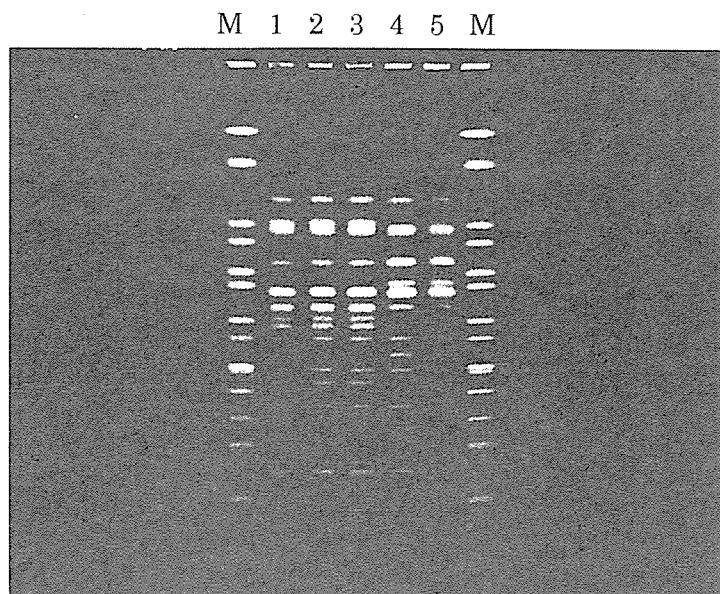


## 5. 長野県環境保全研究所

### EHEC O157 散発事例由来株



M:マーカー *Salmonella* Braenderup H9812

泳動条件 : 6V/cm 2.2sec~54.2sec 20 時間

Buffer 温度 12°C

レーン 1 : 患者 1

レーン 2 : 患者 2

レーン 3 : 患者 3

レーン 4 : 患者 4

レーン 5 : 患者 4 の家族 保菌者

7月、2週間に同一保健所に相次いで患者の届出があった。

患者の居住市町村は異なっていた。喫食調査の結果、患者の共通食は無く接觸歴もなかつたが、PFGE 解析の結果患者 1~3 で同一パターンを示した。

## 6. 東京都健康安全研究センター

O157 食中毒事例 Diffuse outbreak(2006年7～8月)

グループNo.	A	B	C	D	E	F	G
利用日時	6月15日	6月24日	7月9日	7月11日	7月12日	7月12日	7月12日
患者居住区	世田谷区	新宿区	大阪府	港区	川崎市	千葉県	千葉県
菌検出	O157 (VT1+2)	O121 (VT2)	O157 (VT1+2)	O157 (VT1+2)	O157 (VT1+2)	O157 (VT1+2)	O157 (VT1+2)
同一喫食者	4名 他3名も発症	13名 他は非発	5名 陰性	2名 他1名からも検出	16名 不明	約10名 他は非発	2名 不明

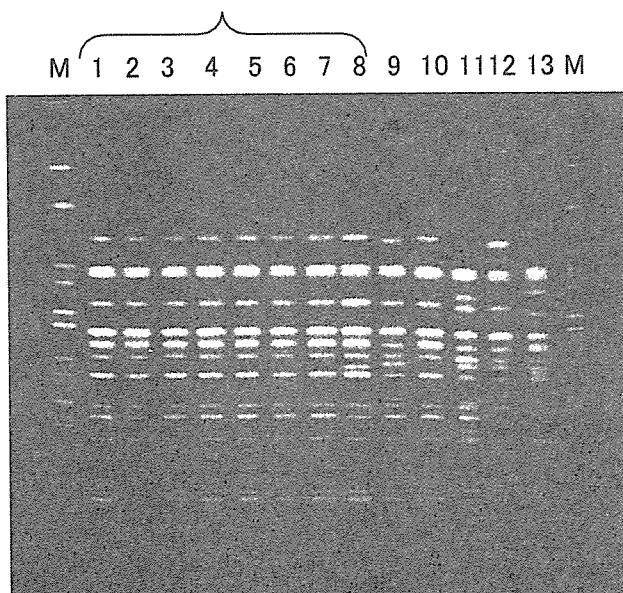
約1ヶ月に渡ってO157を検出  
他自治体からも患者が発生  
腸管出血性大腸菌O157(VT1+VT2) および O121(VT2) が検出された。



患者、従業員 合計8名からO157を検出  
同一利用者の複数グループからO157を検出  
患者・従業員8名から検出された8株のPFGEパターンが一致



営業停止5日間の行政処分が行われた



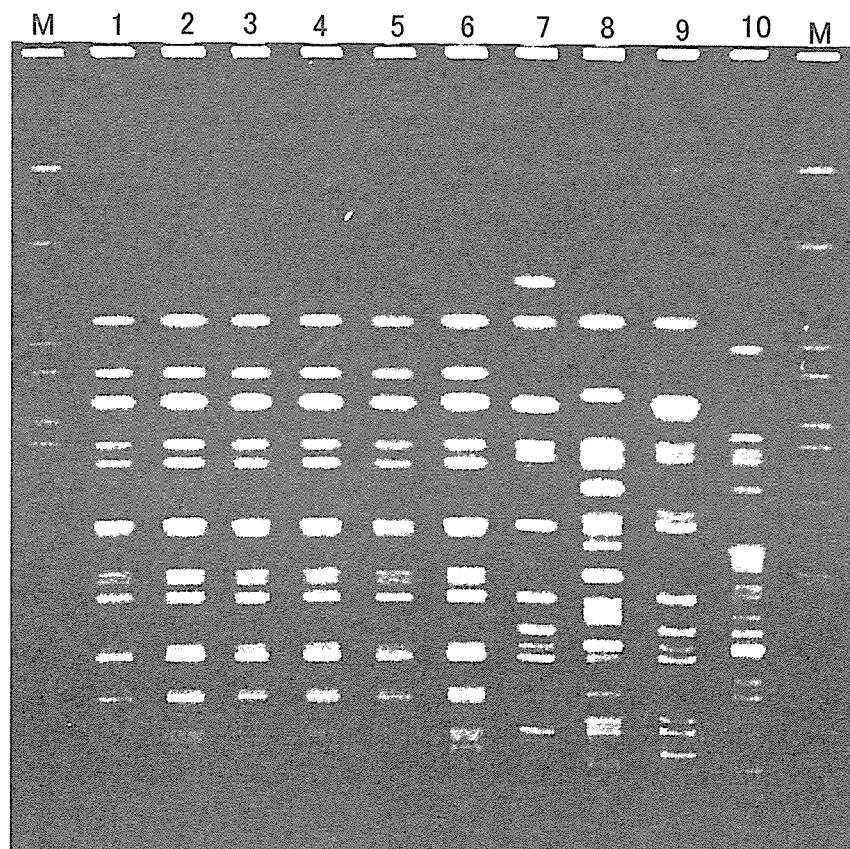
レーン1～8 : 本事例由来株  
レーン9～13 : 別事例由来株

菌株は全てO157(VT1+VT2)  
*Xba I*

## 7. 埼玉県衛生研究所

### *Salmonella* 血清型Enteritidisによる食中毒事例

2006年11月中旬に県内の個人宅において催された食事会の参加者33名中29名が下痢、発熱等の食中毒症状を発症し、複数の患者便から*S. Enteritidis*が検出された。調理従事者の便から*S. Enteritidis*が検出されたこと、発症者の共通食が食事会で提供された「まぐろの漬け」に限られること、患者(レーン1～5)及び調理従事者(レーン6)から分離された菌株の $Bln\ I$ による切断パターンが一致したことなどから、「まぐろの漬け」を原因とする食中毒事件と断定された。



