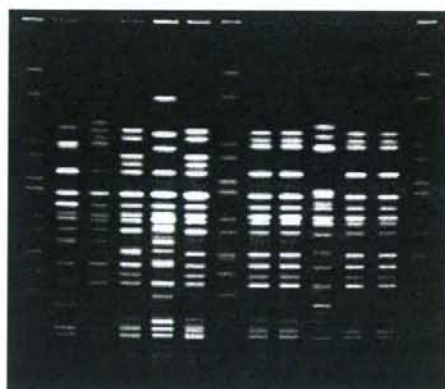


2. 腸管出血性大腸菌 O157 VT2 散発例の PFGE 解析

群馬県衛生環境研究所

2008年に「感染症法」3類感染症により届出となった患者から分離された腸管出血性大腸菌（EHEC）O157 VT2 産生株について、本人の同意を得て PFGE による遺伝子解析を実施した。9月から11月に分離された4株（感染症研究所 type No.C 259）は PFGE パターンが一致した。このうちの2株は9月と10月に同じ保健所管内、他の2株は10月と11月に別々の保健所管内で分離されていた。この4人の患者はいずれも発症前に牛生肉（ユッケ、レバー刺し等）を喫食していた。発症時期が異なるので感染源調査には至らなかったが、疫学調査ならびに PFGE 解析を施行することは、散発例における EHEC 感染症の実態が把握されるばかりでなく、diffuse outbreak に対する事前対応の有効な手段になるものと考えられる。

【PFGE 泳動画像：O157 VT2 産生株】



M. S. Braenderup H9812

1. 08010 87Y F [発症 5月]
2. 08011 6Y F [" 5月]
3. 08063 1Y M [" 8月]
4. 08071 25Y F [" 8月]
5. 08073 75Y F [" 9月]
6. 08084 32Y F [" 9月]
7. 08086 27Y F [" 10月]
8. 08090 2Y M [" 9月]
9. 08099 56Y M [" 10月]
10. 08105 11Y M [" 11月]

3. キムチを原因食品とした腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例における検査および行政対応とその問題点

千葉県衛生研究所

【はじめに】

腸管出血性大腸菌 O157 (O157)による diffuse outbreak は、広域に渡って感染者が発生するため、その発生を早期に把握することが困難である。そのため、分離された O157 菌株の分子疫学的解析を行い、類似した遺伝子型の菌株の増加を監視している。diffuse outbreak の疑いがある場合には行政に情報提供を行い、感染者間の疫学的関連性を再度調査することで diffuse outbreak の早期把握を行っている。

2008 年 8 月に千葉県の外房地区において O157 (VT2)による集団感染事例が発生した。当該事例の調査を進めていくうちに、千葉県の一地区における集団感染事例ではなく、千葉県内の他の地区のみならず東京都および埼玉県にも感染者が発生した diffuse outbreak であることが疑われた。最終的に diffuse outbreak の全貌を把握することは出来なかったが、その調査過程および行政対応でこれまでに想定していなかった様々な問題が明らかとなった。今回発表の機会を得たので、感染事例の概要を報告するとともに、O157 の diffuse outbreak に対応する際の問題点について情報提供を行いたい。

【事例の概要】

2008 年 8 月下旬から千葉県の外房地区において、O157 (VT2)の散发事例が相次いで報告された。当該地区における O157 感染者が例年に比べて激増し、PFGE パターンも一致していたことから、当初からなんらかの集団感染事例であることが疑われた。当該地区に居住または一時的に滞在したことが明らかな患者が多かったことから、当初は外房地区に限定した集団感染事例と思われていた。しかしその後、東葛地区および内房地区でも同一 PFGE パターンの O157 (VT2)の感染者が確認されたことから、diffuse outbreak であることを疑い、近隣の都県へ同一 PFGE パターンの O157 (VT2)が分離されていないかを確認したところ、8 月下旬以降に分離されているとの情報が寄せられた。

そこで、当該事例が首都圏自治体における diffuse outbreak であることを行政に情報提供し、行政対応を求めた。この時点で、保健所の疫学調査によって外房地区の集団感染がキムチの喫食によって発生している可能性が判明していたが、保健所の調査対象はあくまでもキムチを推定原因食品として発生した外房地区の集団感染事例であり、行政サイドでは複数の自治体にまたがった diffuse outbreak であることの認識が薄かった。そのため、外房地区以外の患者の感染源追求が十分に行われず、diffuse outbreak の全貌を把握することが出来なかった。また外房地区の集団事例に

についても、保健所は最終的にキムチの喫食による集団事例であることを行政的に決定せず、原因不明の集団感染とされた。

【当該事例における問題点】

今回の事例における問題点としては、いくつかの側面がある。まず、衛生研究所における分子疫学的解析の問題点としては、他自治体の PFGE データの入手時期が遅かったことが挙げられる。その一因となったのが、衛生研究所で外房地区以外の感染者の最新の疫学情報が入手出来なかったことがあげられる。そのため、diffuse outbreak であることを疑う時期が遅くなり、diffuse outbreak 対策の開始が遅れたことは否めない。

次に、保健所における疫学調査の問題点としては、O157 感染症に不慣れな地域であったために十分な疫学調査が行えなかったことが挙げられる。特にキムチのような漬け物は、通常の喫食調査では感染者が主菜を中心に回答することから調査結果にあがってこないことが多い。この点については、埼玉県で用いている調査票に類するものを千葉県でも導入する必要性を感じている。

