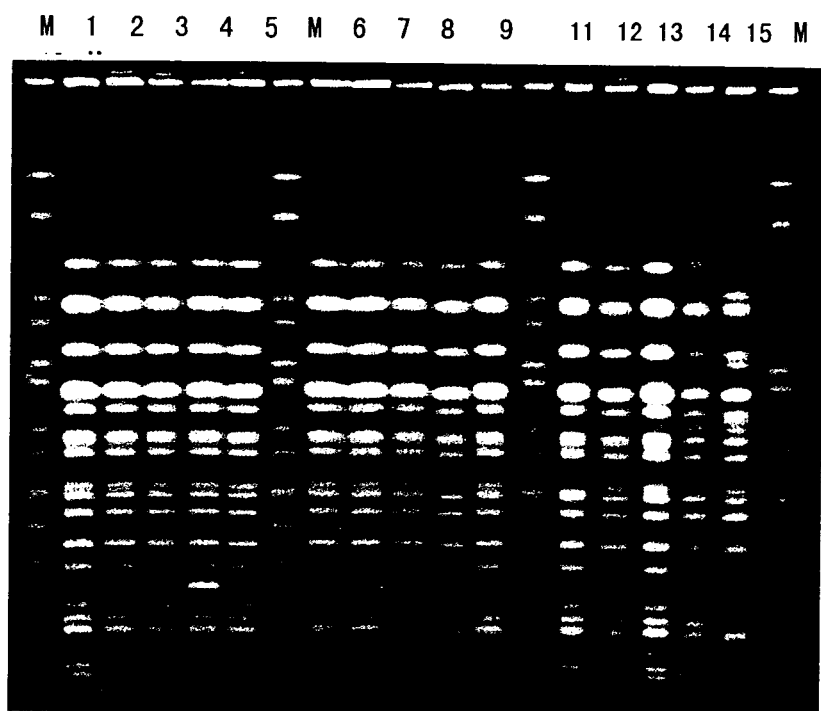


3. 横浜市衛生研究所

横浜市内の焼肉店を原因とするEHEC O157(VT1&2産生)による食中毒事例

2007年8月10日から20日にかけて、市内の焼肉店を利用した横浜市、川崎市、千葉県、東京都の複数のグループ35名中15名が腹痛、下痢、血便、発熱等の食中毒症状を示し、検便の結果これらの患者からEHEC O157 (VT1&2産生)が検出された。また、この店で収去された参考品のレバーからEHEC O157 (VT2産生)が検出された。利用日が異なる患者のPFGEパターンが一致したことから8月23日から営業禁止8日間の処分となった。その後、営業を再開した10月14日に同店を利用した1名からEHEC O157 (VT1&2産生)が検出された。その際にこの店で収去された参考品のホルモンからEHEC O157 (VT1&2産生)が検出された。ヒトから分離された14株のPFGEパターンは、バンド1~2本異なる株(バンドパターン I-2, I-3, I-4)があるものの、ほとんどは同一(バンドパターン I)であった。

横浜市内の焼肉店を原因とするEHEC O157(VT1&2産生)による食中毒事例



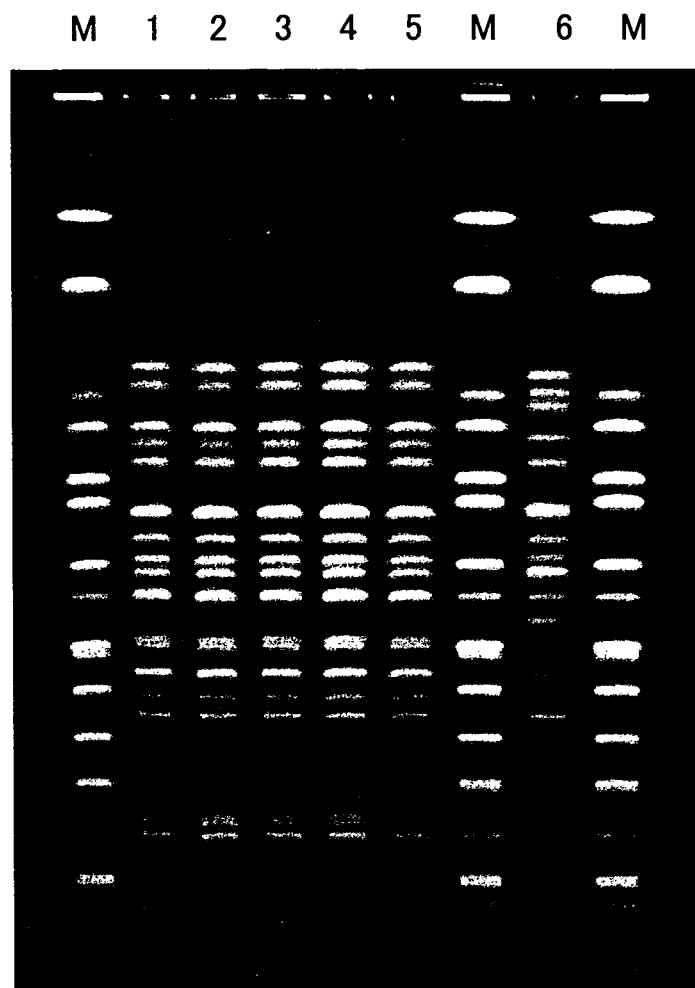
Xba I digestion

レーンNo.	由来	利用日	居住区	家族	バンドパターン
1	患者	8月11日	横浜市	A	I
2	患者	8月12日	横浜市	B	I
3	非発症者	8月17日	千葉県	C	I
4	患者	8月10日	川崎市	D	I-2
5	患者	8月14日	川崎市	E	I
6	患者	8月16日	東京都	F	I
7	患者	8月12日	東京都	G	I
8	二次感染者	8月12日	東京都	G	I
9	患者	8月12日	東京都	G	I
10	患者	8月18日	川崎市	H	I
11	患者	8月18日	川崎市	H	I-3
12	患者	8月20日	川崎市	I	I
13	患者	8月17日	千葉県	C	I
14	患者	10月14日	横浜市	J	I-4
15	ホルモン	10/30収去	横浜市	/	II
M	マーカー	Salmonella Braenderup H9812 Xba I digestion			

