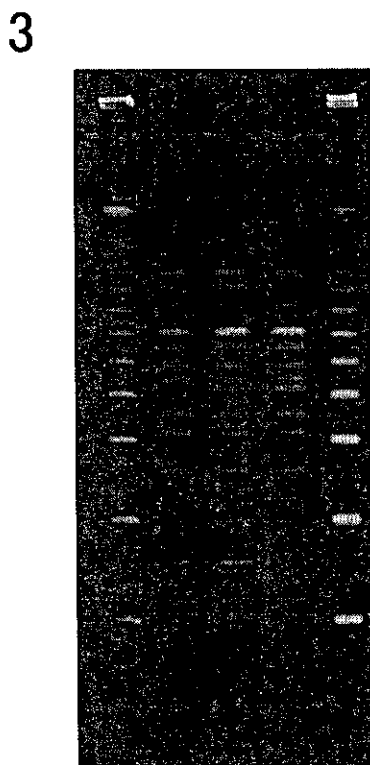
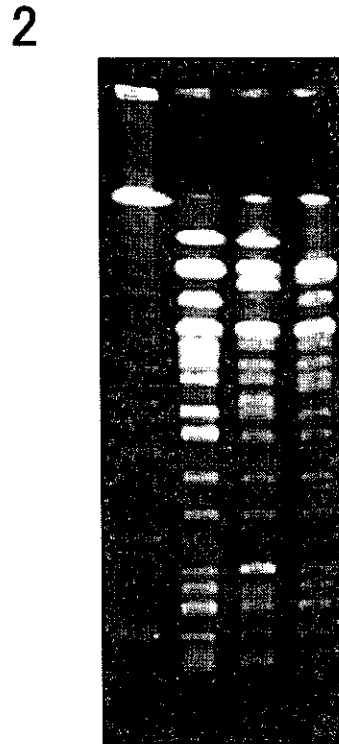
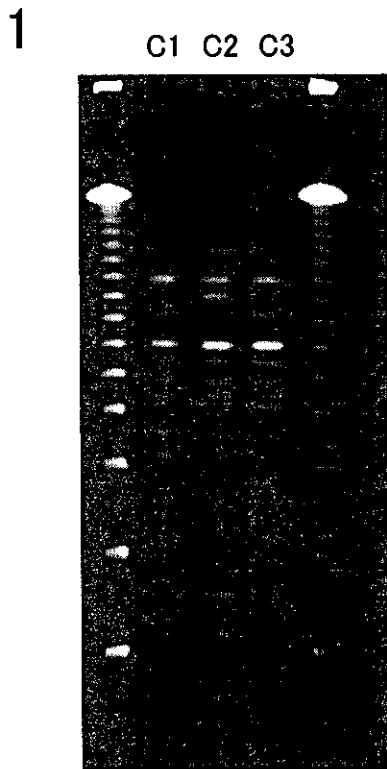
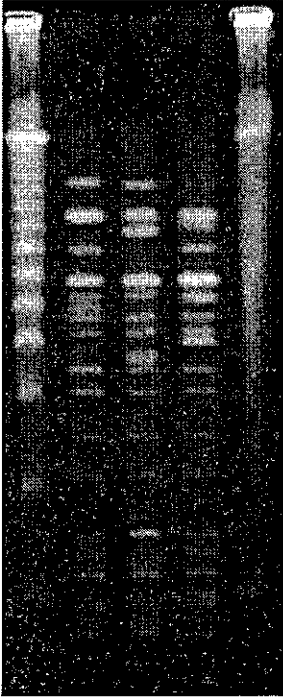


図 2 11研究協力機関で解析したO157共通株(3株)のPFGE画像



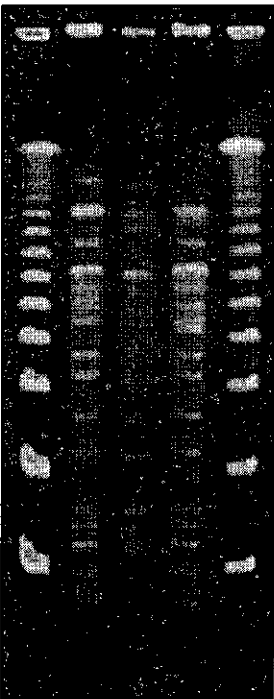
5



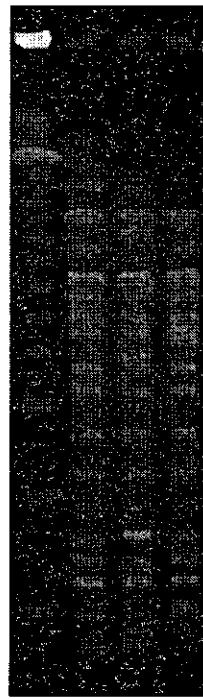
6



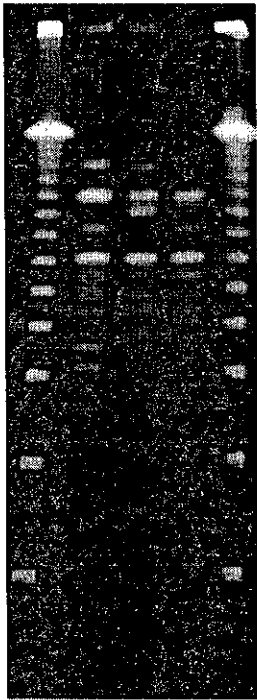
7



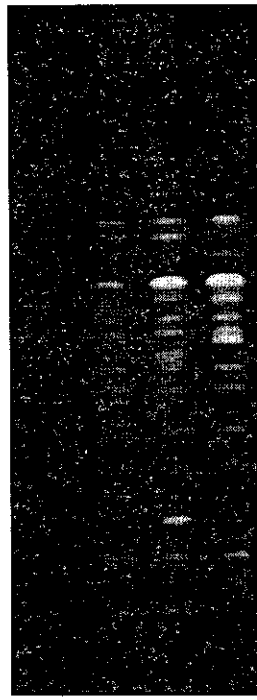
8



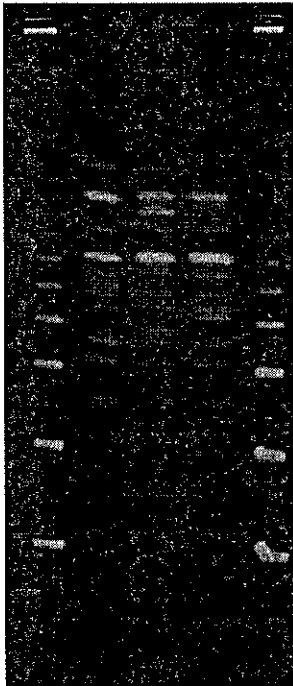
9



10



11



泳動条件

4s-8s 9hr
 8s-50s 13hr
 6V/cm
 泳動温度 12°C

使用機種

- 1: CHEF-DR III
- 2: CHEF-DR III
- 3: CHEF-DR III
- 4: CHEF-DR II
- 5: CHEF-DR III
- 6: CHEF-Mapper
- 7: CHEF-DR II
- 8: Gene Path
- 9: CHEF-DR III
- 10: CHEF-DR III
- 11: CHEF-Mapper