最後に、行政対応の問題点としては、縦割り行政の弊害が挙げられる。特に今回の diffuse outbreak のような広域の食品起因感染症では、本庁や保健所の食品衛生担当および感染症担当が入り乱れて対応することになる。その統一的な事案の把握や効率的な対応が出来ず、調査を行っている現場である保健所に余計な混乱を生じた。この点については、FETP のように感染症の調査のみならず行政対応においても陣頭指揮をとれる人材が必要である。

いずれにせよ、衛生研究所における分子疫学的解析は、最終的には diffuse outbreak 対策に有効に活用されなければ実施する意義がない。その意味では、今回の diffuse outbreak は千葉県の感染症および食品衛生行政に大きな一石を投じたものとなった。

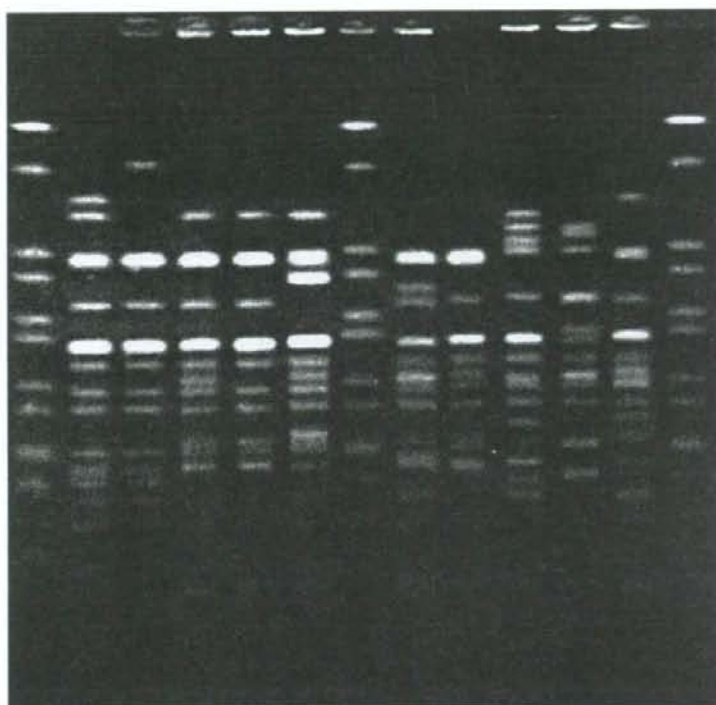
4. 2008 年度に当研究所に送付された O157 による 散発事例由来株

神奈川県衛生研究所

レーン 1～7 O157 (VT1&2) レーン 8～10 O157 (VT2)

すべて、異なった原因による事例であるが、レーン 1 と 2 は、
IS-printing system 法では同じ結果を示した。

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

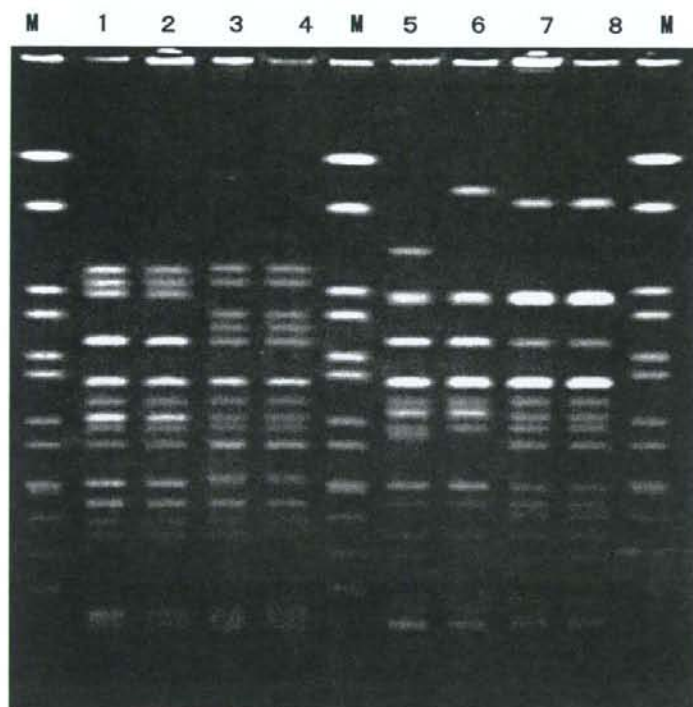


M : マーカー : *Salmonella* Braenderup
泳動条件 : 6V、2.2-54.2s.、12℃、20h

5. 飲食店が原因とされた小規模事例および家族内感染事例

神奈川県衛生研究所

2008年9月6日に1人と9月7日に1人計2人が同じ飲食店を利用し、O157(VT2)が検出された。喫食調査の結果では共通の食材は報告されなかったため、異なった原因であろうということで依頼があり PFGE 解析を実施した結果、パターンが一致したことから、この飲食店を原因とする感染事例と推測された。検査依頼が遅くなり、その間、発症者がいなかったということで終息した事例である(レーン1、2)。つぎに、家族内感染2事例を示した。O157(VT2)による事例(レーン3、4)はパターンが一致するが、O157(VT1&2)による事例(レーン5、6)は数本のバンドの違いが認められた。レーン7、8は横浜市の飲食店におけるO157(VT1&2)による集発事例に関連した患者由来のパターンであり、2人のパターンは一致した。なお、この8株の IS-printing System による解析結果はすべて一致した。



