

などにより、参加機関の結果が必ずしも全て一致するとは限らないことが hly 遺伝子の判定不一致の他にも経験された。

IS-printing system キット付属の説明書には、分離株からアルカリ加熱処理法により抽出した DNA を反応系に添加するよう記述されているが、市販の DNA 抽出キットにより抽出した DNA 溶液も使用可能とも併記されている。今回の検討では QIAamp DNA Mini Kit (キアゲン) を使用して供試株から抽出した DNA 溶液を参加機関に送付して検討を実施した。その結果、分離株からアルカリ加熱処理法により抽出した DNA を使用する場合と比較して、高分子側のバンドで増幅断片の量が過剰となり、バンドが著しく太くなる、あるいはバンド周辺がスミアになるなどの傾向がみられた。平成 24 年度の検討において、EC15419 と EC15468 の 2-02 と 2-03 の結果が他 9 機関の結果と一致しなかった 1 機関の泳動像では、特に 2-02、2-03 を含む高分子側増幅断片の量が過剰な傾向が顕著であり、このことが当該機関において 2-02 と 2-03 の結果が他 9 機関と異なった原因と考えられた。また、平成 26 年度の検討において、EC16180 の 1-03 近傍に出現したエキストラバンドは、正規のバンドと同様の輝度を示し、泳動位置のみが異なる特徴を有していた。そのため、この 1-03 の判定に際して、分子量が大きい領域でバンド幅の拡大する傾向が顕著であった 1 機関においてはこのバンドの泳動位置をスタンダードと正しく比較できなかつたために、このバンドをエキストラバンドと判定することができなかつた。また、平成 26 年度の検討において、反応系に加える DNA サンプルの量を、他の機関よりも多い $4\mu\text{l}$ とした 1 機関では、EC16130 の 1-08 と 1-09、EC16169 の 1-09 を陽性と判定したが、他の機関 (DNA サンプル量 $1\mu\text{l}$ – $3\mu\text{l}$) では

これらを全て陰性と判定するという結果となった。

以上の結果は、反応系に加える DNA の量が結果の再現性に大きな影響を及ぼすことを示していた。平成 25 年度の検討により、エキストラバンドについては実験条件や供試株によっては判定に苦慮する場合も発生することを念頭に入れる必要があること、そして、エキストラバンドか否か判断がつかない場合の報告方法について一定のルールを策定する必要があることが指摘された。さらに、平成 26 年度の検討において参加機関により判定が分かれるエキストラバンドを生じた EC16180 は、秋田県で散発下痢患者から分離された株であり、このことは、日常の行政検査で遭遇する可能性のある、一見何の特徴もない EHEC O157 株が判定に注意を要するエキストラバンドを生じることを平常時から想定して実験条件を設定する必要があることを示すものであった。とりわけ、食中毒や Diffuse outbreak の際に、エキストラバンドの判定に起因する施設間の結果の不一致を防ぐためにも、この点について今後特に留意する必要がある。

D. 結論

IS-printing system は市販の試薬キットであり、再現性なども十分検討されていると思われるが、今回の検討により、反応系に加える DNA 量が結果の再現性に大きな影響を及ぼすことが示された。また、菌株の種類によっては、正規のバンドと同等の輝度を呈するエキストラバンドが出現し、判定の不一致が発生することも経験された。このように、IS プリンティングの精度管理には未だに課題が存在することが浮き彫りとなり、今後もブロック内における IS-printing system の精度管理の取り組みを継続し、問題点を洗い出しながらブロッ

ク内地方衛生研究所の IS プリンティング
精度向上を目指す必要があると考えられた。

E. 健康危険情報

該当なし。

F. 研究発表

該当なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

表1 EHEC O157 供試株

年度	菌株番号	分離年月日	由来	病原遺伝子
H24	EC15388	2012. 9. 28	散発下痢患者	VT-1, 2 eae
"	EC15419	2012. 10. 30	散発下痢患者	VT-2 eae
"	EC15423	2012. 11. 2	牛便	VT-2 eae
"	EC15468	2012. 11. 29	散発下痢患者	VT-1, 2 eae
H25	EC15746	2013. 8. 28	散発下痢患者	VT-2 eae
"	EC15763	2013. 9. 10	散発下痢患者	VT-1, 2 eae
"	EC15696	2013. 7. 22	脳炎・死亡散発	VT-2 eae
"	EC15657	2013. 5. 31	牛便	VT-2 eae
"	EDL933	米国 1982 年集団事例		VT-1 eae
H26	EC16018	2014. 4. 7	食中毒患者	VT-1, 2 eae
"	EC16130	2014. 6. 25	散発下痢患者	VT-1 eae
"	EC16169	2014. 7. 25	散発下痢患者	VT-2 eae
"	EC16180	2014. 8. 5	散発下痢患者	VT-1, 2 eae