図 3a O157 共通株の解析(全バンドを対象)

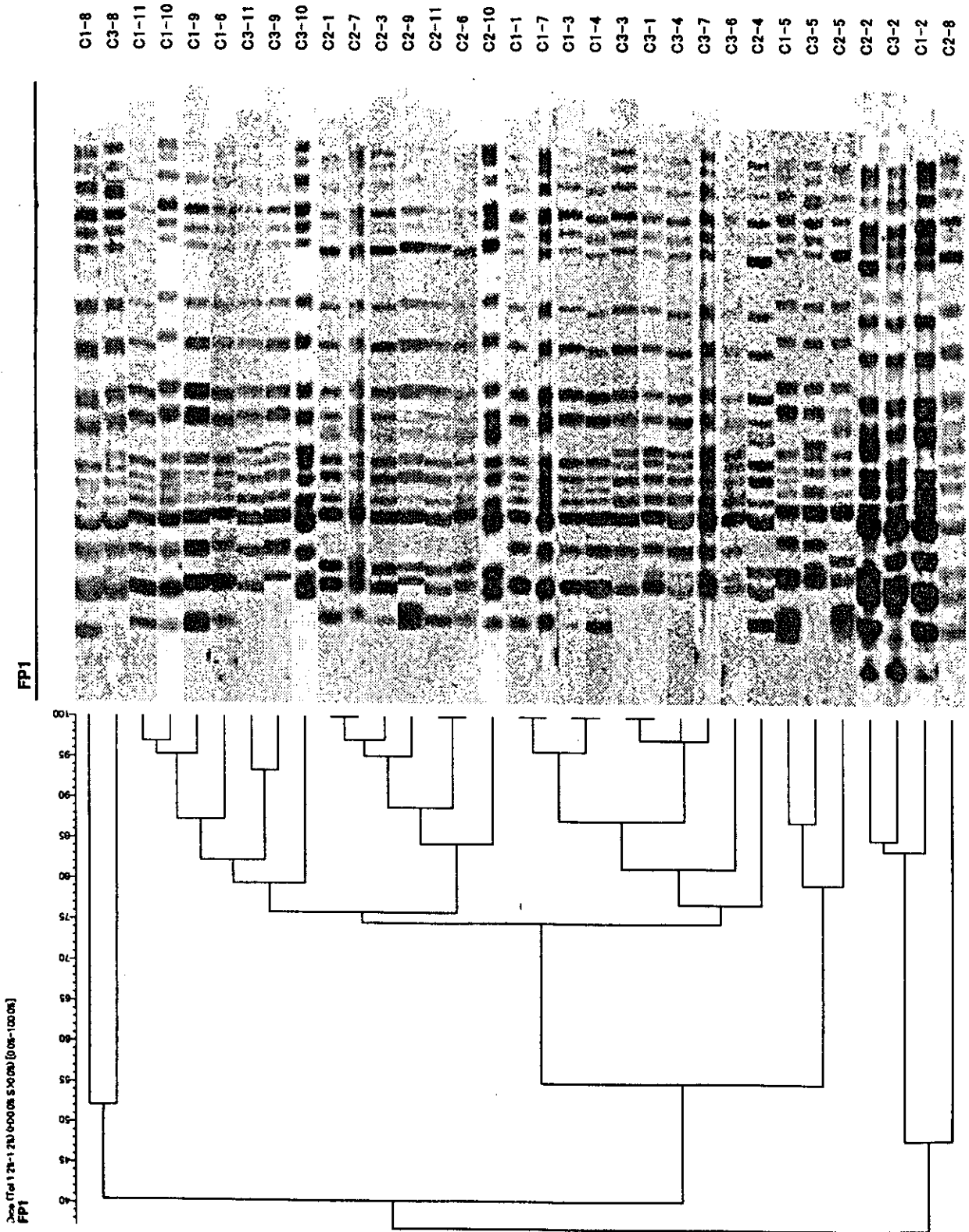


図 3b O157 共通株の解析(全バンドを対象)