M: *Salmonella* Braenderup H9812/ *Xba* I digestion    *Bln* I 处理  
1:Sa06230  
2:Sa06231  
3:Sa06232  
4:Sa06233  
5:Sa06234  
6:Sa06229  
7:Sa06228  
8:Sa06213  
9:Sa06212  
10:Sa06210

食中毒事例分離株

同時期県内散発事例分離株

## 8. 静岡県環境衛生科学研究所

### (1) *Salmonella* 血清型 Newport 食中毒事例の概要および分離株の PFGE 画像

概要：静岡県掛川市内の飲食店で平成 18 年 6 月 24 日に会食した 25 人中 10 人が、25 日夜より下痢、腹痛、発熱、嘔吐等の症状を呈した。

1,6,11 レーン : DNA サイズマーカー (*S. Braenderup* H9812)

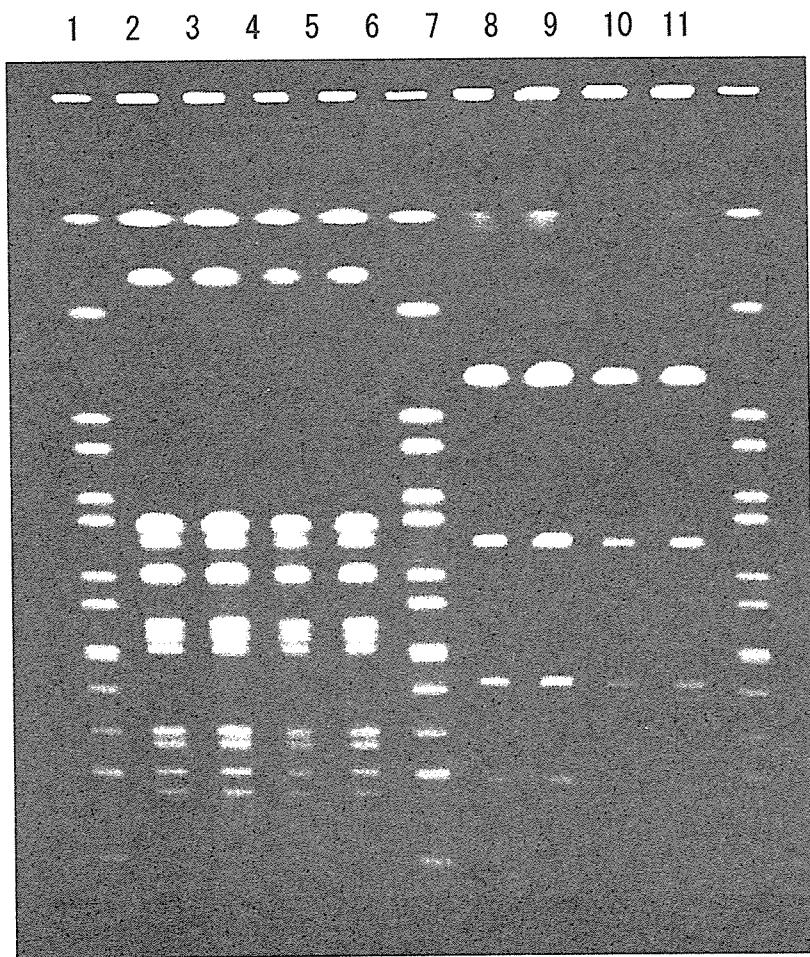
2,7 レーン : 原因施設排水口ふき取り由来株 (保健所分離株)

3,8 レーン : 有症者由来株 (保健所分離株)

4,9 レーン : 患者由来株 (病院分離株)

5,10 レーン : 患者由来株 (病院分離株)

2~5 レーンは *Xba*I, 7~10 レーンは *Bln*I で処理



## 8. 静岡県環境衛生科学研究所

### (2) *Salmonella* 血清型 Enteritidis 食中毒事例の概要および分離株の PFGE 画像

概要: 平成 18 年 10 月 21 日に静岡県伊東市の旅館に宿泊した 3 グループ 10 人のうち 7 人が、23 日朝方より発熱・下痢等の症状を呈した。

1,6,11 レーン : DNA サイズマーカー (*S. Braenderup* H9812)

2,7 レーン : 有症者由来株 (保健所分離株)

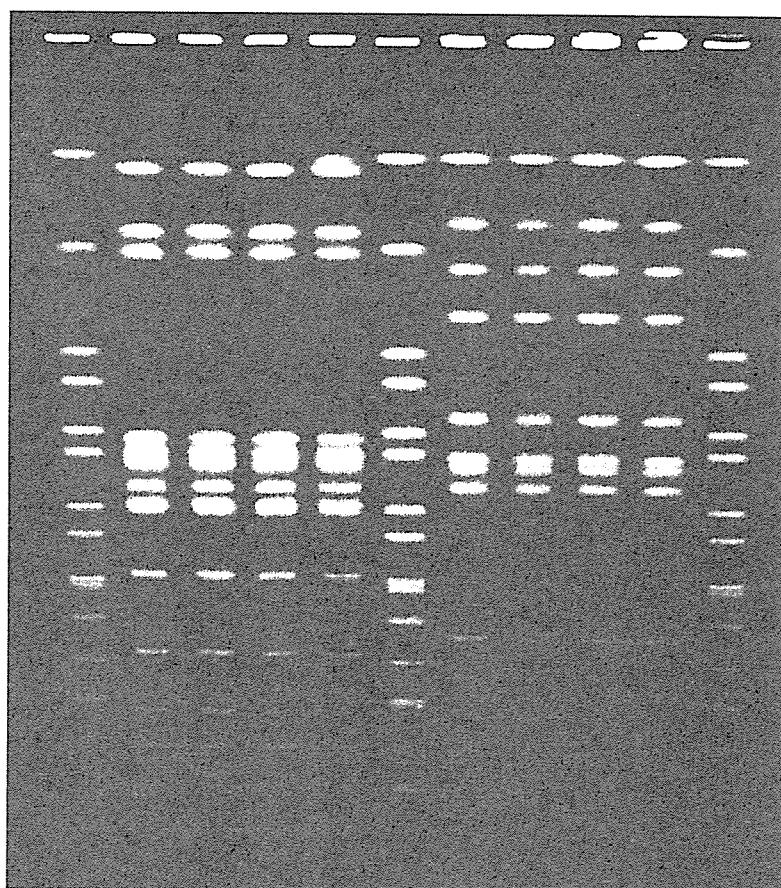
3,8 レーン : 喫食者由来株 (保健所分離株)

4,9 レーン : 有症者由来株 (保健所分離株)

5,10 レーン : 有症者由来株 (保健所分離株)

2~5 レーンは *Xba*I, 7~10 レーンは *Bln*I で処理

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11



## 9. 東京都健康安全研究センター

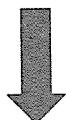
### *Salmonella* 血清型Enteritidisによる食中毒事例

#### 事例1

平成18年9月、S区内の医療機関から、兄弟2名からサルモネラを検出したとの連絡があった。当センターで行った検査の結果、家族3名の糞便と患者宅に残っていた鶏卵（参考食品）から *S.Enteritidis*が検出された。このことから、本事例は家庭での食事が原因の食中毒と断定された。