4. 長野県環境保全研究所

O157集団事例

2007年7月に、県内医療機関よりO157(VT2)によるEHEC感染症の届出があった。患者は1歳女児で、さらに2日後、同一保健所に3名のEHEC感染症の届出があった。年齢が1～2歳であったことから関連性を調査したところ、4人はいずれも同じ保育園に通っていることが判明した。保育園における集団感染を疑い健康調査を開始した。その結果、48名中11名(家族内感染が確認された2家族を含む)から同菌が検出された。園児1名と患者家族1名は無症状病原体保有者であった。給食等の検食、食材、ふき取り等の検体から菌は検出されず、感染経路は不明であったが、PFGEパターンはすべて一致した。



レーン1～3: 患者由来株

レーン4,5: 保菌者由来株

レーン6: 同時期同地区散発事例分離株

5. 東京都健康安全研究センター

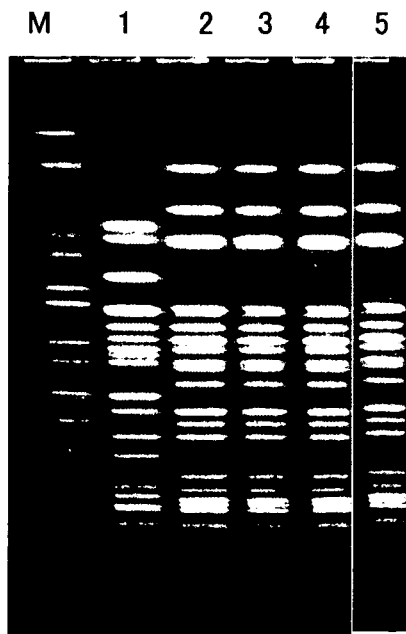
焼肉店を原因とした食中毒事例(2007. 9月)

	グループ1	グループ2
患者	高校生	家族
喫食者数	不明	2名
喫食日	8月26日夜	8月29日昼
喫食食品	トッポギ, 石焼きビビンバ, チョレギサレダ, 冷麺	タン塩, カルビ, ロース, ユッケ, レバ刺し, 卵スープ, ご飯
O157検出	1名 O157:NM(VT1)	2名 O157:NM(VT1)