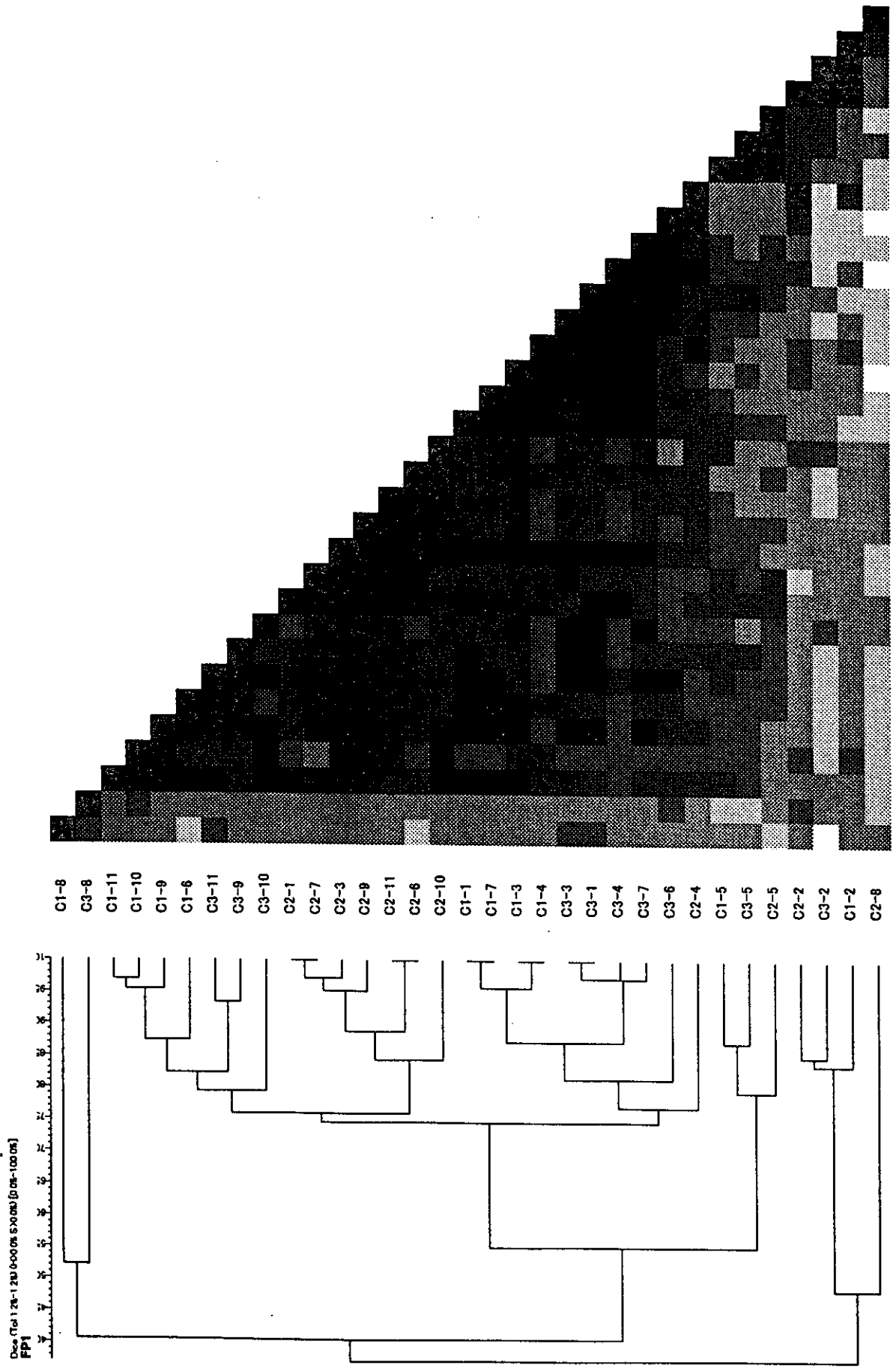


図 4a O157 共通株の解析(100Kb 以上のバンドを対象)