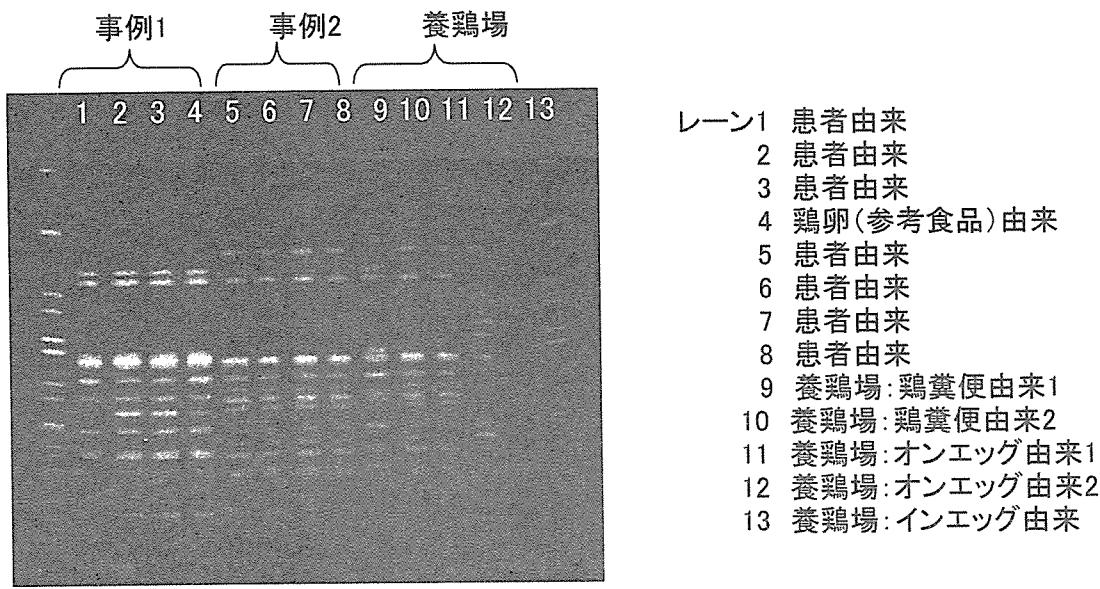
#### 事例2

平成18年10月、N区内の小学生が長野県に移動教室へ行ったところ、児童等が下痢、腹痛、嘔吐などの食中毒症状を呈しているとの連絡があった。患者数は66名で、移動教室に参加していない他の学年からは、発症者がいないことから、移動教室での食事（鶏卵を使った料理（厚焼き玉子）あり）が疑われた。患者糞便について検査した結果、*S.Enteritidis*が検出されたため、食中毒と断定した。



事例1および事例2で喫食した鶏卵について遡り調査を行ったところ、いずれも同一県のある養鶏場の鶏卵であることが分かった。

事例1由来株、事例2由来株、および養鶏場の調査で分離された*S.Enteritidis*についてPFGE解析を行ったところ、事例1と事例2由来株のPFGEパターンは異なっていた。しかし、養鶏場由来株の一部と事例2由来株のPFGEパターンが一致したことから、何らかの関連があるものと示唆された。



*S.Enteritidis*  
制限酵素: *Bln* I

腸管出血性大腸菌血清型 O157 による集団および家族内発生事例の解析における variable number of tandem repeats 型別の有効性

千葉県衛生研究所 横山栄二、内村眞佐子

#### A. 研究目的

腸管出血性大腸菌血清型 O157 (EHEC O157)による diffuse outbreak 把握を目的として、 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 解析が行われているが、解析終了までに時間がかかるという欠点がある。そこで近年、DNA に存在する繰り返し配列のうち、変異しやすい variable number of tandem repeats (VNTR) 領域の繰り返し数に基づく VNTR 型別が注目されている。今回我々は、PFGE 解析のスクリーニングとして VNTR 型別が使用可能であるかについて調査した。

#### B. 研究方法

##### 1)供試菌株

千葉県内で 2006 年に分離された 79 株の EHEC O157 (VT1: 6 株、VT2: 32 株、VT, VT2: 41 株) を使用した。

##### 2)PFGE 解析

PFGE はパルスネット標準プロトコルにより実施した。PFGE パターンのクラスター解析は既報(Epidemiol. Infect. 134:1004-1014)のとおり実施した。有効なクラスターの定義は、類似度 90%以上とした。

##### 3)VNTR 型別

VNTR 型別は、Lindstedt ら(J. Microbiol. Methods 58:213-222)により実施した。増幅産物サイズからの繰り返し数の算出は、小数点第 2 位で四捨五入し、その繰り返し数を BioNumerics Ver.4 (Applied Math) に入力した。クラスター解析は、ピアソンの相関係数により類似度を算出し、樹形図を UPGMA 法で作成した。

#### C. 研究結果

供試菌株中、家族内発生および集団発生由来 29 株の全てが、VNTR 型別のクラスター解析で類似度 95%以上のクラスターを形成した。PFGE 解析でもこれらの菌株は全てクラスターを形成した。VNTR 型別のクラスター解析で、毒素型の異なる菌株が含まれる類似度 95%以上のクラスターが 2 個形成された (図 1)。

#### D. 考察

UPGMA 法によるクラスター解析では、最終的に一つのクラスターになるまでクラスター解析が行われるアルゴリズムとなっている。したがって有効なクラスターを決定するために、一定の類似度で樹形図を切断し、その類似度以上で形成されている菌株のグループを有効なクラスターとして定義する必要がある。

本研究では、疫学的関連株の全てが類似度 95%以上のクラスターを形成したことから、今回用いた EHEC O157 における VNTR 型別のクラスター解析では、類似度 95%で樹形図を切断することが適当であると考えられた。また、毒素型の異なる EHEC O157 によるクラスター形成が認められることから、古典的疫学マーカーである毒素型を併用することでより効果的な型別が可能であると思われた。

#### E. 結論

PFGE 解析と VNTR 解析で、疫学的関連株の全てがクラスターを形成したことから、VNTR 解析は PFGE 解析のスクリーニングとして有効であることが明らかとなった。VNTR 型別は施設間でのデータ比較が簡易に行える、ということが報告されており、パルスネットにおいて PFGE 解析を補完出来る可能性があると思われる。

#### F. 研究発表

1. 横山栄二、内村眞佐子 (2006) variable numbers of tandem repeat typing(VNTR)型別のクラスター解析による腸管出血性大腸菌 O157 の型別、第 10 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム

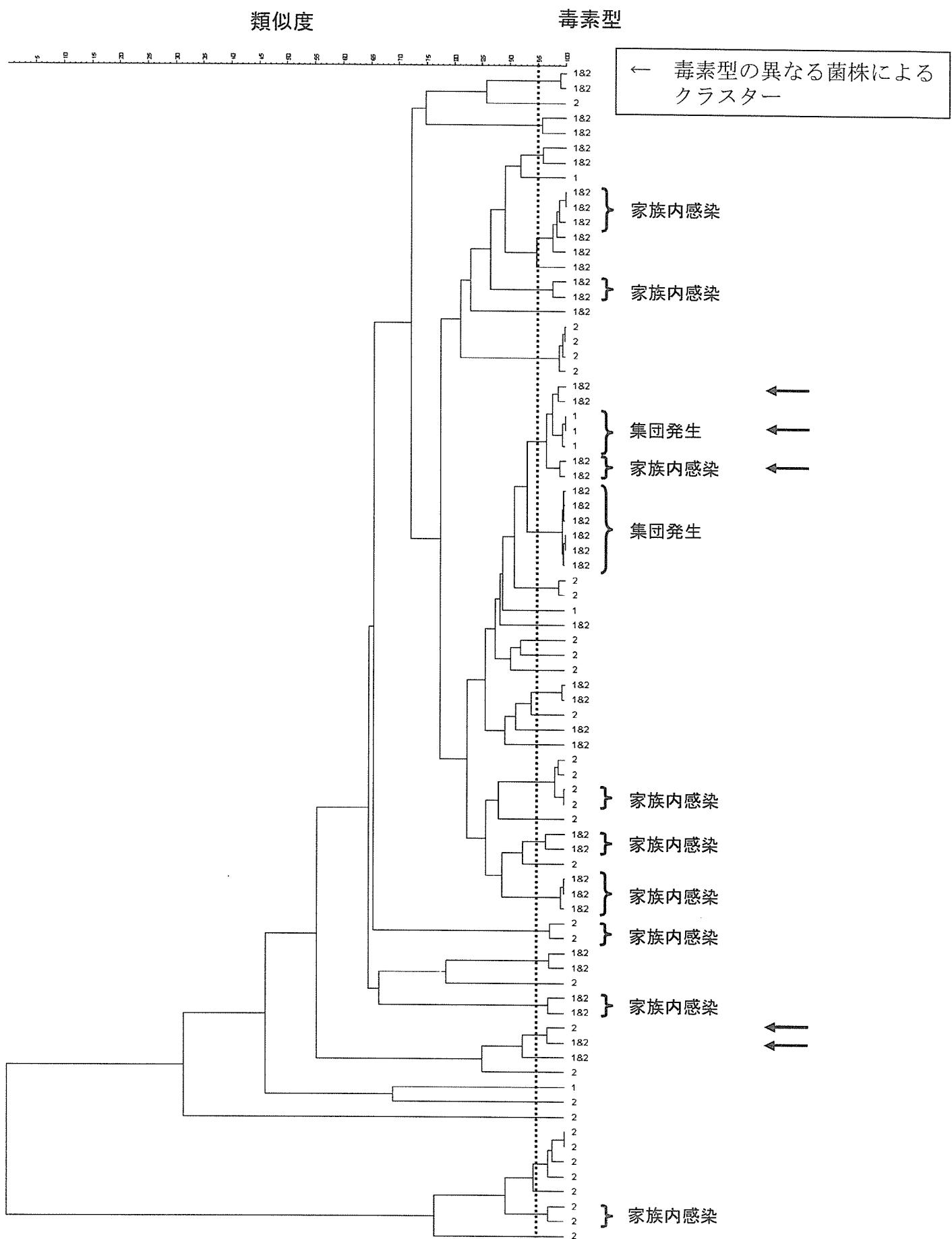


図1 2007年に千葉県内で分離されたEHEC O157のVNTR型別のクラスター解析

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 9 地方衛生研究所のパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）の行政への還元と PCR を用いた腸管出血性大腸菌 0157 の型別法（IS printing system）の検討

主任研究者 寺嶋 淳 国立感染症研究所  
分担研究者 松本昌門 愛知県衛生研究所  
研究協力者 鈴木匡弘 愛知県衛生研究所  
児玉洋江 石川県保健環境センター  
白木 豊 岐阜県保健環境研究所  
田中保知 岐阜市衛生試験所  
木全恵子 富山県衛生研究所  
奥村貴代子 豊田市衛生検査所  
石畠 史 福井県衛生研究所  
岩出義人 三重県科学技術振興センター保健環境研究部  
藪谷充孝 名古屋市衛生研究所

研究要旨

平成 18 年度東海・北陸ブロック研究班活動として、ブロック内 9 地研が 0157 をはじめ各種病原菌による集団発生時に PFGE を行い、その結果を保健所、及び県庁（市役所）に報告した事例（行政への還元）について調査を行った。

ブロック内 9 地研中 5 地研（富山県、岐阜市、岐阜県、福井県、愛知県）が今年度集団発生の際に PFGE を実施し、その結果を行政に還元していた。その件数は 4 地研（岐阜市、岐阜県、福井県、愛知県）が 1 から 3 事例であった。富山県は腸管出血性大腸菌に関しては集団、散発事例全ての菌株、2 類感染症菌については集団事例全ての菌株について PFGE を実施し、その結果を行政へ還元していた。また PFGE を行った病原菌は腸管出血性大腸菌 0157、サルモネラ、赤痢菌及びカンピロバクターであった。残りの 4 地研では今年度は行政に還元した事例がなかったため各地研で検出された 0157、サルモネラ、赤痢菌について PFGE を実施した。これら 9 地研の PFGE 画像は全て疫学的資料として用いるに足る良質な画像であった。これは過去 6 年間のパルスネット研究班活動の成果であると思われる。今後、東海・北陸ブロック各地研で疫学調査等に PFGE の利用が増大すると予想されるため、PFGE 精度管理等を実施し、東海・北陸 9 地研の PFGE 画像の質を高く保つことが重要であると思われた。今回の調査では 0157 の他にサルモネラ、赤痢菌及びカンピロバクターも PFGE の対象となったことからこれら食中毒菌も今後、精度管理の対象とすべきであろう。

東海・北陸 6 地研で行なった IS printing system の PFGE との解析力、簡便性及び迅速性の比較検討から、本法は PFGE が同じく非常に類似した集団事例由来株を同一若しくは IS パターンのひとつ異なるパターンに分類することから PFGE と解析力に関しては同程度と考えられる。また、簡便性、迅速性に関してはより優っていると思われた。今回の検討で若干の修正点が出されたが、これらを改良することで PFGE と同じように集団発生時の疫学解析の有力な手段となることが期待される。

## A. 研究目的

我が国で腸管出血性大腸菌 0157 による diffuse outbreak (散在的集団事例) を迅速に検出するシステムである「パルスネットジャパン」の稼働に向けた研究班活動が平成 12 年度から平成 17 年度まで行われた。すなわち平成 12 年度から 14 年度は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、平成 15 年度から平成 17 年度は食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究である。

愛知県衛生研究所（愛知衛研）では過去 6 年間に研究班活動として、0157、サルモネラ、赤痢菌の PFGE 実施統一プロトコール作成、及び愛知県下で過去 10 年間に検出されたサルモネラ、赤痢菌それぞれ約 150 株について PFGE を行い、そのバンドパターンのデータベース作成、また東海・北陸ブロック内の活動として 1) 年 2 回の 0157 の PFGE 精度管理、2) 東海・北陸ブロック地方衛生研究所（地研）PFGE 担当者を愛知衛研に集め、PFGE 実施手順に関する研修会を実施（平成 17 年 1 月）した。

これらの研究班活動の成果として毎年 PFGE 担当者が 1 名～2 名程度変わる東海・北陸ブロック内地研においても年 2 回の精度管理のなかで第 2 回には同一 PFGE 型 0157 の PFGE バンドパターンの相同性を約 90 % 若しくはそれ以上まで高めることができた。このことから東海・北陸ブロック内地研では diffuse outbreak のみならず県内の 0157 等集団発生の際にも疫学的資料として用いるに足る良質な画質を提供することが可能であると思われる。また、我が国の PFGE 実施統一プロトコールに基づいて作成したサルモネラ、赤痢菌のバンドパターンのデータベースは国立感染症研究所（感染研）及び他の地研のデーターと共に相当量のデータベースとなり、その活用が期待される。