M : マーカー : *Salmonella* Braenderup

泳動条件 : 6V、2.2-54.2s.、12°C、20h

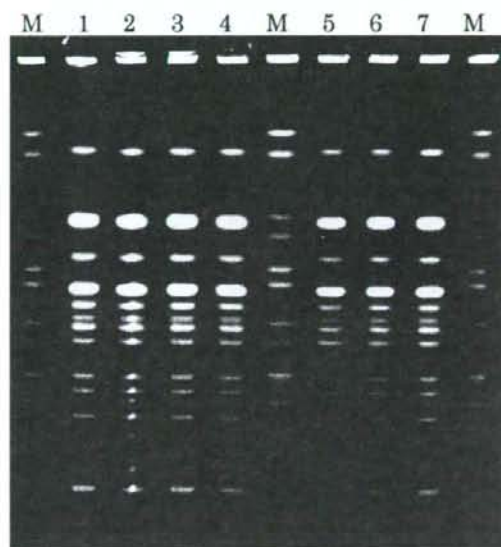
6. 横浜市内の焼肉店を原因とする EHEC O157(VT1&2 産生) による食中毒事例

横浜市衛生研究所

2008年10月26日に横浜市A区内の専門学校の学生21人が同区の焼肉店Bを利用したところ15人が10月27日に腹痛、水様下痢、血便といった胃腸炎症状を示した。

専門学校で検便が回収できた喫食者14人(発症者10人、非発症者4人)について当所でEHECを含む食中毒菌の検査を行ったところ、5人からEHEC O157(VT1&2産生)が検出された。他に医療機関を受診し、検便を提出した2人からEHEC O157(VT1&2産生)が検出された。この2人分の菌株について神奈川県衛生研究所から分与を受け、喫食者から分離された計7株についてPFGEを行ったところ、同一パターンであった。焼肉店Bの調理従事者、施設ふき取り、原材料からはEHEC O157は検出されなかった。

しかし、患者らの共通食がこの食事のみであること、複数の患者からEHEC O157が検出されたこと、患者を診察した医師から食中毒の診定が出されたことから、横浜市保健所は焼肉店Bを食中毒事例の原因施設と判断し、営業禁止処分を行った。



- 1-4 患者由来株
5 非発症者由来株
6,7 患者由来株(神奈川県衛研より分与された株)
M *S. Braenderup* H9812 *Xba* I digestion

7. 山梨県で発生した散発事例 O157 株の PFGE パターン

山梨県衛生公害研究所

No	菌株番号	分離年月日	血清型	毒素型	備考
1	08-35	2008. 7.24	O157:H7	Stx2	散発事例
2	08-21	2008. 6.18	O157:H7	Stx2	散発事例、10 歳代 (A 保育園との関連性は確認できなかった)
3	08-40	2008. 7.25	O157:H7	Stx2	A 保育園関係
4	08-41	2008. 8. 6	O157:H7	Stx2	
5	08-44	2008. 8.10	O157:H7	Stx2	
6	08-48	2008. 8.14	O157:H7	Stx2	
7	08-42	2008. 8. 8	O157:H7	Stx2	散発事例
8	08-60	2008. 9. 4	O157:H7	Stx2	家族内事例 (甥と伯母)
9	08-61	2008. 9. 7	O157:H7	Stx2	
10	08-20	2008. 6.16	O157:H7	Stx1,Stx2	散発事例
11	08-26	2008. 6.21	O157:H7	Stx1,Stx2	散発事例
12	08-70	2008. 9 6.	O157:H7	Stx1,Stx2	散発事例

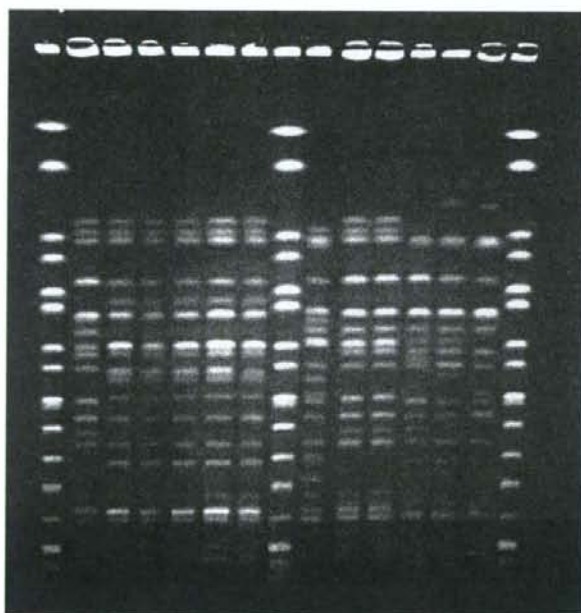


表2 施設Aで分離されたO157 15株のIS法解析結果

Primer set 1

No.	Primer No.	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18																	PFGE 型
		1-01	1-02	1-03	1-04	1-05	1-06	1-07	1-08	1-09	1-10	1-11	1-12	1-13	1-14	1-15	1-16	hly	
菌株No.	Size(bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	300	269	241	211	185	171	137	
1	08043	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	d410
2	08044	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	c57
3	08055	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	d279
4	08124	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	d403
5	08125	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	c527
6	08129	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	d405
7	08130	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	d406
8	08136	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	d148
9	08137	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	c374
10	08155	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	c374
11	08153	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	d402
12	08157	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	d400
13	08027	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	c57
14	08199	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	d27
15	08226	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	b705

Primer set 2

No.	Primer No.	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18																	PFGE No.	
		2-01	2-02	2-03	2-04	2-05	2-06	2-07	2-08	2-09	2-10	2-11	2-12	2-13	2-14	2-15	2-16	stx1		
菌株No.	Size(bp)	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151	
1	08043	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	d410
2	08044	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	c57
3	08055	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	d279
4	08124	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	d403
5	08125	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	c527
6	08129	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	d405
7	08130	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	d406
8	08136	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	d148
9	08137	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	c374
10	08155	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	c374
11	08153	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	d402
12	08157	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	d400
13	08027	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	c57
14	08199	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	d27
15	08226	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	b705