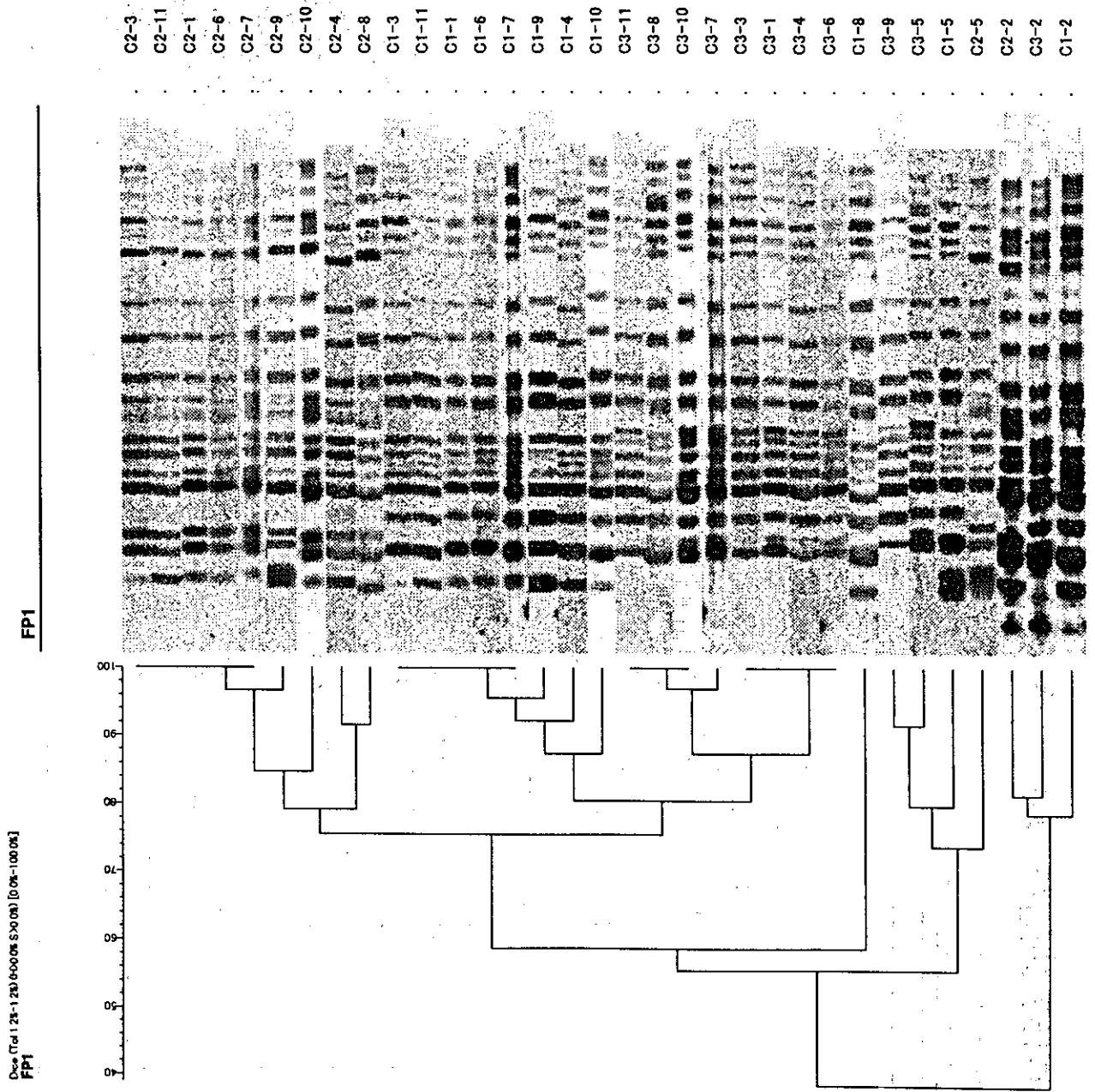
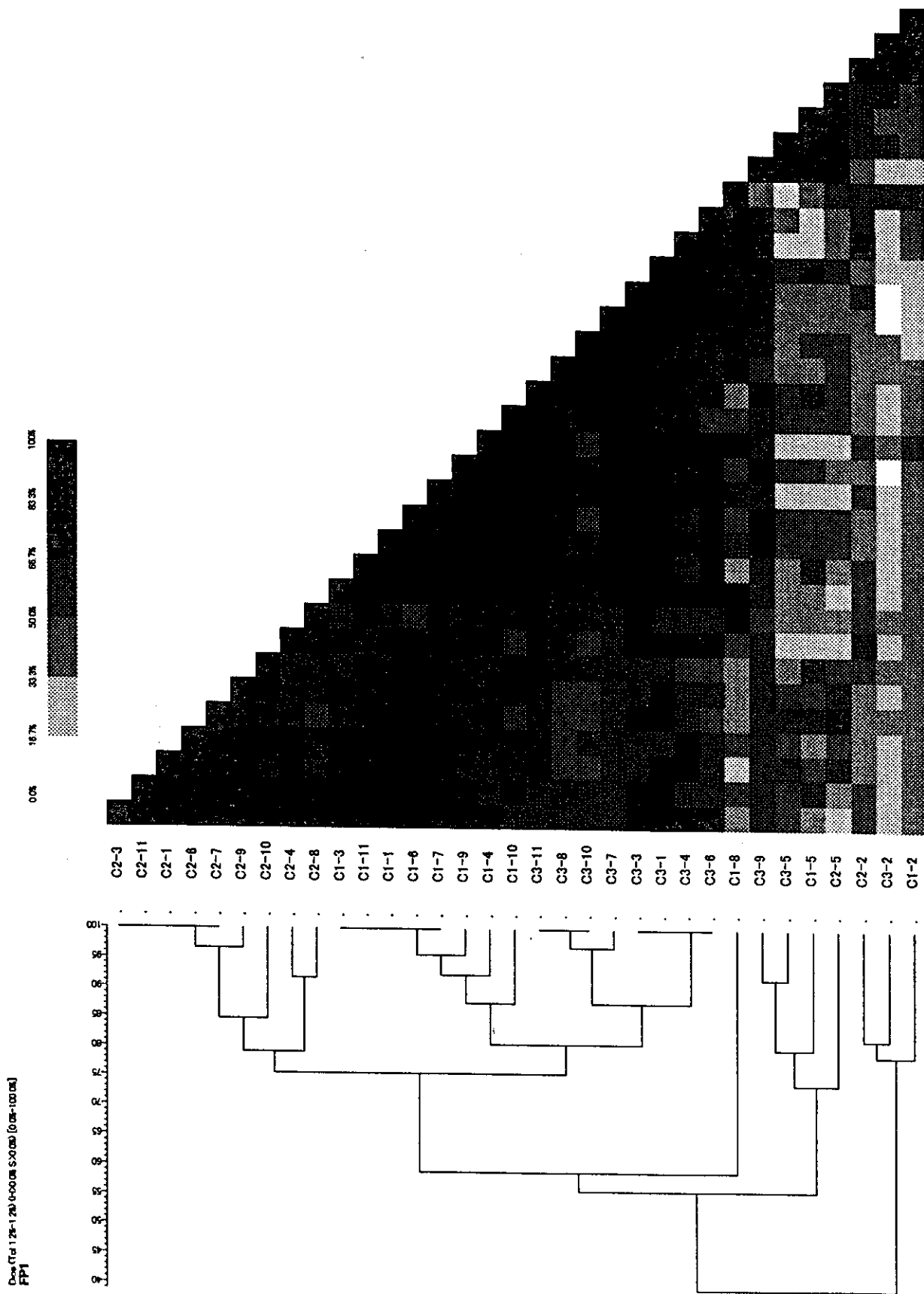