平成 18 年度から 20 年度までの 3 年間、感染研及び全国の 5 代表地研との間で「パルスネットジャパン」稼働のために全国の地研 PFGE 画質の向上を目的として新たに研究班活動の開始が決定された。東海・北陸ブロックではこれま

で 6 年間の研究班活動で集団発生時の疫学的資料として充分な PFGE 画質が得られたと考えられる。従って、今年度は東海・北陸ブロック各地研が 0157 及び他の病原菌による集団発生時に PFGE を行い、その結果を保健所、及び県庁（市役所）に報告した代表事例（行政への還元）を主体として調査を行った。これらの調査結果は今後の 2 年間の研究班活動で 0157 以外ではどのような病原菌を対象とするべきか等貴重な情報を得ることができるであろう。

また、0157 の PCR 型別法 IS printing system (東洋紡より分与) についてブロック内 6 地研において解析力、簡便性及び迅速性について PFGE 法との比較検討を行った。

## B. 研究方法

[I] 行政への還元に関する調査：平成 18 年 4 月から 12 月までの間に東海・北陸各地研で各種病原菌による集団事例の際に PFGE を行い保健所、及び県庁（市役所）に報告した事例について、その件数及び代表 1 事例について事例の概要、PFGE 泳動図を愛知衛研に送付した。

また、該当する事例がない地研については今年度、各地研で検出された病原菌について PFGE を行い、菌株情報（分離年月、由来等）及びその泳動図を愛知衛研に送付した。

[II] IS printing system : 添付のプロトコールに従い東海・北陸 6 地研で検出された 0157 について行い、その代表泳動図、菌株情報及び結果を愛知衛研に送付した。なお試供菌株数、PFGE との比較検討は各地研が独自に行つた。

## C. 研究結果

[I] 東海・北陸 9 地研の行政への還元に関する調査

東海・北陸 9 地研のうち 5 地研（富山県、岐阜市、岐阜県、福井、愛知県）では今年度集団発生の際に PFGE を実施し、その結果を行政に還元していた。その件数は 4 地研（岐阜市、岐阜県、福井、愛知県）が 1 から 3 事例であった。富山県は 0157 をはじめ腸管出血性大腸菌に関しては集団、散発事例全ての菌株、2 類感染症菌については集団事例全ての菌株について PFGE を

実施し、結果を行政への還元していた（各地研から当所に送られた5地研の事例の概要、PFGE泳動図等は本文末にまとめて示した）。

代表1事例の概略は、富山県は平成18年8月に保育園で発生した園児、職員及び家族74名が感染した0157の集団事例であった。分離された0157のPFGEバンドパターンは同じか非常に類似したパターンであった。岐阜市は市内で平成18年2月及び5月に発生した3つのカンピロバクター食中毒事例であった。これら事例では血清型別不能株が多く認められたが、PFGEでは型別可能でありPFGEの有用性が示された。岐阜県は*Salmonella Enteritidis*による食中毒事例であった。平成18年11月に病院給食を原因として摂食者677名中患者112名の大規模食中毒であった。患者と原因食から分離されたPFGE型は同一であった。福井県は1飲食店が原因と考えられる0157食中毒事例であった。平成18年7月に家族2名を含む3名が0157に感染した。3名から分離された0157バンドパターンは同じか非常に類似したパターンであった。愛知県は同一地区内で続発した*Shigella flexineri 2a*の集団事例であった。患者2名から分離された*Shigella flexineri 2a*のバンドパターンは同一であった。

今年度行政への還元がなかった残り4地研（石川県、三重県、豊田市、名古屋市）に関しては各地研で検出された0157をはじめサルモネラ、赤痢菌についてPFGEを実施した（その泳動図及び菌株情報は本文末にまとめて示した）。その概略は、石川県は平成18年に発生した0157、赤痢菌及びカンピロバクターの集団事例についてであった。3事例何れも同一集団事例由来株は同じバンドパターンであった。三重県は県下で検出された集団、散発事例由来29株の0157についてPFGEを行った。5家庭内事例由来株はそれぞれの事例内で同じ若しくは非常に類似したバンドパターンであった。豊田市は市内で検出された18株の0157についてPFGEを行った。3集団事例由来株（1食中毒疑い、2家庭内事例）は事例内では同一若しくは非常に類似したバンドパターンであった。しかし、散発事例由来株とはそのバンドパターンは異なっていた。名古屋市は平成18年に検出された

12株の0157についてPFGEを行った。3家庭内事例由来株は同一事例株は同じバンドパターンであった。しかし散発事例由来株とは異なっていた。東海・北陸9地研のPFGE泳動図は何れも良質で目視にてバンドパターンの認識を容易に行うことが可能であった。

## [II] 東海・北陸6地研のIS printing systemの検討

### 1) PFGEとの解析力の比較

東海・北陸6地研（富山県、岐阜市、岐阜県、豊田市、福井県、愛知県）においてIS printing systemの検討を実施した。各地研が実施した試供菌株数は4株から31株であった。6地研のうち4地研はPFGEとの解析力の比較を行った（但し、IS-printing Systemでは、バンドが薄く判定困難なため判定可能な部分のみで比較した株を含む）。

以下にPFGEとの解析力の比較を行った4地研の結果の概略を示す（本文末にIS printing systemの代表泳動図及び結果、若しくは結果のみを示した）。富山県では前述した保育園での集団事例由来株4株についてPFGE及びIS printing systemを実施した。PFGEバンドパターンの非常に類似した4株のISパターンは全て同じであった。岐阜県は18株の0157について実施した。PFGE型別結果の比較はPFGEでのバンドパターンが同じであった5組10株は、すべてIS printing Systemにおいても各々同じパターンを示した。PFGEでバンドパターンが異なる18株では、2組4株がIS printing Systemにおいて同じパターンを示したが、それ以外の株はすべて異なるパターンを示した。PFGEでバンド1本のみ異なる3組6株では、IS printing Systemにおいては各々同じパターンを示した。豊田市は14株について行った。同一PFGE型であった1食中毒疑い6株のISパターンはひとつのパターンが異なる3つ型に分かれた。しかし同一PFGE型であった1家庭内事例由来2株は同一ISパターンであった。愛知県では31株について実施した。何れも同一若しくは非常に類似したPFGE型であった6集団事例由来株は1事例ではISパターンは同じであった。4事例ではISパターンはお互いにひとつのパターンが異なる

2つの IS パターンに分かれた。また 1 事例では 2つの IS パターンに分かれたが、そのパターンは 4つ異なっていた。また、IS printing system は PFGE で Degradation となり型別不能であった 1 株についても型別可能であった。これらの結果から IS printing system の解析力は PFGE と同程度と考えられた。

IS printing system のみ実施した 2 地研についての概略は、岐阜市は 4 株の 0157 について実施した。菌株の由来は不明であるが、4 株中 3 株は同じ、1 株は異なる IS パターンであった。福井県は 22 株について実施した。