表2 使用 PCR 装置

H24			
北海道	AB 2720 Thermal Cycler	山形県	BIO-RAD My Cycler
札幌市	Takara Model TP600	仙台市	BIO-RAD PTC-220
青森県	AB GeneAmp PCR System 9700	福島県	BIO-RAD iCycler
岩手県	Takara Model TP600	新潟県	AB GeneAmp PCR System 9700
秋田県	AB GeneAmp PCR System 9700	新潟市	AB Veriti Thermal Cycler
H25			
北海道	AB 2720 Thermal Cycler	山形県	BIO-RAD My Cycler
	AB Veriti	宮城県	AB 2720 Thermal Cycler
札幌市	Takara Model TP600	仙台市	AB GeneAmp 9700
青森県	AB Veriti	福島県	BIO-RAD iCycler
岩手県	AB Veriti 200	新潟県	AB GeneAmp 9700
秋田県	AB GeneAmp 9700	新潟市	AB Veriti 200
H26			
北海道	AB 2720 Thermal Cycler	宮城県	AB 2720 Thermal Cycler
札幌市	Takara Model TP600	仙台市	BIO-RAD PTC-0220
青森県	AB Veriti	福島県	BIO-RAD iCycler
秋田県	AB GeneAmp 9700	新潟県	AB Veriti
山形県	BIO-RAD My Cycler	新潟市	AB Veriti 200

表 3 供試株の IS-printing 1st set PCR 結果

1st	H24								H25										H26							
	EC15388		EC15419		EC15423		EC15468		EC15746		EC15763		EC15696		EC15657		EDL933		EC16018		EC16130		EC16169		EC16180	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
1-01	10			10	10			10		11		11		11			11	11		10			10			10
1-02	10			10	10					11		11			11	11			10			10			10	
1-03				10		10				11		11			11		11			10			10	3	7	
1-04			10			10		10		11		11			11	11			10			10			10	
1-05				10		10				11		11			11	11			10			10			10	
1-06			10			10				11		11	11		11				10			10			10	
1-07	10		10			10		10		11		11			11	11			10			10			10	
1-08	10			10		10				11		11			11	11			10			10			10	
1-09	10		10			10				11		11			11	11			10			10			10	
1-10	10			10		10				11		11		1	10	11			10			10			10	
1-11				10		10				11		11			11	11			10			10			10	
1-12	10			10	10					11		11			11	11			10			10			10	
1-13	10			10	10			10		11		11			11	11			10			10			10	
1-14		10		10		10				11	11			11	11				10			10			10	
1-15	10		10		10			10		11		11		11		11			10			10			10	
eae	10		10		10			10		11		11		11		11			10			10			10	
1-16	10		10			10	10			11		11		11		11			10			10			10	
hlyA	9	1	9	1	9	1	9	1		11		11		11		11			10			10			10	

表 4 供試株の IS-printing 2nd set PCR 結果

2nd	H24								H25										H26							
	EC15388		EC15419		EC15423		EC15468		EC15746		EC15763		EC15696		EC15657		EDL933		EC16018		EC16130		EC16169		EC16180	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
2-1		10	10		10		10		10			11	11		11				11		10		10		10	
2-2	10		9	1		10		9	1			11		11		11		11		10		10		10		10
2-3		10	1	9		10		1	9			11		11		11		11		10		10		10		10
2-4	10			10	10				10			11		11		11		11		10		10		10		10
2-5		10		10		10			10			11		11		11		11		10		10		10		10
2-6		10		10		10			10			11		11		11		11		10		10		10		10
2-7	10		10			10			10			11	11		11		11		10		10		10		10	
2-8		10	10			10			10			11		11		11		11		10		10		10		10
2-9		10		10		10			10			11		11		11		11		10		10		10		10
2-10	10			10		10			10			11	11		11		11	11		10		10		10		10
2-11	10			10		10			10			11	11		11		11		10		10		10		10	
2-12	10			10	10			10			11		11		11		11		10		10		10		10	
2-13	10			10	10				10			11		11		11	11		10		10		10		10	
2-14		10		10		10			10			11		11		11		11		10		10		10		10
2-15	10		10			10		10			11	11		11		11		11		10		10		10		10
2-16	10		10			10		10			11	11		11		11		11		10		10		10		10
stx2	10		10			10		10			11		11		11		11		10		10		10		10	
stx1	10			10		10		10			11	11		11		11	11		10		10		10		10	