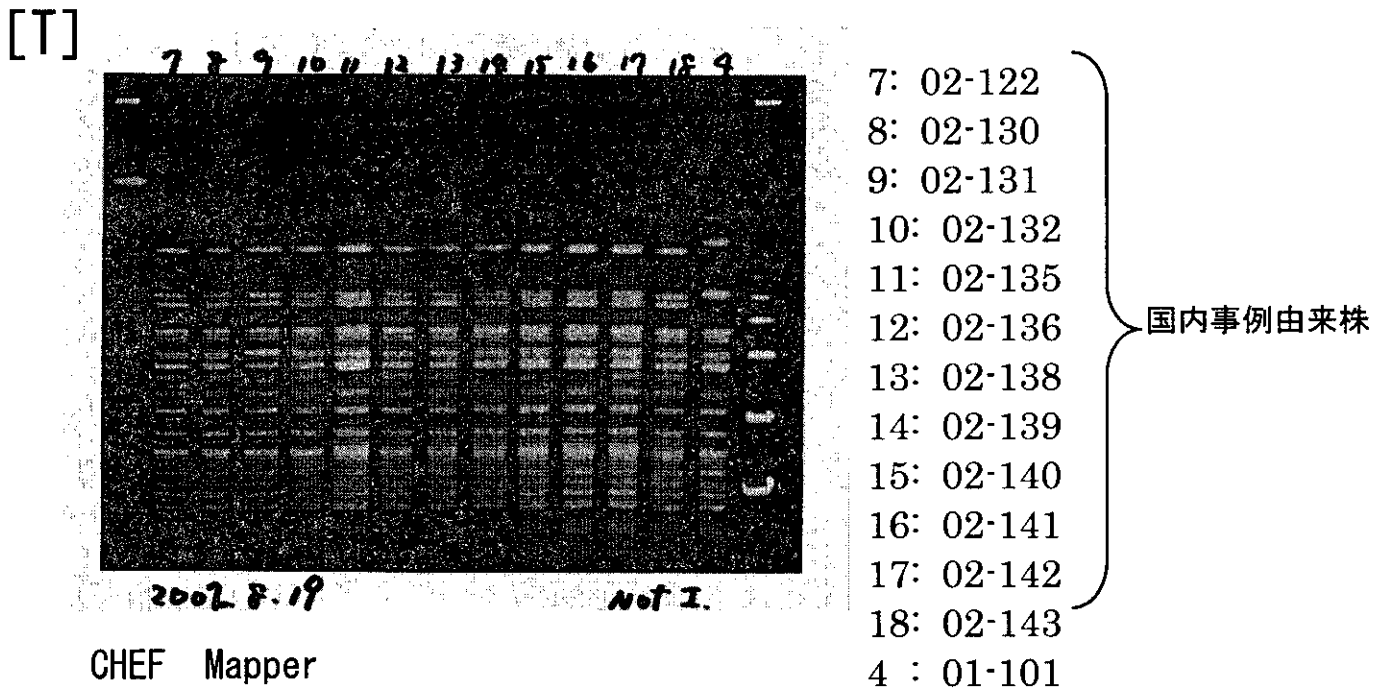
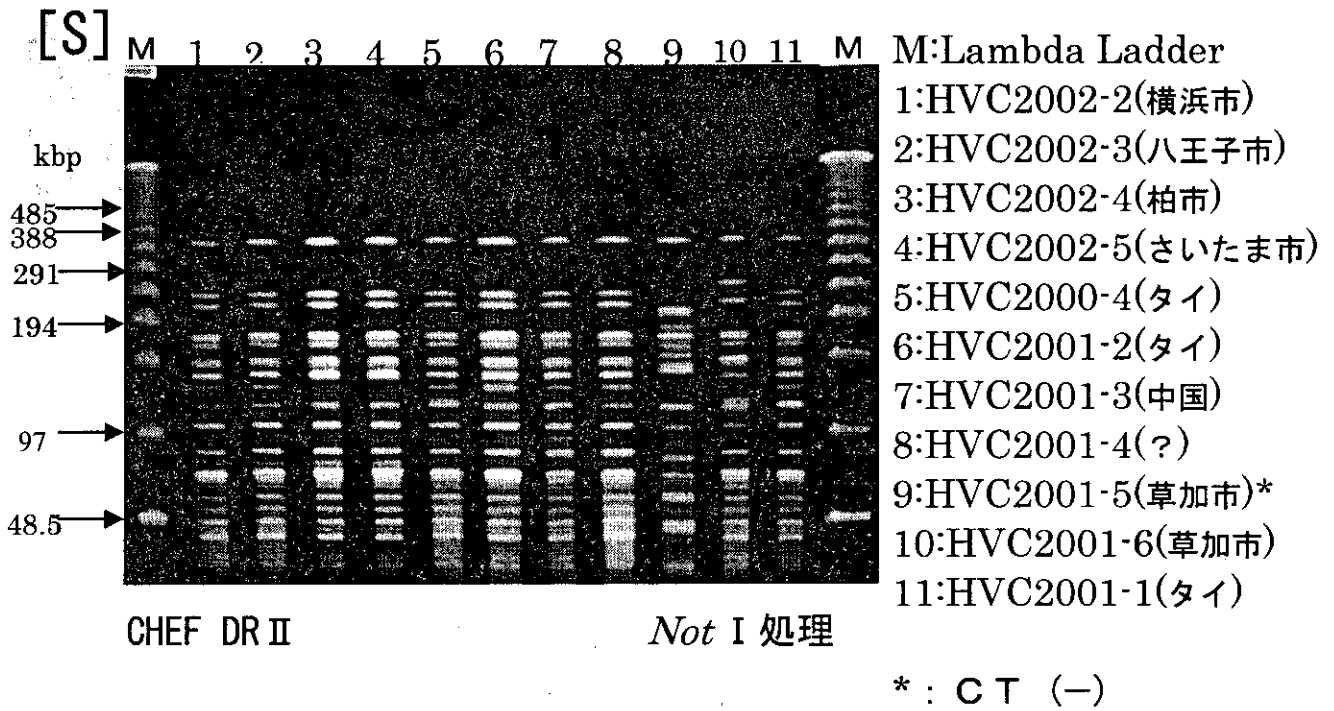