## 2) IS printing system を使用しての評価

以下に各地研から寄せられた IS printing system を使用しての評価を示した。

### 長 所

1. 迅速性、簡便性に優れ、特に集団感染発生時の確認等においては有用である。

### 難点

1. 不明瞭なバンドがあった。撮影後目視でチェックしておくとよいと思われたが、検体数や出現バンド数が多いと、確認が煩雑で、チェックミスが生じやすい。

2. *eae* primer の PCR が増幅されないか、非常に薄い。

3. アガロース S (和光純薬) を用いたためか、バンド間が接近しすぎて若干判定に戸惑った。

### その他

1. Loading Dye の青い色素がゲルから流れ出でなくなってしまうまで泳動したほうが增幅バンド間の距離が最大になり確認しやすいと思われた。

2. 100bp の DNA ladder を一緒に泳動するとバンドサイズの確認になる。

3. Standard DNA をそれぞれの set Primer Mix の系の両側に泳動し、両端の各 Primer No. のバンドを直線で結ぶと、バンドの有無を確認しやすい。また、数検体おきに Standard DNAを入れるようにしたほうが、バンドの確認がしやすいと思われる。

4. 泳動像を見てバンドの確認をしながら、結果を記入していく様式を準備しておくとよいと思われた。添付文書のデータ集計表だと、泳動

像で見た場合と並び方が縦横逆になる。

## D. 考察

東海・北陸 9 地研の行政への還元に関する調査では今年度は 5 地研で PFGE の結果が集団事例発生時に行政に還元されていた。これら 5 地研の泳動図は疫学調査等に活用されるに充分な画質を有していた。また行政への還元の機会が今年度はなかった残り 4 地研に関しても充分な PFGE 画質を維持しており、これまで 6 年間の研究班活動の成果であると思われた。

富山県を除いて他の 4 地研では活用例は年間 1 から 3 事例であり、残りの 4 地研では行政への還元の機会が今年度はなかった。しかし細菌性感染症及び食中毒件数は激減してはおらず、本研究班活動からも小規模ながら diffuse outbreak の発生を毎年検出している。従って、今後も PFGE 精度管理を実施し、東海・北陸 9 地研の PFGE 画像の質を高く保つことは重要であると思われる。

今年度、行政に還元された集団事例由来病原菌は 0157 をはじめサルモネラ、赤痢菌及びカンピロバクターであった。今後の研究班活動で PFGE 精度管理を行う際にはこれら食中毒菌も念頭に置いて実施すべきであると思われる。

東海・北陸 6 地研で行なった IS printing system の検討から、本法は PFGE が同じか非常に類似した集団事例由来株は同一若しくは IS パターンのひとつ異なるパターンに分かれたことからその解析力は PFGE と同程度と考えられた。さら簡便性、迅速性に関しては C. 研究結果

[II] 2) IS printing system を使用しての感想からも IS printing system の方が PFGE より優っていることは明らかであった。今回の検討で出された若干の修正点を改良することで PFGE と同じように集団発生時の疫学解析の有力な手段となることが期待される。

## E. 結論

平成 18 年度東海・北陸ブロック研究班活動として、ブロック内 9 地研が 0157 をはじめ各種病原菌による集団発生時に PFGE を行い、その結果を保健所、及び県庁（市役所）に報告した事例（行政への還元）について調査を行った。

その結果、5地研（富山県、岐阜市、岐阜県、福井県、愛知県）では今年度集団発生の際にPFGEを実施し、その結果を行政に還元していた。その件数は4地研（岐阜市、岐阜県、福井県、愛知県）が1から3事例であった。富山県は0157をはじめ腸管出血性大腸菌に関しては集団、散発事例全ての菌株、2類感染症菌については集団事例全ての菌株についてPFGEを実施し、その結果を行政への還元していた。PFGEを行った病原菌は0157、サルモネラ、赤痢菌及びカンピロバクターであった。残りの4地研では今年度PFGEの行政への還元がなかったことから各地研で検出された0157をはじめサルモネラ、赤痢菌についてPFGEを実施した。得られたPFGE画像は9地研とも全て疫学的資料として用いるに足る画質であった。これは過去6年間の研究班活動の成果であると思われた。今後、疫学調査等にPFGEの結果が必要となることが充分予想されることから、精度管理等を実施し、東海・北陸9地研のPFGE画像の質を高く保つことは重要であると思われる。また、今年度、行政への還元を行なった対象菌種は、0157、サルモネラ、赤痢菌及びカンピロバクターであったことから、今後のPFGE精度管理はこれら食中毒菌も念頭に置いて実施すべきであろう。

東海・北陸6地研で行ったIS printing systemのPFGEとの解析力、簡便性及び迅速性の比較検討から、本法の解析力はPFGEと同程度と考えられ、簡便性、迅速性に関してはより優っていると思われる。今回の検討で出された若干の修正点を改良することでPFGEと同じように集団発生時の疫学解析の有力な手段となることが期待される。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 誌上発表

1. Tanaka D, Shima T, Isobe J, Watahiki M, Matsumoto M, Endoh M, Okuno R, Ogata K and Nagai Y. Epidemiology and Molecular Analysis of Group A Streptococci from Patients Involved in Food-Borne Disease Outbreak

s in Japan between 1996 and 2003. *Jpn J Infect Dis.* 2006 59(3):202-3

2. Suzuki M, Tawada Y, Kato M, Hori H, Miyagi N, Hayashi Y, Nakano M, Fukushima R, Katai A, Tanaka T, Hata M, Matsumoto M, Takahashi M, Sakae K. Development of a rapid strain differentiation method for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Japan by detecting phage-derived open-reading frames. *J Appl Microbiol.* 2006 101(4):938-47.

#### 学会発表

1. 鈴木匡弘、松本昌門 ファージ由来ORF検出によるMRSAの迅速遺伝子型別分類法の開発とその安定性の検証 第43回日本細菌学会中部支部総会 平成18年10月19, 20日 岐阜市

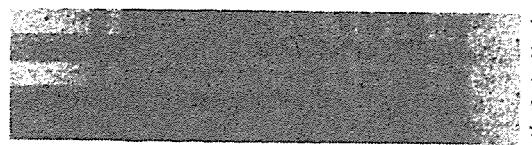
## PFGE が行政に還元された 5 地研の代表 1 事例

### 1. 富山県



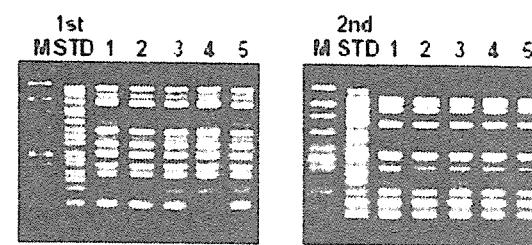
図 1 標菌混合物 大腸菌 O157・H17 の PCR による DNA 調査

A.



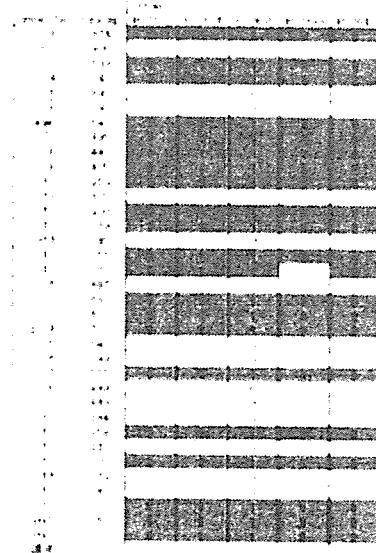
lane1:EC2612(バターン4) lane2:EC2631(バターン2)  
lane3:EC2645(バターン1) lane4:EC2646(バターン6)  
lane5:EC2647(バターン5)

B.