焼肉店から収去した食品・拭き取り検査

食品(参考品) 8検体
拭き取り 8検体

} 食品(ロース肉)から
EHEC O157:NM(VT1)およびEHEC O74(VT2)検出



M: マーカー
1: 散发事例由来株
2~4: 患者由来株
5: 食品(ロース肉)由来株

制限酵素: *Xba* I

患者および食品から
分離されたO157の
PFGEパターンが一致

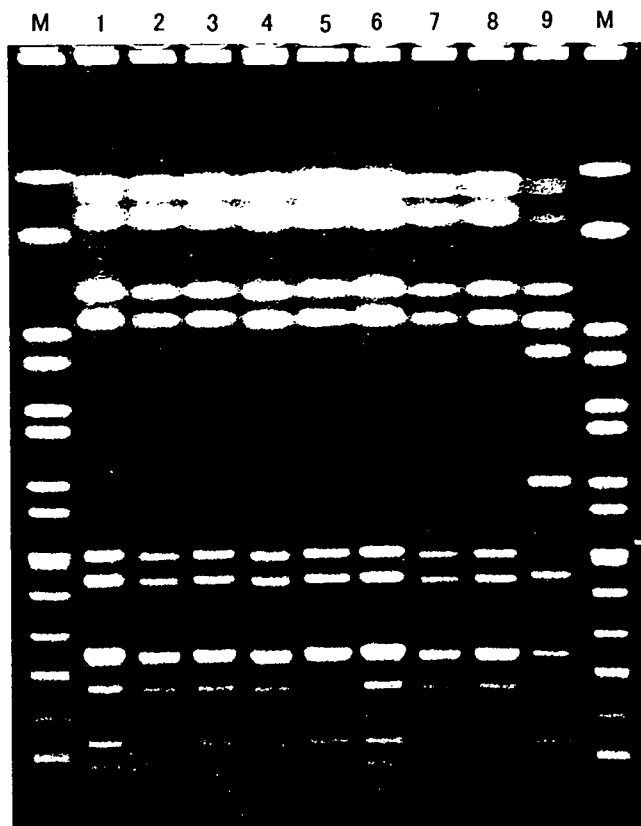


感染源の特定
営業停止7日間

〈別紙 2〉

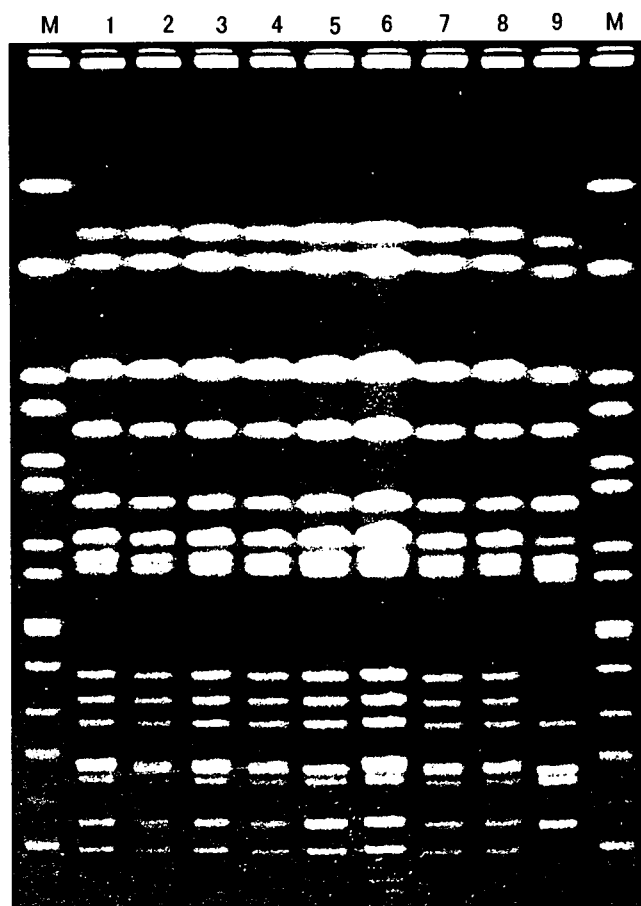
6. 埼玉県衛生研究所

2007年に発生したサルモネラ食中毒事例



レーンNo.	菌株No.	備考
M	S.Braenderup H9812/ <i>Xba</i> I digestion	
1	Sa2007104	患者
2	Sa2007107	患者
3	Sa2007108	患者
4	Sa2007109	患者
5	食1	食材(スッポンの血)
6	食2	食材(スッポンの肉)
7	食3	フキトリ(スッポンの甲羅)
8	食4	フキトリ(スッポンの容器)
9	Sa2007066	散发事例

Bln I 処理



Xba I 処理

2007年9月、K市内の飲食店において、スッポン料理が原因と考えられるサルモネラ食中毒事件が発生した。

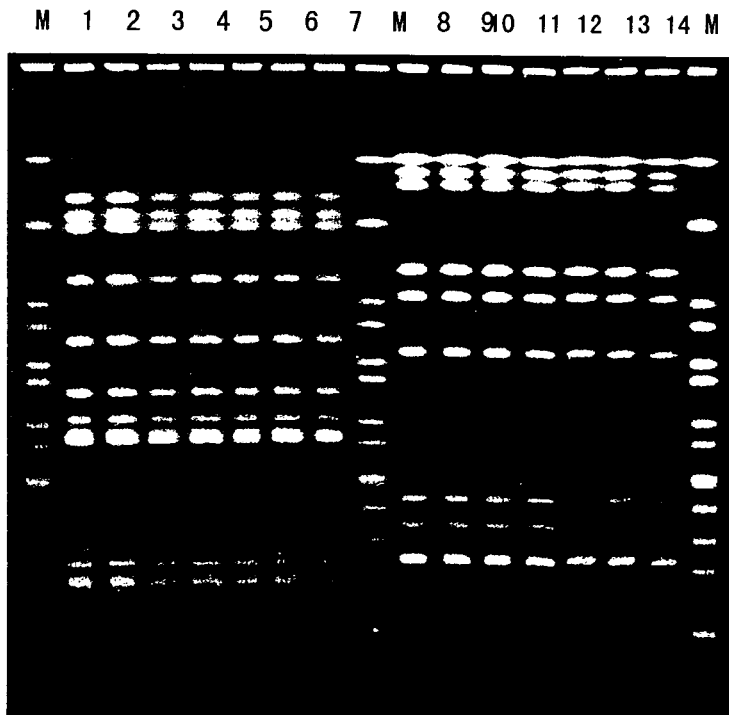
患者2グループ8名中4名の便と、参考品のスッポン、およびふきとり検体から *Salmonella* Typhimurium が検出された。便及び食品などから分離された8株は、供試した12薬剤 (CP, SM, TC, KM, ABPC, NA, CTX, CPFX, GM, FOM, NFL, X, SXT) に対して感受性であり、制限酵素 *Bln* I 及び *Xba* I による PFGE においても、その泳動パターンが一致した。

7. 横浜市衛生研究所

Salmonella 血清型 Typhimuriumによる食中毒事例

2007年9月初旬、市内のラーメン店を利用した23名中15名が頻回の水様下痢、39℃～40℃の発熱等の食中毒症状を示し、検便の結果これらの患者から*S. Typhimurium*が検出された。店の調査で同様の症状を示す調理従事者が数名調理をおこなっており、発症、非発症の調理従事者10名以上と、店にあった「とき卵」から*S. Typhimurium*が検出された。

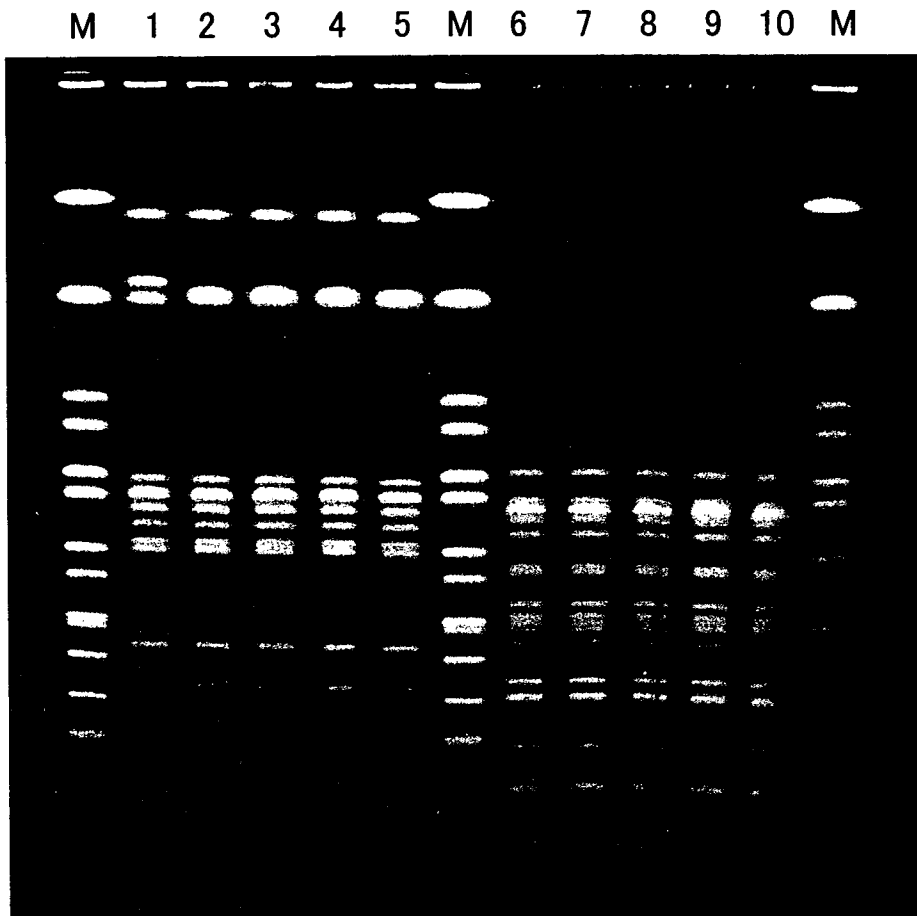
- 1, 8 : 患者 A
 - 2, 9 : とき卵
 - 3, 10 : 患者 B
 - 4, 11 : 調理従事者(非発症)C
 - 5, 12 : 調理従事者(非発症)D
 - 6, 13 : 調理従事者(発症) E
 - 7, 14 : 調理従事者(発症) F
- M: *S. Braenderup* H9812 *Xba* I digestion
1～7は*Xba* I digestion, レーン8～14は*Bln* I digestion