厚生労働科学研究費助成金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究」

平成 24－26 年度 研究分担報告書

関東ブロックで分離された食中毒起因菌の分子疫学解析法の検討と PFGE 法の精度管理

研究分担者	東京都健康安全研究センター	甲斐 明美
研究協力者	茨城県衛生研究所	山本 和則, 山城 彩花
	栃木県保健環境センター	内藤 秀樹, 桐谷 礼子
	群馬県衛生環境研究所	河合 優子, 松井 重憲
	埼玉県衛生研究所	倉園 貴至
	千葉県衛生研究所	平井晋一郎
	神奈川県衛生研究所	古川 一郎
	横浜市衛生研究所	松本 裕子
	山梨県衛生環境研究所	植松 香星
	長野県環境保全研究所	上田 ひろみ, 関口 真紀
	静岡県環境衛生科学研究所	柴田 真也, 松橋 平太
	東京都健康安全研究センター	小西 典子, 齊木 大
		尾畑 浩魅, 貞升 健志

研究要旨：腸管出血性大腸菌(EHEC)の分子疫学的解析を、関東ブロックの地方衛生研究所間で相互に行うために、PFGE 法及び IS-printing system (IS) 法の精度管理を実施した。

O157 株の共通菌株を用いた精度管理では、いずれの施設も全体的には良好な泳動像が得られた。しかし染色が薄く、バンドがはっきりしない写真も一部に認められた。本研究班を通じて精度管理を実施することは各地研の PFGE 解析技術の向上に非常に重要であった。

IS 法は PFGE 法と比較して、やや解像度が劣る場合もあるが、ほぼ同等の識別が可能であることが確認できた。簡便で短時間に結果を得ることができ、結果の比較がしやすいことがメリットである。しかし IS 法は 18 本のバンドを判定するマルチプレックス PCR 法なので、泳動時間や染色法によっては、判定を誤ってしまう可能性があることが示唆された。各地研では、実際の行政検体に PFGE 法や IS 法が活用された事例を多く経験し、非常に有用であった。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157 では、菌株間の比較を行う際、主に PFGE 法が用

いられてきた。一方、近年開発された IS-printing System (IS) 法は、迅速・簡便に解析を行うことができ、異なる施設間

での比較も非常に容易な方法である。

平成 24 年～26 年の 3 年間に分離された O157 株について IS 法と PFGE 法で解析を行い、IS 法の特徴と問題点について明らかにした。また関東ブロックでは、毎年数名の担当者の異動があるため、検査技術を一定に保つことが困難となっている。そこで共通菌株を配布し PFGE 解析および IS 法による解析を実施することで、各方法の精度管理を実施した。

B. 研究方法

1. PFGE 法による解析

1) 解析方法

国立感染症研究所プロトコールにより実施した。すなわち、制限酵素は *Xba* I を用い、泳動条件は 6V/cm, 2.2～54.2 sec, 20～22 時間, buffer 温度 12°C で行なった。泳動時間は、泳動後のバンドの先端がゲルの下から 1.0 cm～1.5 cm になるように調整した。PFGE 写真の撮影は、各地研で通常行っている方法で行ったが、写真中の泳動像が小さいとソフトを用いた解析が困難になるため、アガロースゲルを写真場面いっばいに大きく写るように撮影した。各地研から送付された画像は、解析ソフト BioNumerics で解析した。相同性は Dice 法、トレランス 1.2% で解析し、クラスター解析は UPGMA 法で実施した。

2) 共通菌株を用いた PFGE 法の精度管理

関東ブロックの各施設に EHEC O157 を共通菌株として配布し、PFGE を用いた解析を実施した。

2. IS-printing System 法による解析

1) 解析方法

EHEC O157 解析用キットである IS-printing System (TOYOBO) を用い、マルチプレックス PCR 法で実施した。結果はバンドが認められた場合を「1」、バンドが認められない場合は「0」と記入し、結果表に記入した。

2) 共通菌株を用いた IS-printing System 法の精度管理

関東ブロックの各施設に EHEC O157 を共通菌株として配布し、IS-printing System 法を用いた解析を実施した。

3) IS-printing System 解析と PFGE 解析の比較

IS 法で同じパターンであった株について PFGE 解析を実施し、結果を比較した。

4) IS-printing System 法の実施状況に関するアンケート実施

各地研で IS-printing System の実施状況に関するアンケートを実施した。

3. PFGE 法および IS-printing System 法が有効に活用された事例

各地研で経験した事例についてまとめた。

C. 研究結果

1. PFGE 法の精度管理

共通の O157 株 2 株を用いて 9 施設で解析を行った (写真 1)。全体的には非常に分離も良く、シャープなバンドが得られている写真であった。しかし、中にはバンドが太く、ピントが合っていないような写真や、染色が薄い写真、ブロックの埋め込み時に曲ってしまったため、バンドが曲がったまま泳動された写真も認められた。約 100kb 以下のバンドは不明瞭な場合が多く、解析ソフトを用いた解析では、バンドの選