M:ΦX HincII lane 1:EC2612 lane 2:EC2631 lane 3:EC2645  
lane 4:EC2646 lane 5:EC2647

C.



\*PCR 回数 1 PCR 導体

図 2 標菌混合物 大腸菌 O157・H17 の PCR による DNA 調査

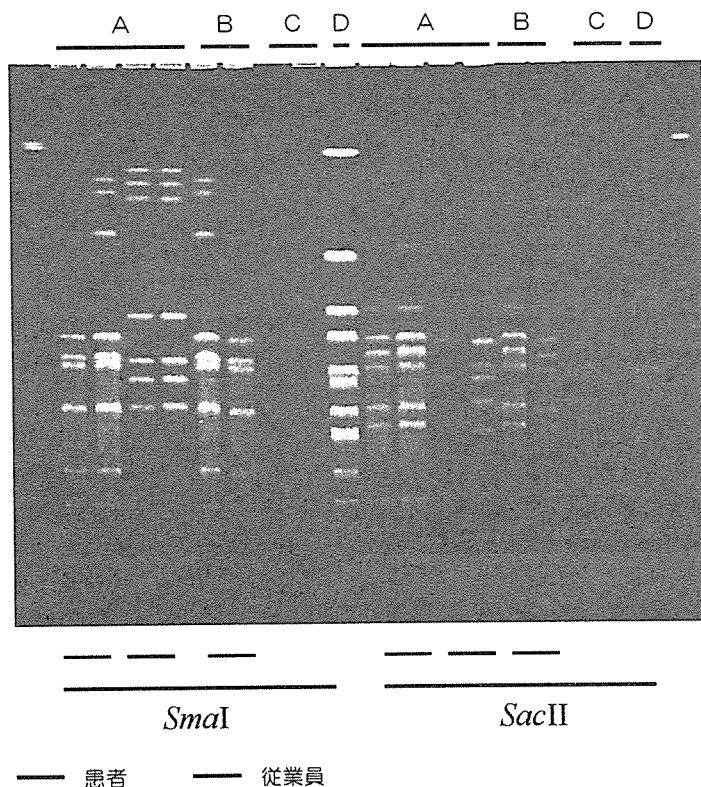
A. 常用 PCR 法による PCR 分析 (1 回 PCR)

B. ISprinting System version 1 による PCR 分析 (PCR 電気泳動槽)

C. ISprinting System version 2 による PCR 分析

## 2. 岐阜市

原因菌：事例A,B,C→*C. jejuni* 事例D→*C. coli*  
 日時：平成18年5月（事例A,B,D）、2月（事例C）  
 場所：岐阜市内



事例等	PFGE型 ( <i>Sma</i> I, <i>Sac</i> II)	Lior	Penner
A患者1	I	UT	C
A患者2	I	UT	UT
A調理従事者1	II	L28,53	Y
A調理従事者2	II	L28,53	Y
B患者1	I	UT	C
B患者2	I	UT	UT
C患者1	III	UT	UT
C患者2	III	UT	UT

UT:型別不能

### 3. 岐阜県

#### 1 PFGE 解析事例

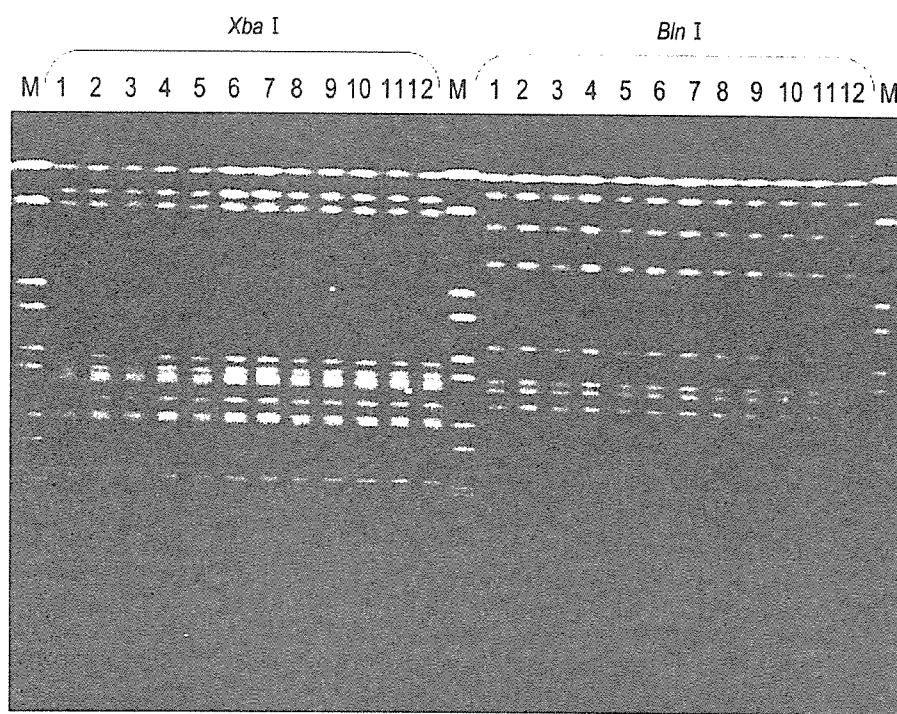
##### 病院給食による *Salmonella Enteritidis* 食中毒事例

###### 食中毒事例の概要

- ・原因施設： 病院の給食施設
- ・摂食者数： 677名
- ・患者数： 112名
- ・発生期間： H18.11.8～11.13
- ・主な症状： 発熱、下痢
- ・推定原因食品： 鮭の味噌煮、白菜の五目浸し