8. 長野県環境保全研究所

Salmonella 血清型 Enteritidisによる食中毒事例

A市内の医療機関から、旅館従業員が6月6日から8日にかけて、下痢、吐き気、腹痛等の症状を呈している旨の連絡があった。患者は1グループ113名のうちの42名で、市内飲食店が製造した仕出し料理を喫食していた。検査した患者便14検体中4検体と、検食8検体中1検体からSEが検出された。当初、日時別発症状況が食中毒事件に特徴的な一峰性のピークを示さなかったこと、また、患者便からの原因物質の検出率が低かったことから、患者グループ内の感染症が強く疑われたが、患者及び食品から分離された菌株のPFGEパターンは一致し、仕出料



M: マーカー *Salmonella* Braenderup H9812

レーン1,6: 患者由来株
レーン2,7: 患者由来株
レーン3,8: 患者由来株
レーン4,9: 患者由来株
レーン5,10: 食品由来株

1~5レーンはXba I、2~10レーンはBln Iで処理

9. 静岡県環境衛生科学研究所

S. Enteritidis食中毒事例の概要および分離株のPFGE画像

概要: 平成19年9月18～19日に静岡県掛川市内の仕出し屋が調整した仕出し弁当を喫食した9844人中1148人が、9月19日午後から嘔吐、下痢、腹痛等を発症。

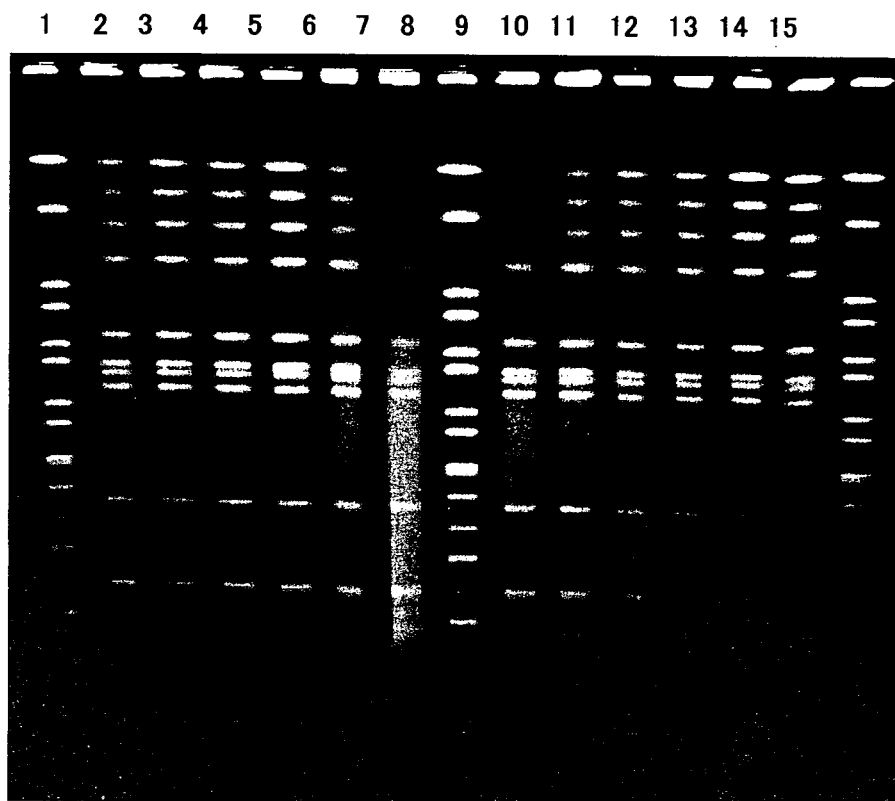
1,8,15レーン : DNAサイズマーカー(*S. Braenderup* H9812)