択が困難であった。そのため約 100Kb 以上のバンドを対象として解析を行ったところ、菌株 A の相同性は 92%以上であった。菌株 B では 75%と低かったが、これは染色が薄かったためにバンドの選択が困難であったものと考えられた。

2. IS-printing System 法の精度管理

2012年に実施した共通株2株を用いた精度管理では、参加した9施設中8施設で結果が一致していた。一方、2014年に共通株5株を用いて実施した結果、5株全ての成績が一致したのは3施設、4株一致は5施設、3株一致が1施設、どの株も一致しなかったのは1施設であった。

1st Primer set は、いずれの施設もほぼ同じ成績であったが、*eae* や *hly* をマイナスとした施設があった。2nd Primer set は6番目と7番目のバンドが非常に近いために判定を誤った施設が認められた。特徴あるエキストラバンドは、菌株識別の重要なポイントとなることがある。しかし今回、エキストラバンドについての記載があった施設は5施設のみであった。

3. PFGE 解析および IS 解析の解像度

2013年に分離された O157 283 株について PFGE 解析を行った結果、バンド1本違いを含めると 114 パターンに分類することができた。そのうち 269 株について IS-printing System 解析を行った結果、87パターンに分類された。2014年に分離された株についても同様に解析したところ PFGE パターンは 108 パターン、IS 型は 88 パターンに分類された。IS 型は PFGE 法と比較して、解像度がやや劣る場合もあ

るが、ほぼ同程度に菌株間の識別が可能であった。

4. 同じ IS 型を示した株の解析

同じ菌株を PFGE 法と IS 法で解析すると、同じ PFGE パターンを示すが異なる IS 型である場合や、逆に異なる PFGE パターンであっても同じ IS 型になる場合がある。今回は同じ IS 型を示した株に、どの程度 PFGE パターンのバリエーションがあるかを比較検討した。IS 型：2014-A 型 (34 株) は全て 157 : H7 (VT1+VT2 産生) 株で PFGE パターンも同一であった (表 1)。2013-A 型 (30 株)、2013-C 型 (19 株)、2014-B 型 (26 株) は、分離数が少ないにも関わらず PFGE パターンは 2 パターンであった。一方、2013-D 型 (18 株) は 9 パターン、2014-C 型 (26 株) は 6 パターン、2014-E 型 (11 株) は 7 パターンと、多くの PFGE パターンが認められたものもあった。2014-A (1 種類)、2014-B (2 種類)、2014-C (6 種類)、2014-D (2 種類) および 2014-F 型 (2 種類) の PFGE パターンを写真 2 に示した。

5. IS-printing System の実施状況に関するアンケート調査

各地研での IS-printing System の実施状況について質問した結果、11 施設中 9 施設が「導入している」と回答し、ほとんどの施設で IS 法を実施していることが明らかとなった。また、「実施している」と回答した 9 施設中 5 施設は「分離された全ての株について実施」、4 施設は「必要時のみ実施」であった。IS データベース化の活用を望む意見が多くあった。

6. PFGE 解析および IS-printing System が有効に活用された事例

各地研では毎年多くの事例を経験している。代表事例としては東京都で発生した「G 居酒屋を原因とした食中毒事例 (2013 年)」および長野県で発生した「保育所における腸管病原性大腸菌 O55 : H7 による食中毒事例 (2013 年)」である。2014 年に発生した「馬刺しによる O157 食中毒事例」では複数自治体に患者が認められたが、IS 法を用いた解析によって迅速に原因を特定することが可能であった。

D. 考察

1. PFGE 法の精度管理

各地方衛生研究所で実施する PFGE 法の標準化を目的として EHEC O157 を共通菌株として各地研へ配布し、PFGE 解析を行った。例年、施設によって写真の大きさやファイル形式が異なっていたため、解析ソフトを用いた解析が困難であった。今回は写真の大きさ、ファイル形式等をできるだけ統一して行ったところ、バンドの選択が比較的容易であった。全体的にシャープできれいな電気泳動像であったが、一部の施設では染色が非常に薄い写真や、酵素処理が不十分だと思われる写真、ブロック作製時の菌濃度が菌株間で異なる写真等が認められた。PFGE 法はマニュアルの整備だけでなく、実際に解析を行い、慣れることでコツをつかんでいく部分があるため、技術の引き継ぎは重要である。本研究班を通じて最低 1 年に 1 度精度管理を行い、情報交換を行っていくことが重要であると考えられた。