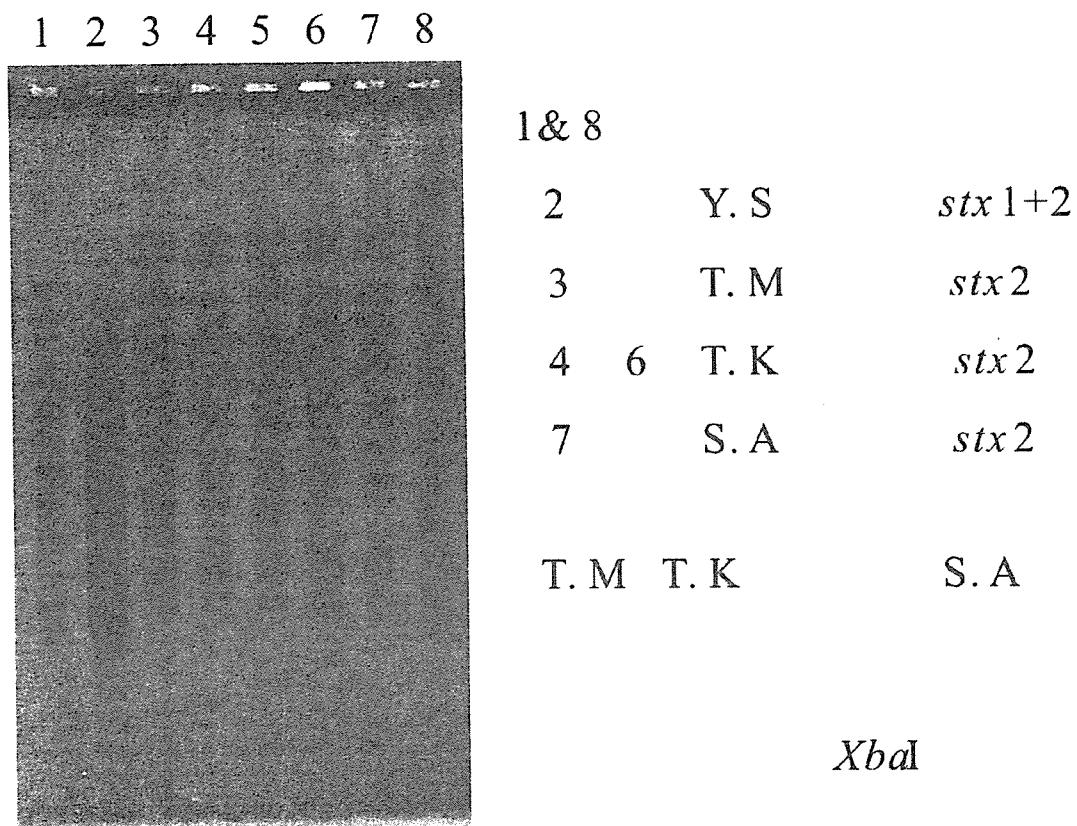
###### PFGE 解析結果

患者6名、給食施設従業員16名、食品2検体から分離された*Salmonella Enteritidis* 24株は、制限酵素 *Xba* I による PFGE のハターンがすべて一致した。また、このうち 12 株について行った制限酵素 *Bln* I による PFGE のハターンもすべて同一であった（写真は 12 株の制限酵素 *Xba* I 及び *Bln* I による PFGE 泳動像）。



レーン  
1～3：患者  
4～8, 11, 12：従業員  
9：食品 - 鮭の味噌煮

4. 福井県



2006 7

EHEC O157 H7 PFGE

原因菌 : 0157

日時 : 平成 18 年 7 月

場所 : T. M と T. K は親子で

S. A と同じ飲食店で焼き肉等  
を喫食していた。

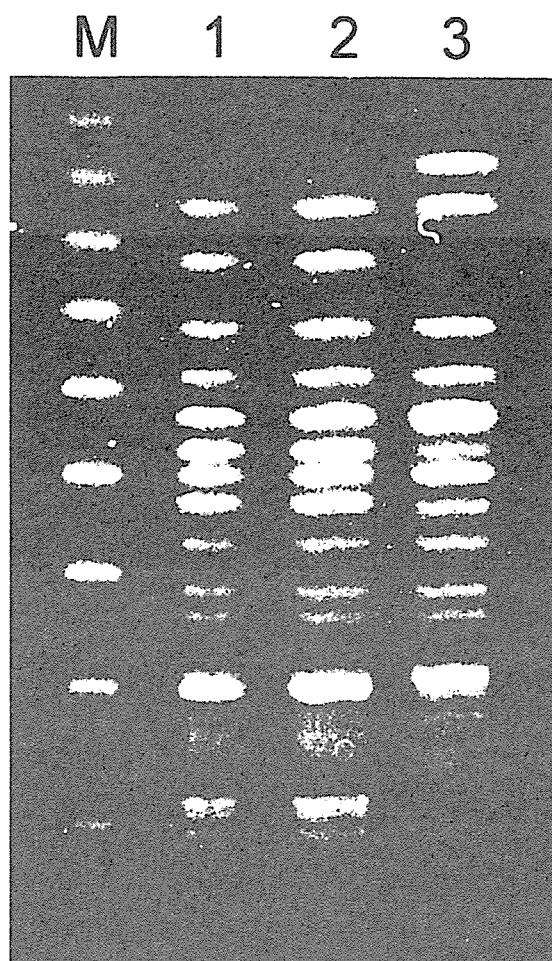
## 5. 愛知県

日時：平成18年5月

場所：愛知県安城市

患者：散発患者1、散発患者2

原因菌：Shigella flexineri 2a



1. 散発患者1、 2. 散発患者2、 3. 衛生研究所保存株（2003年）、 M. マーカー

## 行政への還元がなかった4地研のPFGE泳動図

1. 石川県

PFGE 事例-1

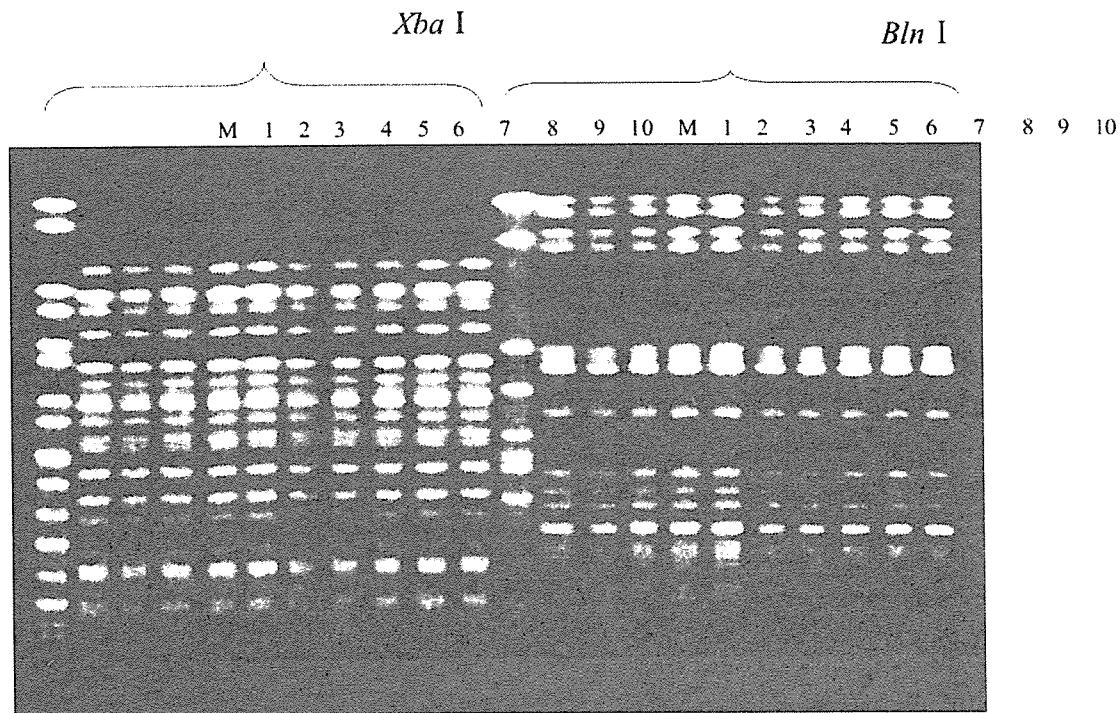
### EHEC O157 (VT2) による食中毒事例

#### <概要>

平成18年7月28日K市内にある焼肉店にて食事をしたグループ25名のうち、5名が下痢・腹痛などの食中毒症状を呈し、医療機関を受診した1名から腸管出血性大腸菌O157が検出された。保健所による喫食者および従業員検便の結果、喫食者9名より腸管出血性大腸菌O157が検出されたことから、同店にて提供された食品を原因とする食中毒事例と断定された。

#### <PFGE 解析結果>

分離された10株のPFGE解析結果は一致した。



M : *S.Braenderup*

制限酵素 : *Xba* I , *Bln* I

泳動条件 : 6V/cm (200V) 2.2-54.2sec 21hr