表3-1. 6施設で実施した共通菌株5株のIS解析結果(プライマーセット1)

施設	Primer No. 菌株No.	Primer No. Size(bp)	Primer set 1																備考 非特異バ ンド		
			1-01	1-02	1-03	1-04	1-05	1-06	1-07	1-08	1-09	1-10	1-11	1-12	1-13	1-14	1-15	eae		1-16	hly
A	1	974	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
B	1		1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
C	1		1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
D	1		1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E	1		1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
F	1		1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
A	2		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
B	2		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
C	2		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
D	2		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E	2		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
F	2		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
A	3		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
B	3		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
C	3		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
D	3		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E	3		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
F	3		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
A	4		1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
B	4		1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
C	4		1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
D	4		1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E	4		1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
F	4		1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
A	5		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
B	5		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
C	5		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
D	5		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
E	5		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
F	5		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1

表3-2. 6施設で実施した共通菌株5株のIS解析結果(プライマーセット2)

Primer set 2

施設	Primer No. 菌株No. Size(bp)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	備考 非特異バ ンド
		2-01 987	2-02 861	2-03 801	2-04 710	2-05 642	2-06 599	2-07 555	2-08 499	2-09 449	2-10 394	2-11 358	2-12 331	2-13 301	2-14 278	2-15 240	2-16 211	2-17 181	2-18 151	
A	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	
B	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	
C	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	
D	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	
E	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	
F	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	
A	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
B	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
C	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
D	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
E	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
F	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
A	3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
B	3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
C	3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
D	3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
E	3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
F	3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
A	4	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	
B	4	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	
C	4	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	
D	4	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	
E	4	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	
F	4	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	
A	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0
B	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	
C	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	
D	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	
E	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	
F	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	

表4. 共通菌株5株におけるIS解析結果のコード化

施設	菌株 No.	10進法変換値						非特異 バンド
		プライマー1		プライマー2		stx2	stx1	
A	1	423	367	228	122	1	1	
B	1	423	367	228	122	1	1	
C	1	423	367	228	122	1	1	
D	1	423	367	228	122	1	1	
E	1	423	367	228	122	1	1	
F	1	423	367	228	122	1	1	
A	2	487	365	228	59	1	1	
B	2	487	365	228	59	1	1	
C	2	487	365	228	59	1	1	
D	2	487	365	228	59	1	1	
E	2	487	365	228	59	1	1	
F	2	487	365	228	58	1	1	
A	3	487	367	228	59	1	1	
B	3	487	367	228	59	1	1	
C	3	487	367	228	59	1	1	
D	3	487	367	228	59	1	1	
E	3	487	367	228	59	1	1	
F	3	487	367	228	59	1	1	
A	4	385	111	228	50	1	0	
B	4	385	111	228	50	1	0	
C	4	385	111	228	50	1	0	
D	4	385	111	228	50	1	0	
E	4	385	111	228	50	1	0	有り
F	4	385	111	228	50	1	0	有り
A	5	34	47	161	19	1	0	
B	5	34	47	161	19	1	0	
C	5	34	47	161	19	1	0	
D	5	34	47	161	19	1	0	
E	5	34	47	161	19	1	0	
F	5	34	47	161	19	1	0	

表5-1 IS-printing 法についてのアンケート結果 ①

質問	回答	回答数	意見等
1. 試薬の調整は？	簡単 問題ない 煩雑	3 2 0	
2. DNAの抽出方法は？	平板からアルカリ抽出 平板から熱抽出(ポイルのみ) 平板から精製キットを使って その他	3 0 0 2	・液体培養→アルカリ抽出
3. PCR反応は？	簡単 問題ない 煩雑	3 2 0	
4. 泳動用ゲルやBufferは マニュアル通りに行ったか？	行った 行わない	4 1	NuSieve 3.1Agarose 3%
5. 電気泳動の時間は？	90分 70分	3 2	
6. PCR結果を読むのは？	簡単 問題ない 煩雑 判断に迷う部分がある	0 3 0 2	〈判断に迷った部分〉 ・分子量が小さいバンド ・小さいサイズの増幅バンドが薄くなっているため、 明るさの違う写真を2種類撮って確認した
7. PFGEパターンと相関性は あると思うか？	相関性あり(ある程度) PFGEよりも細かく分けられる PFGEのほうが良い	5 0 0	
8. PFGEに代わる手法として？	期待できる 改良が必要 困難	5 0 0	
9. このキットを実際に使って みたいと思うか	是非使いたい 時と場合によっては使いたい コストがかからなければ使いたい 使いたくない PFGEの方が良い	0 1 4 0 0	