2. IS-printing System 法の精度管理

関東ブロックで共通菌株を用い IS 法の精度管理を実施した。1st primer set の *eae* と *hly* をマイナスと判定した施設があった。O157 株では、ほとんど全ての株でこれらは陽性となる。これらの遺伝子が陰性であった場合は、DNA の抽出、試薬の調整等の過程から再検査を行う必要があると考えられた。2nd primer set では 6 番目と 7 番目のバンドの判定に誤りがあった施設があった。この 2 本のバンドは位置が非常に近いため、泳動時間が短いと 2 本と 1 本と判定してしまうことがある。このため間違えて判定してしまったものと推定された。IS 法は 18 本のマルチプレックス PCR 法であるため電気泳動時間によっては、バンドとバンドの間隔が狭く、判定が困難な場合があることが明らかとなった。

3. IS 解析の解像度と活用法

2013 年に分離された 269 株が 87 パターンに、2014 年に分離された 263 株が 88 パターンに分類されたことから、IS 法は PFGE 法にはやや劣るが、ほぼ同等の多様性が認められることが明らかとなった。IS 法はマルチプレックス PCR 法を原理としており、試薬もキット化されているため、非常に簡便な方法である。結果はバンドの有無で判定できるため、異なる施設間の比較が容易にできるメリットもある。現在、IS 法を取り入れている地研は多い。今後、データベースの整備を進め、実際の行政に反映できるようにしていく必要があると考えられた。

E. 結論

1. O157 株の共通菌株を用いた精度管理では、いずれの施設も全体的には良好な泳動像が得られた。しかし染色が薄く、バンドがはっきりしない写真も一部に認められた。約 100kb 以下の小さいサイズのバンドは不明瞭な場合が多く、BioNumerics を用いた解析ではバンドの選択が困難な場合が多い。

本研究班を通じて精度管理を実施することは各地研の PFGE 解析技術の向上に非常に重要であった。

2. IS 法は PFGE 法と比較して、やや解像度が劣る場合もあるが、ほぼ同等の識別が可能であることが確認できた。簡便で短時間に結果を得ることができ、結果の比較がしやすいことがメリットである。しかし IS 法は 18 本のバンドを判定するマルチプレックス PCR 法なので、泳動時間や染色法によっては、判定を誤ってしまう可能性があることが示唆された。

3. 各地研では、実際の行政検体に PFGE 法や IS 法が活用された事例を多く経験した。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

笠原ひとみ, 上田ひろみ, 宮坂たつ子, 藤田暁, 小野諭子, 関映子, 他: プール水が原因と推定された腸管出血性大腸菌 O28 集団感染事例—長野県, 病原微生物検出情報 (国立感染症研究所) 34, 5, 132-133, 2012.

小嶋由香, 平井有紀, 松葉友美, 石井圭,

平井晋一郎, 横山栄二, 他: 中国北京ツアー参加者における複数の腸管出血性大腸菌感染症事例, 病原微生物検出情報 (国立感染症研究所) 34, 5, 137-139, 2013.

小西典子, 齊木大, 石塚理恵, 赤瀬悟, 横山敬子, 門間千枝, 河村真保, 尾畑浩魅, 高橋正樹, 貞升健志, 甲斐明美: 2013 年に東京都で発生した腸管出血性大腸菌による食中毒・感染症の特徴, 第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 2014.

小西典子, 齊木大, 石塚理恵, 赤瀬悟, 横山敬子, 門間千枝, 河村真保, 尾畑浩魅, 高橋正樹, 平井昭彦, 仲真晶子, 甲斐明美: パルスネットによる連携によって解明された腸管出血性大腸菌 O157 による集団食中毒事例, 2014.

平井晋一郎, 横山栄二, 江藤良樹, 瀬戸順次他: IS-printing を用いた腸管出血性大腸菌 O157 の clade 推定法の確立, 第 35 回日本食品微生物学会学術総会, 2014.