2～7,9～12レーン : 患者由来株

13レーン : 調理従事者由来株

14レーン : 盛り付け担当者由来株

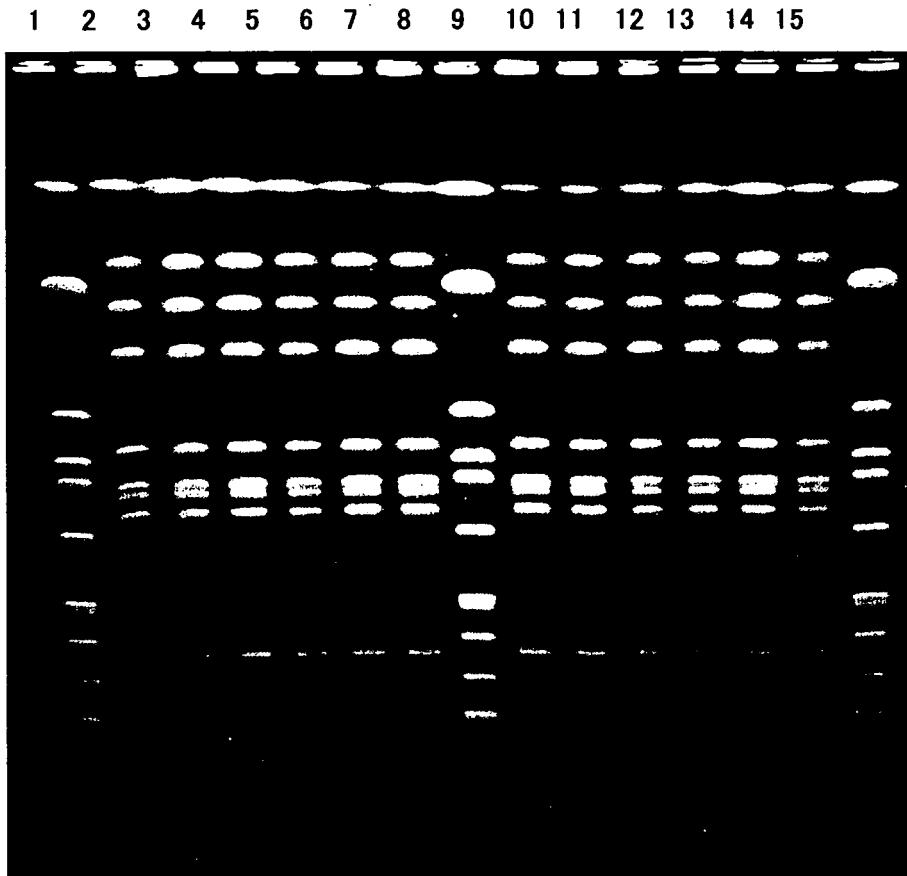
制限酵素: *Xba* I



静岡県環境衛生科学研究所

S. Enteritidis食中毒事例の概要および分離株のPFGE画像

制限酵素: *Bln* I



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 地方衛生研究所及び衛生試験所によるパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を用いた腸管出血性大腸菌 O157 の精度管理と PCR 型別法（IS printing system ver2）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 豊田市衛生試験所
藪谷充孝 名古屋市衛生研究所
石畝 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

研究要旨

東海・北陸地方 9 地方衛生研究所及び衛生試験所（以下施設と略す）による腸管出血性大腸菌 O157 を用いた精度管理を実施した。PFGE 型の異なる 2 検体（検体番号 1, 2）についてサルモネラマーカ使用を統一して行った。その結果、9 施設のうち 7 施設の泳動図は解析ソフトを用いた解析に十分な画質が得られた。施設間の相同性の比較を行なったところ、2 検体で検体ごとに同一のクラスターを形成した。その相同性は検体 1, 2 で全体の相同性はそれぞれ 90.4% と 91.7% であり、さらに検体 1 では 4 つと 2 つの施設、検体 2 では 5 つと 2 つの施設間での相同性が 100% となった。残りの 2 施設の泳動図については画質がやや劣るため解析が困難であった。

7 施設で検出された 17 株の O157 について電送された泳動図について系統樹を作成し、「東海・北陸ブロック版パルスネット」の試行を行った。その結果、類似したバンドパターンを示し菌株間の相同性が 80% 以上を示すグループが 6 つ認められた。これら 6 つのグループのうち 3 つは同一施設由来の 2 株であったが、残り 3 グループは異なった施設由来株であった。さらに 1 グループの 2 株は東海地方と北陸地方由来株であった。これらのことから類似したバンドパターンを示す O157 が東海・北陸地方に存在していることが示唆された。

東海・北陸 9 施設において各施設 4 から 30 株の O157 を用いて IS printing system ver2 の試行を行った。IS printing system ver2 は昨年度の ver1 に比べ、2, 3 の改良が加えられたことから試薬の調製が簡便となり、*eae* 遺伝子のバンドの不安定さも解消された。非特異バンドは出現するものの、その解析力は PFGE と同程度と考えられるが、簡便性、迅速性に関しては IS printing system ver2 の方が PFGE より優っていた。

A. 研究目的

我が国では、0157 による diffuse outbreak (散在的集団発生) を迅速に検出するためのシステムである「パルスネットジャパン」稼働のため、国立感染症研究所 (感染研) と全国の各地域ブロック代表の 5 地方衛生研究所 (地研) が協力して平成 12 年度より研究班活動を行なっている。研究班活動の結果などを基に構築される「パルスネットジャパン」では、各地研が都道府県内で検出された 0157 についてパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を行い、その泳動図を感染研に電送し、感染研でこれら泳動図について解析ソフトを用いて比較を行なう。もし同一もしくは非常に類似した泳動図が複数の異なった都道府県から得られた場合には diffuse outbreak の発生が強く疑われ、迅速な diffuse outbreak の検出、及びその疫学情報の裏付けが可能となる。

本システムが円滑かつ信頼性を持って稼働するために最も重要な点は、「異なった地研で同一の PFGE 型の 0157 について PFGE を実施した場合、解析ソフトを用いてその泳動図を比較するとその相同性が 100% となる。」ことである。

昨年度東海・北陸ブロックでは、これまで 7 年間の研究班活動で集団発生時の疫学的資料として十分な PFGE 画質が得られたと考えられたことからブロック内地研において 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。これらの調査によって今後の研究班活動で 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た。今年度は、昨年度実施されなかった PFGE 精度管理を当所から送付した 2 株の 0157 を用いて東海・北陸地方 9 地方衛生研究所及び衛生試験所 (以下施設と略す) にて実施し一層の PFGE 画質の向上をはかることを目的とした。また各施設で検出された 0157 の泳動図について当所で解析を行い、東海・北陸ブロック版パルスネットの試行も併せて行った。

また、昨年度に引き続いて 0157 の PCR 型別法 IS printing system ver2 (東洋紡) についてブロック内 9 施設において解析力、簡便性及び迅速性について PFGE 法との比較検討等を行った。

B. 研究方法

1. 精度管理

[I] 送付菌株

2 検体の 0157 (検体 1、2) を精度管理に用いた。これらは散發及び集団事例に由来する 2 株の腸管出血性大腸菌 0157 で愛知県内で平成 19 年度 (検体 1 : 愛知衛研菌株番号 2007-96、及び検体 2 : 2007-101) に検出された。その PFGE 型は何れも異なっている。なお OH 血清型別分類は、菌株を分離した各病院及び愛知衛研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。