表5-2. IS-printing 法についてのアンケート結果 ②

- VNTRのようにデータが数値化出来て、施設間での比較が簡単にできる。
- IS-printing SystemはPCR法なのでPFGEパターンより時間も短縮でき、使いやすい方法である。
- 手軽で解析も簡単であった。
- PFGEとの相関性について、一部異なるものもあったが、迅速法としては非常に有用であった。
- マニュアル以外のゲルを使用したためか、検体によっては全体的にバンドの薄いレーンがあった。再検査をし、さらに1×TAEも使用して判定した。
- サンプルDNA濃度に差が生じた。DNA濃度をそろえるためには液体培地の菌液を使用した方が良かったかもしれない。
- PFGEに比べて作業時間が短く、非特異バンドも見られず判定できた。
- 多数のサンプルについて時間を長くして泳動した時、泳動に歪みが生じ、判定時にバンドの詰まった部分の判定に苦慮したことがあった。
- 病原性関連遺伝子も一緒に検出できるところが良い。結果が迅速に出て、操作もPFGEより簡便であった。一度の撮影でバンドが全て認識できるように条件を検討する必要がある。
- パターンはPFGEの方が細かく分けられた。
- パターンが似ているのかどうかPFGEよりも一目見て判断しにくい。どの程度違うのか、適切な解析方法があればよい。
- この方法はより多くの菌株の遺伝子型について、早く結果を知ることができるので、感染源の調査にも役立つのではないかと。

研究分担報告書

研究分担 東海・北陸地方9地方衛生研究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の精度管理、集団事例発生時のPFGE解析結果の還元とIS printing systemの活用

研究代表者 寺嶋 淳 国立感染症研究所
研究分担者 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
本庄峰夫 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
中根邦彦 岡崎市総合検査センター
石畝 史 福井県衛生研究所
岩出義人 三重県保健環境研究所
藪谷充孝 名古屋市衛生研究所

研究要旨

東海・北陸地方9施設による腸管出血性大腸菌3検体（0157:H7、026:H11、0111:HNM）を用い、サルモネラマーカ使用を統一して精度管理を実施した。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（1施設はPFGE修理のためPFGE未実施、残り1施設は画質が不十分であったため解析不可能であった。）。施設間の同一性の比較を行なったところ、3株何れにおいても施設間の同一性が90%以上（90.7%から99.1%）と高率であり、良好な結果が得られた。また、1施設ではPFGE担当でない職員が担当者の指導のもとPFGEを実施し泳動図を作成した。これら泳動図は何れも良好な画質で系統樹解析においても他の泳動図と高い同一性を示した。以上の結果は、これまでの研究班活動で実施した精度管理の成果であると思われ、このことは毎年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でもPFGE泳動図の画質の維持が可能であることを示している。

平成20年度に5施設で検出された25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90%以上を示すグループが3つ（6株）認められた。これらグループは何れも異なった2つ以上の施設由来株が含まれていた。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たことが示唆された。

平成20年度にPFGE解析結果を行政への還元した事例の調査を行ったところ、5施設で6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。何れも良質な泳動図が得られていたことから行政への還元もスムーズに進んだものと思われた。対象となった事例の原因菌は0157（4事例）をはじめ026（1事例）、セラチア菌（1事例）が含まれていた。

東海・北陸2施設において29株の0157を用いてIS printing system ver2の試行を行った。その結果、若干の非特異バンドは出現するものの、PFGEに比べ迅速性、簡便性に優れ、その解析力もPFGEと同程度と考えられた。よって集団事例発生時の疫学解析の手段として十分応用可能と思われた。

A. 研究目的

我が国で腸管出血性大腸菌 O157 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 20 年度まで行われた。

愛知県衛生研究所 (愛知衛研) ではこれまでの研究班活動として、O157、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 của 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 1 回から 2 回の O157 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)、3) O157 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) の調査を行った。

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 名程度変わることのある東海・北陸ブロック内地研においても精度管理のなかで同一 PFGE 型 O157 の PFGE バンドパターンの各地研相同性を約 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 O157 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。

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。今年度は、PFGE 精度管理を当所から送付した 3 株の腸管出血性大腸菌 (O157、O26、O111) を用いて 9 地方衛生研究所 (以下 9 施設と略す。) にて実施し PFGE 画質の向上をはかることを目的とした。また各施設で平成 20 年度に検出された O157 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。

さらに東海・北陸ブロック各地研が O157 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。また、昨年度に引き続いて O157 の PCR 型別法 IS printing system (東洋紡) についてブロック内 2 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

[I] 送付検体

3 検体の腸管出血性大腸菌 (検体 1、O157:H7; 検体 2、O26:H11; 検体 3、O111:HNM (非運動性)) を精度管理に用いた。これらは散发事例に由来する 3 株の腸管出血性大腸菌で愛知県内で平成 20 年度に検出された。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

1. 腸管出血性大腸菌を用いた精度管理

愛知衛研よりそれぞれ 3 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、三重県保健環境研究所、名古屋市衛生研究所、岡崎市総合検査センター) に送付した。そして、愛知衛研を含む 9 施設において、送付された 3 検体について PFGE を実施した。PFGE 実施条件に関しては、サルモネラマーカーの使用を統一した。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 5 施設で検出された O157 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 5 施設で平成 20 年度に検出された 25 株の O157 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。そして愛知衛研にて解析ソフト「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。

3. 行政への還元に関する調査

平成 20 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、事例の概要、PFGE 泳動図を愛知衛研に送付した。

4. IS printing system ver2（東洋紡）の実施

東海・北陸ブロック内 2 施設で検出された 29 株の O157 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 1 施設ではその PFGE 画像の質が低かったため解析を行うことができなかった。この施設の泳動図は写真の濃淡が非常に薄いため、特に低分子領域のバンドの判別が困難であった。また 1 施設は PFGE 機器修理のため実施できなかった。そこで以下の結果は 7 施設（愛知衛研は 2 泳動図）について記述した。

検体 1（O157）に関しては 7 施設全体の相同性は 99.1% と高率であった。7 施設のうち 6 施設が相同性 100% でひとつのクラスターを形成した。残り 1 施設もこのクラスターと相同性 99.1% と非常に高い相同性を示した（図 1）。