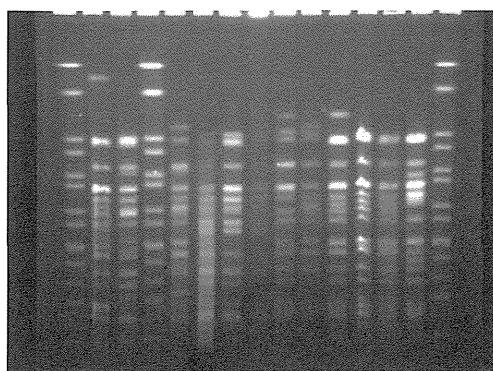
柳本恵太, 植松香星: ローストビーフを原因とする黄色ブドウ球菌による食中毒事例, 第 27 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌部会総会・研究会, 2015.

関口真紀, 笠原ひとみ, 中沢春幸, 藤田暁: エンテロトキシン G・I 型遺伝子を保有する黄色ブドウ球菌による食中毒事例, 第 27 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌部会総会・研究会, 2015.

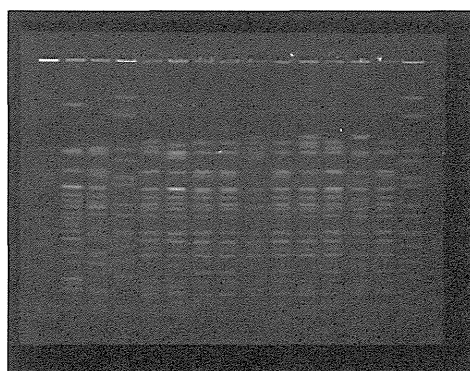
H. 知的所有権の取得状況

なし

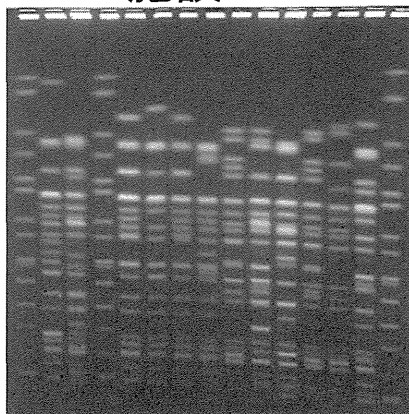
施設2



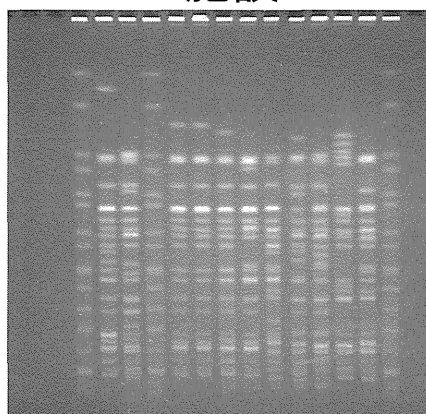
施設3



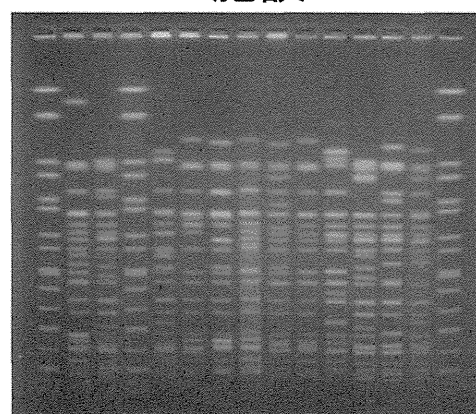
施設4



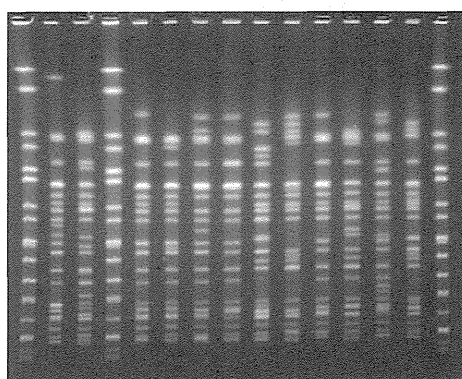
施設5



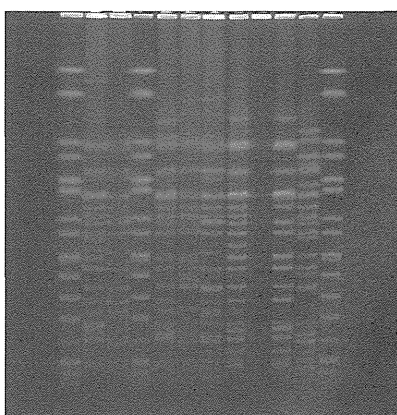
施設6



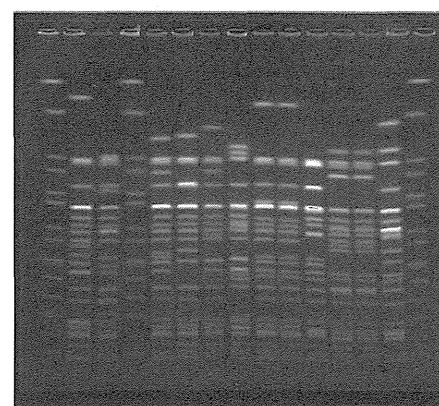
施設7



施設8



施設9



施設11

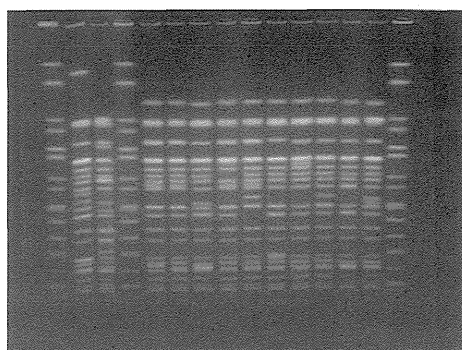


写真1.
共通株2株および各施設で分離された