[II] 方法

愛知県衛生研究所 (愛知衛研) よりそれぞれ 2 検体を 8 施設 (石川県保健環境センター、岐阜県保健環境研究所、岐阜市衛生試験所、富山県衛生研究所、福井県衛生研究所、三重県科学

技術振興センター保健環境研究部、名古屋市衛生研究所、豊田市衛生試験所)に送付した。そして、愛知衛研を含む9施設(仮に施設AからIとした。)において、送付された2検体についてPFGEを実施した。PFGE実施条件に関しては、サルモネラマーカの使用を統一した。8施設のPFGEの泳動図はメールで電送され、その解析を愛知衛研にて解析ソフト「フィンガープリントII」を用いて行なった。具体的には、同一検体についてパーセントで示される相同性に基づく系統樹を作成した。

2. 東海・北陸ブロック7施設で検出された0157泳動図の解析(東海・北陸ブロック版パルスネットの試行)

東海・北陸ブロック内8施設で検出された0157(菌株の分離年月、散発・集団等の詳しい情報は不明。)について各施設でPFGEを実施し、得られた泳動図をメールで愛知衛研に電送した。そして愛知衛研分を含め解析ソフト「フィンガープリントII」を用いてその解析を行った。具体的には、同一検体についてパーセントで示される相同性に基づく系統樹を作成した。なお9施設中2施設の画像は画質がやや劣ったため解析を行わなかった。

3. IS printing system ver2(東洋紡)の実施

東海・北陸ブロック内9施設で各施設で検出された0157についてIS printing system(東洋紡)を実施した。方法は添付のマニュアルに従って行った。なお、解析に用いた菌株の株数、由来等は各施設任意で行った。

C. 研究結果

1. 精度管理

愛知衛研及び各施設より当所に送られた検体1, 2の泳動図の解析を行い系統樹を作成した。なお9施設のうち2施設ではそのPFGE画像の画質が若干低かったため解析を行うことができなかった。これら2施設の泳動図は写真の濃淡が非常に濃いため、特に低分子領域のバンドの判別が困難であった。そこで以下の結果は7施設について記述した。

検体1(図1)に関しては7施設全体の相同性は90.4%と高率であった。7施設の泳動図は2つの大きなクラスターに分かれ、ひとつのクラスターには5施設が含まれ、もうひとつのクラスターには残りの2施設が含まれた。前者の5施設が含まれたクラスターはさらに2つに分かれたが、両者の相同性は96.9%と高率であり、4施設ではその相同性は100%であった。また後者2施設の相同性は100%を示した。

検体2(図1)については検体1と同様に2つの大きなクラスターに分かれたが9施設全体の相同性は91.7%と検体1に比べて高かった。ひとつのクラスターには5施設が含まれ、もうひとつのクラスターには残りの2施設が含まれた。前者ではその相同性が100%を示した。残りの2施設でも両者の間の相同性は100%を示した。

1昨年度は同一検体を配布したにもかかわらず一部施設で高分子量領域において明らかにバンドパターンが異なるという一部の0157株に認められる遺伝的な不安定さが問題となった。今年度は用いる検体について複

数回 PFGE を実施しその安定性を確認した。

2. 東海・北陸ブロック7施設で検出された 0157 泳動図の解析（東海・北陸ブロック版パルスネットの試行）

7施設から電送された17株（各施設2から3株）の泳動図について系統樹を作成した（図2）。その結果、類似したバンドパターンを示し菌株間の相同性が80%以上を示すグループが6つ（13株）認められた。これら6つのグループのうち3つは同一施設由来の2株であったが、残り3施設は異なった施設由来株であった。さらに1グループの2株は東海地方と北陸地方由来株であり地理的にも異なった地域由来であった。

なお図3には9施設のPFGE泳動図を示した。

3. IS printing system ver2の実施

各施設で検出された0157についてIS printing system ver2を実施した結果の概略を以下に示した。

施設A：志賀毒素2低産生株12株を含む計16株について実施した。その結果、低産生株のなかにIS printing system ver2でバンドの違いが2から3本の類似したパターンを示すグループ（それぞれ2株と3株が含まれる。）が2つ認められた。これら2つのグループ内の0157はPFGEでもそれぞれ相同性80%以上を示した。

施設B：23株について実施した。同一PFGEパターンを示す8組計17株ではPFGEで同一パターンを示す株は全てIS printing system ver2でも同一のパターンを示した。また散发事例由来株1株のパターンは17株とは

異なっていた。

施設C：19株について実施した。その結果、PFGEでのバンドパターンが同じであった2組4株は、IS printing system ver2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17株は、IS printing system ver2では11のパターンに分けられた。この時、PFGEでバンドパターンが異なり、IS printing system ver2において同一パターンとなった組合せは、1組を除きPFGEでのバンド差が1～2本の株であった。

施設D：7株について実施した。これら7株のIS printing system ver2のパターンは全て異なっていた。これら7株のうち*stx2f*遺伝子をもつ063は*stx2*遺伝子は増幅されなかった。

施設E：30株について実施した。これらの株のうち5株のIS printing system ver2のパターンは同一であった。また、4株では非特異バンドが認められた。

施設F：9株について実施した。これら9株のうち2株のIS printing system ver2のパターンは同一であった。

施設G：23株について実施し、4つの家庭内事例由来株（各事例2株）についてPFGEとIS printing system ver2の結果を比較した。その結果、1事例では2株のパターンがPFGEとIS printing system ver2で一致した。2事例ではPFGEでは2株のパターンが一致したが、IS printing system ver2ではパターンはバンド1、2本異なっていた。残りの1事例ではPFGEでは2株のパターンはバンド3本異なっていたが、IS printing system ver2ではパターンが一致した。

施設 H：4 株について実施した。その結果、これら 4 株の IS printing system ver2 パターンは異なっていた。

施設 I：6 株について実施した。その結果、これらの株のうち 2 株の IS printing system ver2 のパターンは同一であった。また非特異バンドが 1 株に認められた。