検体 2（O26）については 4 施設が相同性 100% を示し、ひとつのクラスターを形成した。残りの 3 施設はこのクラスターとそれぞれ 97.5%、97%、90.8% の相同性を示しそれぞれ単独でクラスターを形成した（図 1）。

検体 3（O111）に関してはそれぞれ 3 施設と 2 施設が相同性 100% であった。これら 5 施設は相同性 96% でひとつのクラスターを形成した。一方、残りの 2 施設はそれぞれ相同性 94.2、90.7% の相同性を示しそれぞれ単独でクラスターを形成した（図 1）。

また、今年度愛知衛研は PFGE 担当でない職員 2 名が担当者の指導のもと PFGE を実施し泳動図を作成した。これら泳動図は何れも良好な画質で系統樹解析においても他の泳動図と高い相同

性を示した。

2. 東海・北陸ブロック 9 施設で検出された O157 泳動図の解析（東海・北陸ブロック版バルスネットの試行）

5 施設から電送された 25 株（各施設 2 から 12 株）の泳動図について系統樹を作成した（図 2）。その結果、異なった施設間の菌株で菌株間の相同性が 90% 以上を示すグループが 3 つ認められた。これら 3 つのグループの詳細はグループ 1：異なった 2 施設の相同性が 100% であった、グループ 2：異なった 2 施設の相同性が 90.9% であった、グループ 3：4 施設由来 6 株が含まれるグループで全体の相同性は 95% であった。さらに 6 株のうち 2 株は異なった 2 施設由来で相同性が 100% であった。

3. 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、名古屋市、三重県、福井県、石川県）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 地研が 1 事例、1 地研が 3 事例であった。その概略を以下に示す。

富山県：保育所において発生した腸管出血性大腸菌 O26 集団感染事例について 富山県衛生研究所 細菌部 木全恵子 嶋智子 清水美和子 金谷潤一 磯部順子 倉田毅 綿引正則

1. 概要

平成 20 年 6 月下旬から 8 月初旬にかけて、富山県内の保育所において腸管出血性大腸菌 O26：H11（VT1+、以下 O26）による集団感染が発生した。感染者は 34 名であり、その内訳は園児 30 名、家族等接触者 4 名であった。有症者は 8 名（感染者の 24%）であり、全て保育園児であった。給食や環境調査からは O26 を検出することができなかったこと、互いにトイレを共用していた幼児 2 クラスに感染者が集中していたことから保育園内のヒト-ヒト感染が推察されたが、感染源・感染経路を特定することはできなかった。

2. PFGE による遺伝子解析

感染者 34 名についてその分離菌株の PFGE 解析を行った。PFGE は標準化プロトコールに基づいて行った。得られた PFGE の泳動像の解析は解析ソフト FingerPrinting II を用いて行った。

FingerPrinting II によるデンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い、トレランス値は 1.2% とした。

デンドログラム解析と目視による確認を行った結果、026 分離菌株 34 株は 6 つのパターンに分類された (図 3)。最も多かったパターン 5 は 34 株の 71% を占める大きなクラスターを形成していた。パターン 5 とバンド数の異なるパターン 1~4 を示した菌株は 34 株中 10 株 (29%) であった (図 3)。

本事例で検出された 6 つの PFGE パターンのうち、パターン 4 及びパターン 6 はパターン 5 と 1 バンド違いであった。また、パターン 1 はパターン 2 と 1 バンド違いであった。パターン 4 は本事例の前期 (6 月末から 7 月初め) に分離された (図 4、図 5)。初発患者より検出されたパターン 2 は本事例の前期 (6 月末) のみ検出された。一方パターン 5 とパターン 1 は本事例の全般にわたり検出された (図 4、図 5)。また、パターン 3 はパターン 2 と類似度 94.4% であった。

本事例では感染が確認され、治療・菌陰性化後、再度本菌が検出された園児が 3 名報告された。このうち 2 名からは治療前と同一 PFGE パターンの株が検出された。しかし、残りの 1 名からは治療前はパターン 2 の株が、治療後はパターン 3 の株が検出された。この 1 名の場合、治療の前後で異なるパターンの株が検出された理由として、別のパターン株に感染した可能性、あるいは初回感染菌が感染者の腸内から完全に排除されず変異した形で排出された可能性等が挙げられた。

名古屋市：散发事例 3 名から分離された 0157 : H7, Stx 2 について PFGE をおこなった。同一日に同一プールを使用していたがその他の接点、喫食状況を含む共通点は認められなかった。PFGE の結果 3 株は同一のものである可能性が高いと報告した (図 6)。

三重県：点滴を原因とするセラチア菌院内感染事例、2008 年 6 月に発生した院内感染事例で、182 検体を当研究所で検査を実施した。その結果、使用済み点滴バック 7 検体、血液 1 検体及び消毒綿 1 検体から *Serratia liquefaciens* を検出した。未使用の生食、点滴添加剤、添加剤入り生食は、7 日間増菌を行ったものの菌の発

育は認められなかった。また、*S. liquefaciens* を検出した消毒綿が入っていた容器の液中の一般細菌数は 105/mL であった。当所で検出した *S. liquefaciens* 9 株と A 及び C 総合病院で患者血液から分離した 6 株の PFGE を行ったところ、制限酵素 Spe I で処理した DNA のパターン (図 7) が全て一致し、使用した 13 薬剤に全て菌株が感受性を示した。