O157のPFGE画像(2012年)

表1. 分離数の多かったISパターンとPFGEパターン数
(2014年分離株)

IS型	分離菌株数	PFGE型数
2014-A	34	1
2014-B	26	2
2014-C	20	6
2014-D	15	2
2014-E	11	7
2014-F	10	2
2014-G	10	4
2014-H	10	4

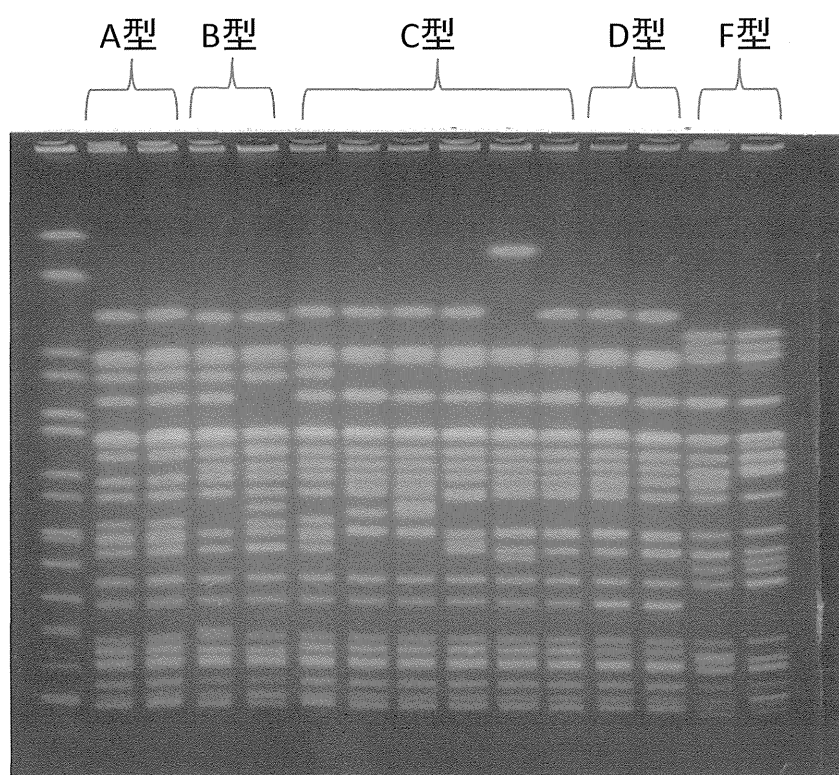


写真2. 同じIS型であったO157のPFGEパターン(2014年分離株)

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

研究分担報告書

研究分担 東海・北陸地方 11 施設（地方衛生研究所及び衛生試験所）による IS printing System データベースへの登録及びパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）等活用状況調査（平成 24 年度から 26 年度）

主任研究者 泉谷秀昌 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
山田和弘 愛知県衛生研究所
北川恵美子 石川県保健環境センター
野田万希子 岐阜県保健環境研究所
土屋美智代 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
新名由季子 福井県衛生研究所
永井佑樹 三重県保健環境研究所
藪谷充孝 名古屋市衛生研究所
多和田光紀 豊田市衛生試験所
山本新也 豊橋市保健所衛生試験所