図 4 に 5 施設の IS printing system ver2 の泳動図の代表例と結果を、図 5 には 4 施設の泳動図の代表例のみ示した。

IS printing system ver2 を実施しての感想

- ・マニュアルに推奨されていた泳動槽 (GelMate2000) は当所にはないので、なるべく長い泳動距離を稼ぐため、Bio-Rad のサブセル GT を使用した (ゲルサイズ 10cm)。100V で泳動したところ、Loading dye の青色がゲルの終端まで流れるのに長時間を要したためか、バンドパターンがやや歪んでしまった (泳動中の温度上昇はおおむね 3℃程度…smiling?)。

- ・ Version 1 では別々になっていた polymerase、dNTP、10×buffer などが premix された master mix になっていたため、PCR 反応液の調製が非常に簡単で便利になった。

- ・取扱説明書の推奨法通りに実施することにより、特に条件を検討する必要もなく、安定した明瞭なバンドが得られ、結果判定も容易になった。

- ・識別能力の点では、IS printing system ver2 は PFGE に比べて出現パターン数が少なく、やや劣ると思われた。しかし、PFGE でバンドパターンが異なり、IS printing system ver2 でパターンが一致した株は、多くが疫

学的な関連性のある株であった。このため、疫学的な解析能力としては、それほど差はないと思われた。一方、IS printing system ver2 は PFGE にはない迅速性、簡便性という特長を持つため、集団感染発生時等の迅速検査法として有用であると思われる。

- ・Primer1-11,12,15,eae が判定しづらかった。STD DNA でも Primer1-5 は薄かった。約 300kb 以下のバンドがぼやけて見にくい。2nd-PCR で約 900kb に非特異バンドが出現した。

- ・昨年度のキットと比べ、Mix の試薬が多くなっていたので、反応混液の作成が簡単になった。

- ・昨年と同様、100bp の DNA Ladder を一緒に泳動すると、バンドサイズの確認ができるので、便利であった。

- ・取扱説明書に例示されている検出バンドの記録様式が、昨年度のものより使いやすい。

- ・電気泳動に使用するアガロースは、NuSieve GTG : SeaKem GTG = 2 : 1 を奨励すると取扱説明書にあったが、当所では通常、既製品の NuSieve 3 : 1 Agarose (NuSieve : SeaKem = 3 : 1) を使用しており、NuSieve GTG と SeaKem GTG をそれぞれ準備していないため、NuSieve 3 : 1 Agarose と 0.5×TBE で 3%アガロースゲルを作成して使用した。以下の点は、その影響かもしれない。

- ・泳動距離の影響があると思われるが、バンドサイズが小さなものになるほど、バンドがぼやけてしまい、シャープさに大きく差が出ると感じた。

- ・Standard DNA と Loading Dye を Mix した各 PCR 産物を同時に泳動したところ、移動していく色素の位置に少しずれが生じた。(Standard

DNA のほうがやや早く移動していきましました) 泳動が進むにつれ、バンドはぼやけていったため、差はわからなくなりました。

・染色後の泳動像を確認したところ、Standard DNA と Template Mix のバンド位置にずれはなく、他の検体とのずれもないと思われた。

・Standard DNA と Loading Dye に含まれる2色の色素は、泳動が進むとかなりぼやけていた。そのため、青色色素をゲルの末端付近まで泳動しようとしたとき、色素の位置が確認し難く、染色後、もう少し泳動した方がよかったと思われた。

D. 考察

PFGE 泳動図の相互比較のために重要と考えられる PFGE 実施条件として 1) シャープなバンドが得られるサルモネラマーカの使用、2) PFGE 泳動条件の統一がある。今年度の精度管理ではこのうちサルモネラマーカの使用のみ統一としたが、PFGE 泳動条件の統一は全ての施設で行われていた。これら2つの条件は過去の精度管理において常に強調したことであることから各施設で自ずと統一できたものと思われる。解析を行なった7施設の泳動図に関して2検体とも全体の相同性は約90%であったが、2から5施設では相同性100%が得られた。今後、全体の相同性を100%に近づけるためには各施設の画質の向上に加え、1) サルモネラマーカの検討。具体的にはこれまで各施設で保存していたが、愛知衛研が凍結保存してあるマーカを用事送付して最大限マーカを同じにする。2) 各施設から電送された泳動図は大きさや明

るさにかなりバラツキがあることからこれらの統一を行うことが必要であると思われる。

今年度の精度管理では参加した9施設のうち2施設の PFGE 泳動図が解析ソフトで解析することが困難であった。これら2施設の泳動図はバンドの分離は充分であると思われるが、明るさに欠け、特に低分子量領域ではバンドの判別が困難であった。このことから来年度の精度管理では前述のように泳動図を写真撮影する際の条件を付けることも必要であると思われた。

初めての試みとして今年度東海・北陸ブロック7施設で検出された0157泳動図の解析(「東海・北陸ブロック版パルスネット」の試行)を行った。解析を行った17株のうち類似したバンドパターンを示し菌株間の相同性が80%以上を示すグループが6つ認められた。これらグループのうち3つは異なった施設由来株であり、さらに1グループの2株は東海地方と北陸地方由来株であった。菌株の分離年月、散発・集団等が明らかでないものの類似したバンドパターンを示す0157が東海・北陸地方に存在していることが示唆された。来年度は今年度の試みをさらに発展させ、解析する0157の菌株数の増加、菌株の分離年月、散発・集団等の情報の追加を行い「東海・北陸ブロック版パルスネット」の実用化を進めたい。

今年度検討したIS printing system ver2は昨年度のver1に比べ、2、3の改良が加えられたことから試薬の調製が簡便となり、*eae* 遺伝子のバンドの不安定さも解消された。詳しい検討結果、感想は前述したが、9地研で

行った検討では非特異バンドは依然出現するものの、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IS printing system ver2の方がPFGEより優れていることが明らかとなった。今後実用化に向けての検討課題として1) 集団事例発生時にIS printing system ver2のみで報告して良いか。2) PFGEとIS printing system ver2で結果が異なった場合どのように解釈するか。が挙げられる。