福井県：事例 1、2008 年 4 月 4 日、5 日に EHEC 0157 感染症として医療機関より届出があった患者 A および C について、保健所が調査した結果、患者 A は 3 月 28 日に、患者 C は 27 日に同一焼肉店 (X 店) で生レバーおよびホルモン等を喫食していた。X 店で患者と食事を供にした 2 グループ計 15 名および患者家族 17 名の糞便検査を当センターにて実施した結果、患者 A のグループ I の 2 名のうち 1 名 (B) から、患者 C のグループ II の 13 名のうち 1 名 (D) から EHEC 0157 を検出した。また、保健所管内で 4 月 6 日の報道発表に気付いて医療機関を受診し、4 月 10 日に EHEC 0157 が検出された患者 E は、3 月 29 日に X 店で生レバー等を喫食しており、計 5 名から検出された。PFGE の結果、A 由来株、B 由来の 3 株中 1 株および D 由来株の 3 株中 2 株は同一パターンであり、D 由来の残り 1 株は 1 本のバンドが欠けたパターンであった。また、B 由来の残りの 2 株、C 由来の 2 株中 1 株および E 由来株は同一パターンで、A 由来株などとは 1 本のバンドの違いであり、全体の類似度は 93% 以上であった (図 8)。

事例 2、2008 年 7 月 16 日、医療機関から保健所に EHEC 0157 感染症の届出があった。患者 A は家族 4 名と 7 月 5 日に焼肉店 V で、生レバーおよびホルモン等を喫食しており、同日に同店を利用した他のグループのうち 1 グループ 3 名も同様の症状を呈していた。7 月 14 日にも届出が 2 件 (患者 B および C) あり、患者 B は家族 6 名と 7 月 4 日に、患者 C は家族 2 名と 7 月 6 日に焼肉店 V で生レバー等を喫食していた。さらに、7 月 10 日に届出があった患者 D は家族 3 名と飲食店 W で、7 月 14 日に届出があった患者 E は家族 3 名と飲食店 X で、それぞれ牛さしおよびホルモン等を喫食していた。飲食店 W および X の肉の仕入れ先は焼肉店 V と同じ Z 店であった。

一方、7月18日に届出があった患者Fは家族2名と飲食店Yで喫食していたが、飲食店Yの仕入れ先はZ店ではなかった。当センターにおける糞便検査の結果、焼肉店Vの従事者2名(G、H)とその家族1名(K)、患者Aの同行者1名(I)および患者Cの同行者1名(J)からEHEC 0157が検出された。計11名由来株のPFGEの結果、すべて同一パターン(b142)であった(図9)。

事例3、2008年8月30日に保健所に医療機関からEHEC 0157の届出があった2名は、8月23日にバーベキューを喫食していた。バーベキュー参加者は53名で、医療機関における検査ではその他に有症者4名中2名、当センターにおける検査では有症者4名中1名および無症者41名中7名から0157が検出された。合計すると、検査を実施した51名中12名から検出された。PFGEの結果、4つのパターン(主なパターンはb142)が確認され、類似度は93%以上であった。また、同時期に発生した散発の2事例株でも同一パターンを示す株が確認された。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(図10)。

石川県：H20年8月17日に石川中央管内N町の焼肉店を利用した1グループ及び18日に上記施設を利用した2グループ計3グループ7名よりEHEC0157が検出された。これらのグループに共通する飲食物は上記施設以外にないことから同施設を原因とする食中毒と断定した(図11)。

4. IS printing system ver2の実施

2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。

「IS-printing Systemによる腸管出血性大腸菌0157サブタイピング法の検討について」

富山県衛生研究所 細菌部主任研究員 木全恵子
今回、我々は平成20年度パルスネット研究班検討課題として昨年度に引き続き、IS-printing Systemによる腸管出血性大腸菌0157サブタイピング法の検討を行った。IS-printing Systemに

よる0157サブタイピングは宮崎大学・林教授らにより開発されたIS(insertion sequence)の分布をマルチプレックスPCRにより検出する0157サブタイピング法である。

方法：供試菌は平成20年度に当県で発生した腸管出血性大腸菌0157(以下0157)感染事例より分離された0157 24株(表1)を用いた。鋳型DNAはキレックスDNA抽出法により調製した。キレックスDNA抽出は以下の方法で行った。5%キレックス-TE pH8.8に菌体を懸濁し、100℃で10分加熱したのちに、遠心(12000rpm 5分)分離を行った。得られた上清を鋳型DNAとしてPCRに用いた。調製した全ての鋳型DNAの濃度を吸光度OD260より計算した。各鋳型DNAを5 ng/ μ l~10ng/ μ lに希釈し、2 μ l(10ng~20ng 当量)をマルチプレックスPCRによる0157サブタイピングに用いた。PCR条件及びアガロース電気泳動はIS-printing Systemの推奨条件に従い、3%アガロース(Nusieve GTG Agarose : SeaKem GTG Agarose=2:1混合)と0.5×TBE bufferを、泳動装置にはMupidミニゲル電気泳動装置を用いた。電気泳動時のバンドの乱れを防止し、安定した泳動像を得るために、泳動に用いるアガロースゲルと泳動バッファーはあらかじめ4℃で冷却し、使用した。

結果と考察：図12に供試菌のIS-printing SystemマルチプレックスPCR産物のアガロースゲル電気泳動像を示した。供試菌のIS-printing Systemによるサブタイプパターンは表2のとおりであった。このうちIS-printing Systemサブタイピングにおいて陽性コントロールとは異なる大きさのPCR産物が2株より検出された(図12レーン7及びレーン8の△、及び表2の*印参照)。これらのPCR産物の電気泳動バンドは一部を除き、非常に濃く明瞭であり、陽性コントロールのPCR産物のバンドと非常に近い位置であった。陽性コントロールPCR産物とは異なる大きさのこれらのPCR産物の鑑別に関しては電気泳動によるバンド分離能等電気泳動条件の向上のほか、サブタイピング上での取り扱いと解釈に注意が必要であると考えられる。今回供試菌24株のIS-printing SystemサブタイプとPFGEパターンを比較した結果、PFGE解析では18パ