図 4b O157 共通株の解析(100Kb 以上のバンドを対象)

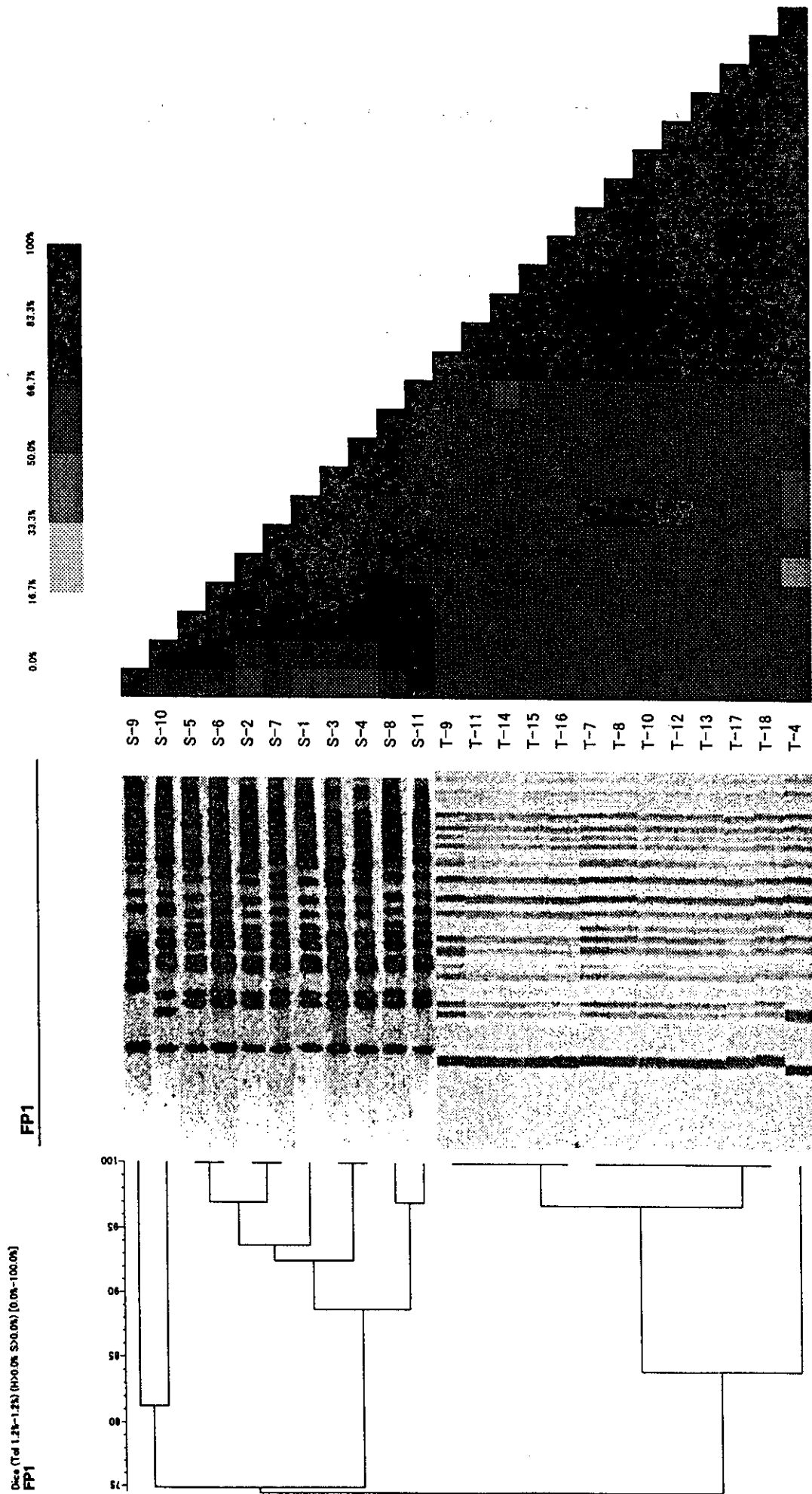




PFGE Program
 4s-8s 9hr
 8s-50s 11hr
 6V/cm

図 5 *V. cholerae* 01 El Tor Inaba のPFGEパターン

図 6 *V.cholerae* O1 El Tor Inaba の解析



IV. 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) 保育園で発生した O157 事例 (2002 年 7 月)
- 2) 焼肉店 O で発生した O157 事例 (2002 年 7 月)
- 3) 焼肉店 J で発生した O157 事例 (2002 年 8 月)

2. 茨城県衛生研究所

- 1) 当研究所で経験した散発事例について

3. 栃木県保健環境センター

- 1) 栃木県内の小学校における腸管出血性大腸菌 (O157) による集団感染事例
- 2) 宇都宮病院事件関連県内散発事例 PFGE

4. 群馬県衛生研究所

- 1) 腸管出血性大腸菌 O26 散発事例
- 2) 腸管出血性大腸菌 O157 散発事例
- 3) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症散発事例

5. 埼玉県衛生研究所

- 1) 当研究所で経験した散発事例について

6. 千葉県衛生研究所

- 1) 大学における腸管出血性大腸菌 O157 の集団発生事例

7. 神奈川県衛生研究所

- 1) O 保健所管内で多発した腸管出血性大腸菌 (O157) 患者について
- 2) 県内で同時期に発生した腸管出血性大腸菌 (O157) 患者について

8. 横浜市衛生研究所

- 1) 焼肉店を原因とした腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例

9. 山梨県衛生公害研究所

- 1) 毒素原大腸菌 O159 : HUT による食中毒事例について
- 2) 厚焼きたまごを原因とした *S. Enteritidis* の食中毒事例

10. 長野県衛生公害研究所

- 1) 馬さしから検出された腸管出血性大腸菌 O157 : H7 関連事例

11. 静岡県環境衛生科学研究所

- 1) PFGE を分離株の解析に利用した食中毒事例 : *S. aureus*
- 2) PFGE を分離株の解析に利用した食中毒事例 : *S. Enteritidis*
- 3) PFGE を分離株の解析に利用した食中毒事例 : *S. Saintpaul*

1. 東京都立衛生研究所

事例1 保育園で発生したO157事例（2002年7月）

パターン1（B区）

7月10日、B区内の病院より患者B子からEHEC O157(VT1・VT2)を検出した旨の3類感染症届け出がなされた。発症は7月5日で、T区内の保育園児であった。喫食調査の結果、発症6日前の6月29日に家族でU区内の焼肉店で食事をしていたことがわかった。検査の結果、非発症の母親（B母）からもEHEC O157(VT1・VT2)が検出された。2名のPFGEパターンは、「T-39d」で一致した。

飲食店に他の苦情はなく、検査の結果、O157も検出されなかった。

喫食メニューは、焼肉（タン、カルビ、ロース、ビビンバ、ユッケ刺（親のみ））であった。

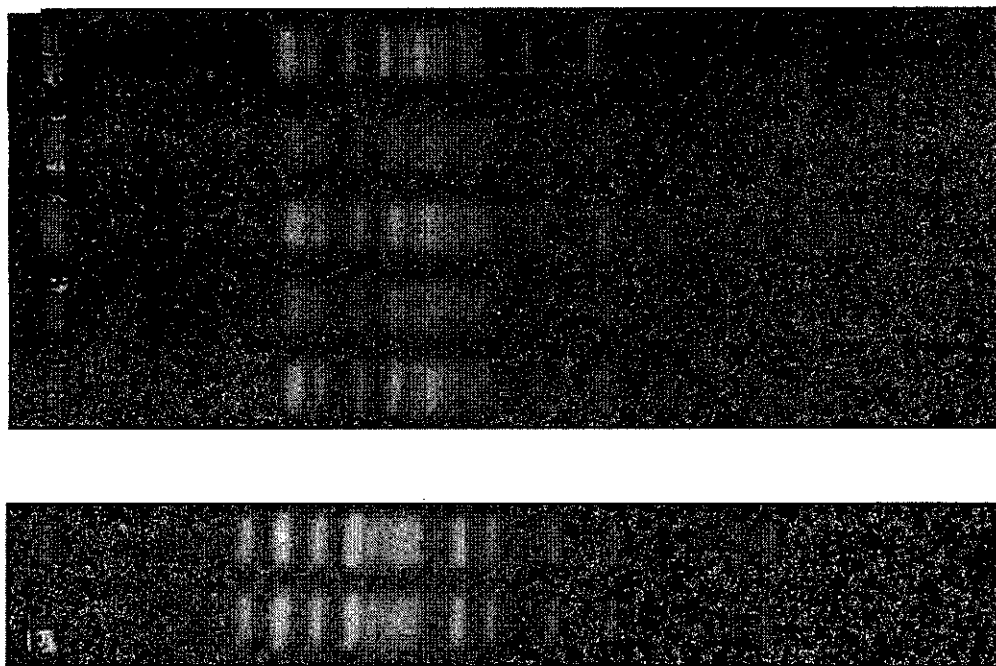
パターン2（T区内保育園）

B子の通う保育園で園児等の健康調査、検便を実施した結果、園児2名（C子、D子）の発病が確認され、検便からEHEC O157(VT2)が検出された。また、D子の母親と、保育士1名からもEHEC O157(VT2)が検出された。しかし、これらの菌株のPFGEパターンは、いずれも「T-25」であった。