E. 結論

東海・北陸地方9地方衛生研究所及び衛生試験所(施設)による腸管出血性大腸菌0157を用いた精度管理を実施した。PFGE実施条件はサルモネラマーカー使用を統一し、PFGE型の異なる2検体(検体番号1, 2)について行った。その結果、9施設のうち7施設の泳動図は解析ソフトを用いた解析に十分な画質が得られた。施設間の同一性の比較を行なったところ、2検体で検体ごとに同一のクラスターを形成した。その同一性は検体1, 2で全体の同一性はそれぞれ90.4%、91.7%であり、さらに検体1では4つと2つの施設、検体2では5つと2つの施設間では同一性が100%となった。残りの2施設の泳動図については画質がやや劣るため解析が困難であった。

7施設で検出された17株の0157について電送された泳動図について系統樹を作成し、「東海・北陸ブロック版パルスネット」の試行を行った。その結果、類似したバンドパターンを示し菌株間の同一性が80%以上を示すグループが6つ(各グループ2か

ら3株)認められた。これら6つのグループのうち3つのグループの菌株は異なった施設由来株であった。さらに1グループの2株は東海地方と北陸地方由来株であり地理的にも異なった地域由来であった。これらのことから類似したバンドパターンを示す0157が東海・北陸地方に存在していることが示唆された。

9施設で検出された0157(各施設当たり4から30株)についてIS printing system ver2を実施した。IS printing system ver2は昨年度のver1に比べ、2, 3の改良が加えられたことから試薬の調製が簡便となり、*eae*遺伝子のバンドの不安定さも解消された。非特異バンドは依然出現するものの、その解析力はPFGEと同程度と考えられるが、簡便性、迅速性に関してはIS printing system ver2の方がPFGEより優れていると思われた。

F. 健康危機情報
なし

G. 研究発表
誌上発表

Ichiro Tatsuno, Jun Sawai, Akira Okamoto, Masakado Matsumoto, Masaaki Minami, Masanori Isaka, Michio Ohta and Tadao Hasegawa

Characterization of the NAD-glycohydrolase in streptococcal strains

Microbiology 153 (2007), 4253-4260

学会発表

愛知県で検出された腸管出血性大腸菌0157の志賀毒素産生性に関する検討

松本昌門、鈴木匡弘、高橋正夫、皆川
洋子、太田美智男
第11回腸管出血性大腸菌シンポジ
ウム
安曇野市 2007 8.23.

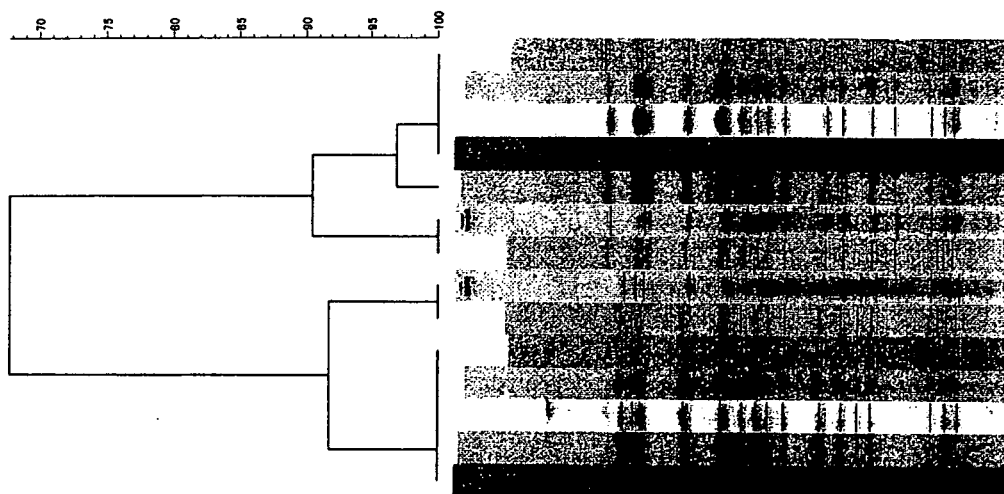


図1 精度管理検体の系統樹
上から7本が検体1、それより下7本が検体2。

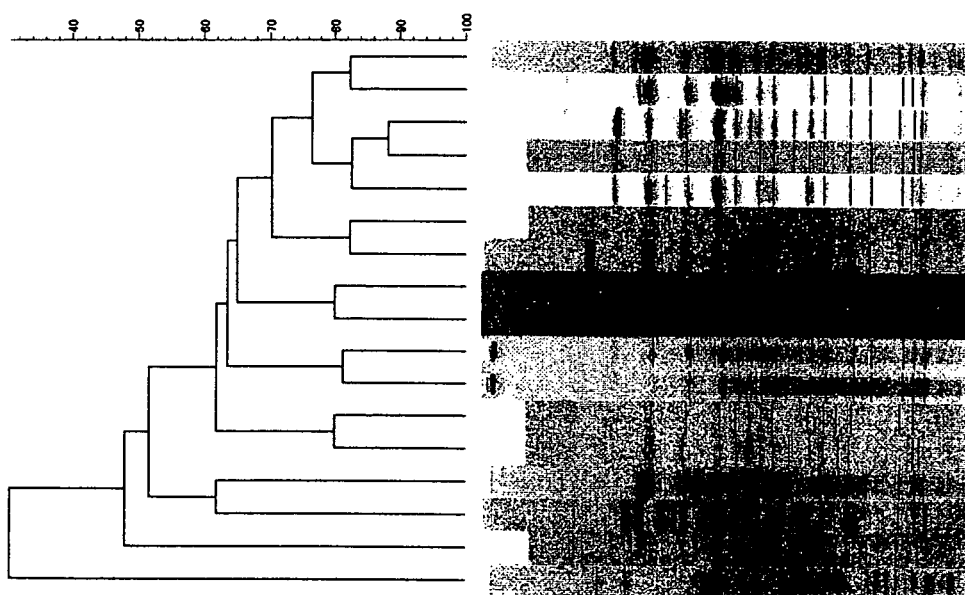


図2 7施設から電送された17株についての系統樹

図3 9施設のPFGE泳動図