ターン、IS-printing Systemによるサブタイプは17パターンに分岐した。各供試菌のIS-printing SystemサブタイプとPFGEパターンを表3に示した。各供試菌のIS-printing SystemサブタイプとPFGEパターンの組み合わせでは19組であった(表3)。供試菌24株のうち、IS-printing Systemサブタイプ1タイプに対してPFGEパターンが1パターンであった組み合わせは15組18株であった(表3、E~S)。特に2組のPFGEパターンとIS-printing Systemサブタイプの組み合わせE、F(表3)は複数の株において検出された。これらの株はいずれも感染発生時期が近接していたが各事例における疫学的関連性は不明であった。このことから今回用いた供試菌株24株のうちIS-printing SystemサブタイプとPFGEパターンIS-printing Systemサブタイプの相関性が見られた株は18株(75%)であった。また、1つのIS-printing Systemサブタイプに対し複数のPFGEパターンが検出された組み合わせはA(表3、供試菌No. 1とNo. 20)、B(表3、供試菌No. 13)、C(表3、供試菌No. 14とNo. 16)、D(表3、供試菌No. 5)であった。このうち組み合わせBのP-11はP-1と2本、組み合わせDのP-5はP-2と4本、それぞれPFGEでのバンドパターンが異なっていた。組み合わせM(供試菌No. 17)については、PFGEパターンP-2であったがIS-printing SystemサブタイプはI-11であり、サブタイプI-2と2バンドパターンが異なっていた。

名古屋市：散発事例3名から分離された0157：H7、Stx 2についてIS printing system ver2をおこなった。同一日に同一プールを使用していたがその他の接点、喫食状況を含む共通点は認められなかった。IS printing system ver2の結果から3株は同一のものである可能性が高いと推測された(図13)。

D. 考察

PFGE泳動図の相互比較のために最も重要と考えられる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。今年度も昨年度と同様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。今回の精度管理ではこれまで用いてきた0157に加え026、0111を加えたが、大半の施設で0157と同様良質な画像が得られ、異なった施設間で高い相関性が認められた。具体的には026の場合には90.8%、0111の場合には90.7%と0157の場合(99.1%)には及ばないものの高い相関性であった。このことはこれまでの精度管理の成果と思われる。特に、愛知県ではPFGE担当の経験がない技術者が1回のPFGE研修で高質な泳動図を作成することが可能であった。これは毎年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十分技術の伝承が可能であり1施設において良好な画質を意義することが可能であることを示している。

平成20年度に東海・北陸ブロック5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25株について行ったところ類似したバンドパターンを示し菌株間の相関性が90%以上を示したグループが3つ認められた。これら3つのグループは何れも異なった施設の菌株が含まれていたことから同一の遺伝子型の0157が同年度に東海・北陸地方に存在していたことが明らかとなった。また、そのような0157を今回の「東海・北陸ブロック版パルスネット」の試行で検出できたことは「東海・北陸ブロック版パルスネット」実施の可能性を大きくするものと思われる。

平成20年度に東海・北陸ブロック内5地研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。解析を行なった5施設の泳動図に関して何れも良質な泳動図が得られていたことから行政への還元もスムーズに進んだものと思われた。特に三重県では社会的にも大きな問題となったセラチア菌院内感染事例が発生したが、行政へ迅速に良質な泳動図を提供できたことは当班活動の精度管理が多少なりとも貢献したものと思われる。特にこれまでの精度管理では腸管出血性大腸菌のみを検体としてきたが、セラチア菌院内感染事例のような他その病原菌の事例に対しても十分応用可能であることを証明した。

東海・北陸2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。よって本法も PFGE と同様、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

東海・北陸地方9施設による腸管出血性大腸菌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、3検体（検体1、0157:H7；検体2、026:H11；検体3、0111:HNM（非運動性））について行なった。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、何れの検体においても施設間の相同性が90%以上と高率であった。

平成20年度5施設で検出された25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相同性が90%以上を示すグループが3つ認められた。これらグループはどれも異なった施設由来株が含まれていた。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。

平成20年度東海・北陸9地研のうち5地研では集団発生の際に PFGE を実施し、その結果を行政に還元していた。どれも良質な泳動図が得られていたことから行政への還元もスムーズに進んだものと思われた。特にこれまでの精度管理では腸管出血性大腸菌のみを検体としてきたが、セラチア菌院内感染事例のようなその他の病原菌の事例に対しても十分応用可能であることを証明した。

2施設で検出された0157について IS printing system ver2 を実施した。若干の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。

F. 健康危機情報

なし

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

誌上発表

1. Matsumoto M, Suzuki M, Takahashi M, Hirose K, Minagawa H, Ohta M. Identification and epidemiological description of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains producing low amounts of Shiga toxin 2 in Aichi Prefecture, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2008 61:442-445.

学会発表

1. Matsumoto M, Suzuki M, Yamazaki M, Hiramatsu R, Toyama A, Minagawa H, Ohta M. Identification and epidemiological description of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains producing low amounts of Shiga toxin 2 in Aichi Prefecture, Japan 第43回日米コレラ細菌性感染症専門部会 平成20年11月17-19日 福岡市