措置

パターン1とパターン2の事例では、同じ保育園に通園する園児及び母親等から同時期にO157が検出されたが、PFGEパターンは一致せず、感染ルートは異なるものと推定された。

1 2 3 4 5 6 7



- 1. B子
- 2. B母

1. 2共にVT1+VT2産生株

- 3. } C子(同一人物)
- 4. }
- 5. D子
- 6. D母
- 7. 保育士

3~7:VT2産生株

事例1 保育園で発生したO157事例(2002年7月)

事例2 焼肉店Oで発生したO157事例(2002年7月)

パターン1(S区)

7月7日、S区保健センターで無症状の調理従事者1名(S母)からEHEC O157(VT1・2)を検出し、3類感染症届出がなされた。検便実施日は7月3日である。喫食調査の結果、6月30日に家族(夫と娘)3名でS区内の焼肉店Oにて会食をしていた。同グループに発症者はいなかったが、検便の結果、娘(S娘)からEHEC O157(VT1・2)が検出された。喫食メニューは、焼肉(カルビ、タン、ミノ)、冷麺、キムチ、サラダ、クッパ、豆モヤシナムルであった。

パターン2(M区)

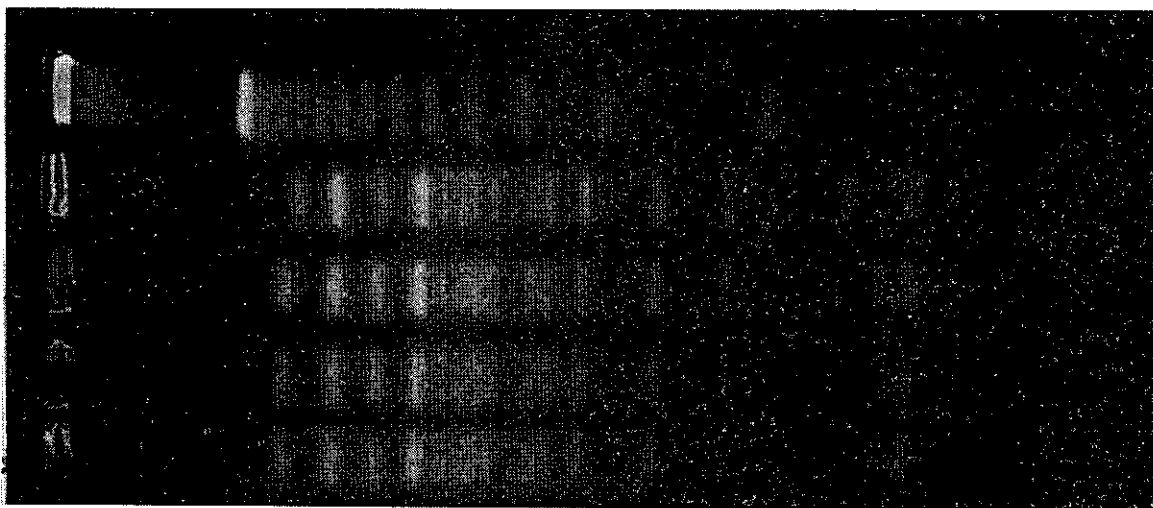
7月17日、M区内の病院より保健所へEHEC O157(VT1・VT2)を検出した患者(M)が1名いる旨の通報があり、3類感染症届出がなされた。発症日時は7月5日3時であった。喫食調査の結果、発症4日前の7月1日に家族3名でパターン1と同じ焼肉店Oで食事をしていたことがわかった。同グループに類症患者はなく、検便の結果はO157陰性であった。喫食メニューは、焼肉(牛タン、ロース、レバー)、豆腐サラダ、石焼きビビンバ、デグタンスープ、オイキムチであった。

措置

同時期に同じ焼肉店Oで喫食した異なる2グループから3名の感染者(S母、S娘、M)が発生し、それぞれの感染者からEHEC O157(VT1・2)が検出され、PFGEパターンは「T-39b」で一致した。さらに、当該焼肉店にて収去したカルビ(参考品)からもEHEC O157(VT1・2)を検出、PFGEパターンは「T-39」であり、同系統であった。

このことから、当該焼肉店Oで提供された食事が感染源として疑われた。しかし、1グループは2名とも無症状病原体保有者であり、調理従事者からO157は検出されないことから当該焼肉店を原因施設として特定することはできなかった。

1 2 3 4 M



1. 患者(M区) 疫学調査
 2. 保菌者S母(S区) 保菌者検索
 3. 保菌者S娘(S区) 保菌者検索
 4. 食品:カルビ(S区)
- M. マーカ

制限酵素:*Xba* I

事例2 焼肉店Oで発生したO157事例
(2002年7月)

事例3 焼肉店Jで発生したO157事例（2002年8月）

パターン1（N区）

8月3日、N区内の病院より保健所へEHEC O157(VT2)を検出した患者（N）が1名いる旨の通報があり、3類感染症届け出がなされた。発症日時は7月30日8時であった。喫食調査の結果、発症5日前の7月25日に7名でS区内の焼肉店Jにて会食をしていたことがわかった。同グループに類症者はなく、検便の結果、O157陰性であった。

喫食メニューは、焼肉（カルビ、タン塩、トントロ、ハラミ）、椎茸、ライス、サラダ、冷麺であった。

パターン2（S区）

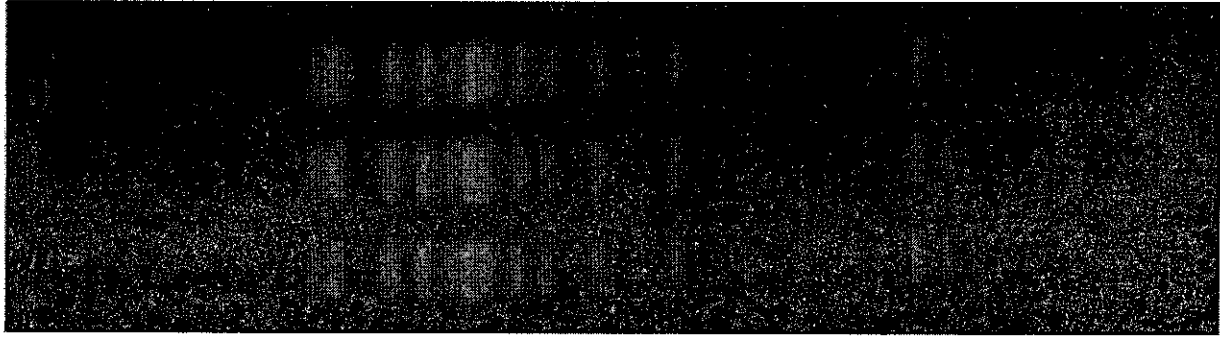
8月5日、S区内の病院より保健所へEHEC O157(VT2)を検出した患者（S）が1名いる旨の通報があり、3類感染症届け出がなされた。発症日時は7月28日10時であった。喫食調査の結果、発症3日前の7月25日に叔父と二人でパターン1と同じ焼肉店Jで食事をしていたことがわかった。叔父は非発症で、検便の結果、O157陰性であった。

喫食メニューは、焼肉（上カルビ、牛タン）、サラダ、ライス、ウーロン茶、アイスクリームであった。

措置

同一日に焼肉店Jで喫食した異なる2グループから2名の患者（N、S）が発生し、それぞれの患者からEHEC O157(VT2)が検出され、PFGEパターンが「T-25b」で一致した。さらに当該焼肉店Jの調理従事者1名からもEHEC O157(VT2)を検出、PFGEパターンも患者らと一致した。このことから、S区は焼肉店Jで提供された食事を原因とする食中毒と断定した。

1 2 3

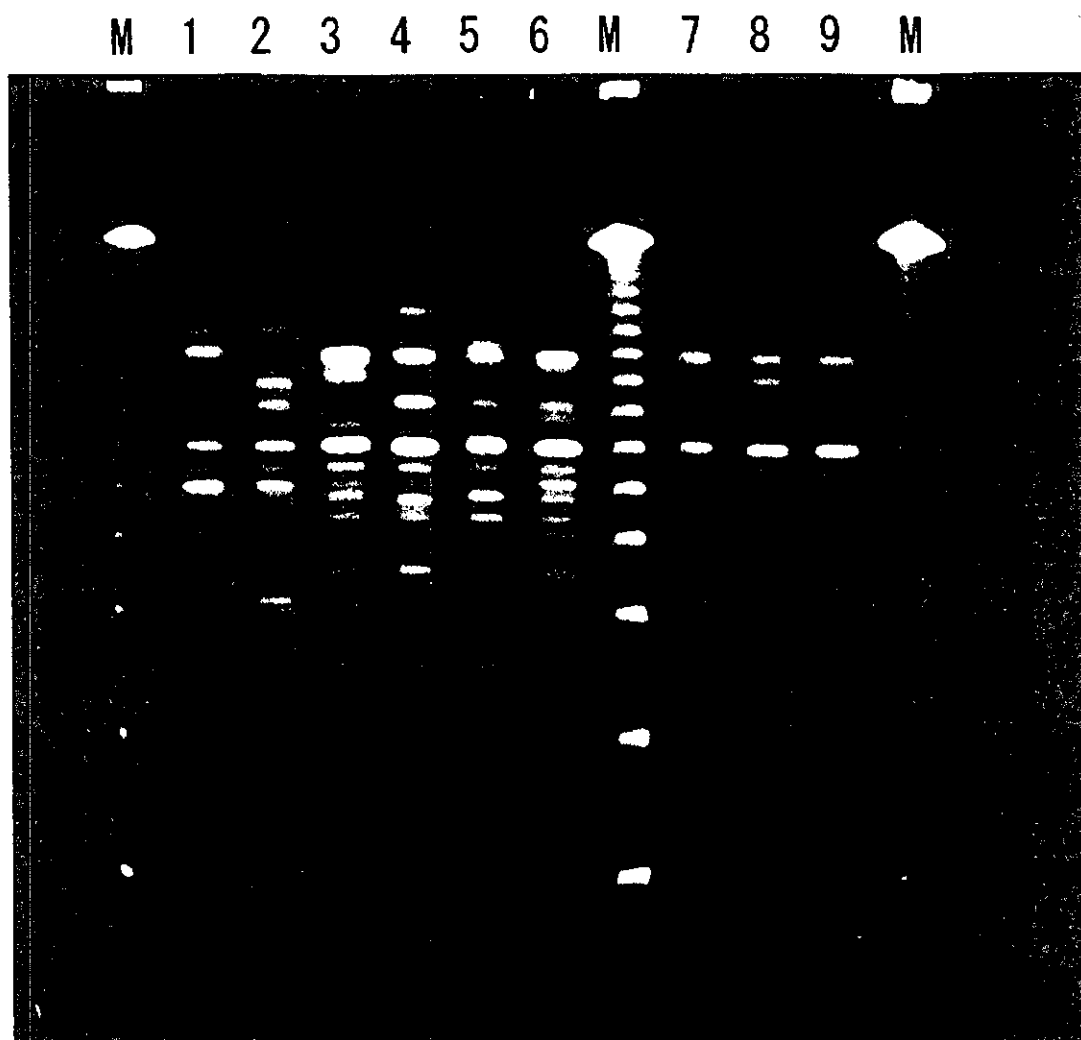


1. 患者(N区)疫学調査
2. 患者(S区)疫学調査
3. 焼肉店従業員

制限酵素: *Xba* I

事例3 焼肉店Jで発生したO157事例
(2002年8月)

2. 茨城県衛生研究所



M. マーカー

- | | | | | |
|----|-------------|--------|-------------------|------|
| 1. | 2002. 5. 15 | 0157H7 | VT ₂ | 散発事例 |
| 2. | 2002. 6. 24 | 0157H7 | VT ₂ | 散発事例 |
| 3. | 2002. 6. 30 | 0157H7 | VT ₁₊₂ | 散発事例 |
| 4. | 2002. 7. 20 | 0157H7 | VT ₁₊₂ | 散発事例 |
| 5. | 2002. 8. 9 | 0157H7 | VT ₂ | 散発事例 |
| 6. | 2002. 8. 20 | 0157H7 | VT ₁₊₂ | 散発事例 |
| 7. | パルスネット 1 | | | |
| 8. | パルスネット 2 | | | |
| 9. | パルスネット 3 | | | |

泳動条件 6.0 v / cm
 4 to 8sec 9 h r
 8 to 50sec 13 h r
 泳動装置 CHEF-DR III (BIO-RAD)