研究要旨

1) 各施設の IS printing System の型別結果と他の都県市分離株との関連：東海・北陸地方 11 施設（地方衛生研究所及び衛生試験所）において各施設で検出された 0157 について IS printing System を実施した。平成 24 年度は 10 施設由来 112 株について IS printing System データベースへの登録を行った。10 施設中 9 施設で他の都県市と同一の IS 型が検出された。さらに東海・北陸地方以外の東京都、岡山県から検出された 0157 と同一の IS 型も検出された。最も多くの都県市から検出された IS 型は AA039 であった。この型は東海・北陸、東京都を含む 6 都県市から検出され、その期間は 6 月から 10 月であった。平成 25 年度は 141 株について IS printing System データベースへの登録を行った。141 株は 49 の異なった IS 型に型別された。これら IS 型のうち 13 の IS 型は 2 施設以上から検出されていた。このうち 6 つの IS 型は東海と北陸地方両方の県から検出されていたが、残りの 7 つの IS 型は東海地方のみから検出されていた。今回の解析から最も多くの都県市から検出された IS 型は AA091 であった。AA091 型は東海・北陸地方を含め、全国では九州、近畿、関東・甲信越から検出されていた。平成 26 年度は 119 株の 0157 についてデータベースを用いて解析を行った。119 株は 57 の異なった IS 型に型別され、11 の IS 型は 2 施設以上から検出されていた。このうち 7 つの IS 型は東海地方の市県から検出されていたが、残りの 4 つの IS 型は東海・北陸両地方の市県から検出されていた。今回の解析から最も多くの市県から検出された IS 型は AA047 型で東海・北陸両地方にまたがる 5 市県で 15 株検出された。2) PFGE 解析結果の行政への還元に関する調査：平成 24 年度は 4 施設で PFGE の結果が集団事例発生時に行政に還元されていた。病原菌は 0157、0121 等の腸管出血性大腸菌であった。また、1 施設では病院から分与された 0157 を含めた集団事例の解析を PFGE を用いて実施していた。平成 25 年度は 5 施設で PFGE の結果が集団事例発生時に行政に還元されていた。病原菌は 4 施設で 0157、0121、026 の腸管出血性大腸菌であり、残り 1 施設では A 群溶血性レンサ球菌であった。3) PFGE 等疫学解析に活用された事例に関する調査等：平成 26 年度は 2 施設で PFGE の結果が疫学解析に活用されていた。対象とした病原菌は腸管出血性大腸菌 0157 であった。また、1 施設で 0157 の MLVA の結果が集団事例の疫学解析に活用されていた。4) 0111 の MLVA 解析に基づく食品関係従事者検便の実施：国立感染症研究所で実施した 0111 の MLVA 解析の結果、複数の市県から検出された患者由来株の MLVA Type が一致した。患者はいずれも同一チェーン店の焼肉店を利用していたことから、食材を加工している施設従業員 98 名の検便を実施したが、0111 は検出されなかった。今後も国立感染症研究所からの情報を活用して腸管出血性大腸菌感染症の防止に努めたい。

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 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、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を行った。また東海・北陸ブロック内の活動として 1) PFGE 精度管理、2) 東海・北陸ブロック地方衛生研究所 (地研) 及び衛生試験所 PFGE 担当者を愛知衛研に集め、PFGE 実施手順に関する研修会の実施、3) 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) 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実施によって同一 PFGE 型 0157 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 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 PCR を用いた型別法である IS-printing System についても PFGE と同様にこれまで精度管理の実施、各施設で検出された 0157 の型別を行い、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データとして PFGE 解析結果と共に提供することが可能であると思われる。

平成 24 から 26 年度の活動内容は 1) 東海・北陸地方 11 施設 (地方衛生研究所、及び衛生試験所) において今年度検出された 0157 について IS printing System を実施し、その結果と泳動図を愛知県衛生研究所 (愛知衛研) に送付した。愛知衛研ではそれらの結果を IS データベースに登録し解析を行った。2) 東海・北陸地方各

施設が 0157 及び他の病原菌による集団発生時等に PFGE、MLVA を行い、その結果を疫学解析に活用した事例の調査を行い、PFGE、MLVA がどの程度活用されているかを調査した。

B. 研究方法

1. IS printing System の実施

添付のプロトコールに従い、東海・北陸地方 11 施設で今年度に検出された 0157 について IS printing System を行い、その泳動図、菌株情報 (集団・散発、分離年月) 及びエクセルファイルに記入した IS printing System 結果を愛知衛研に送付した。愛知衛研において結果のエクセルファイルを CSV ファイルに変換し、IS データベースに入力した。このデータベースを用いて東海・北陸地方各施設で検出された 0157 と同じ IS 型が検出された都県市を検索した。

2. 行政への還元に関する調査

平成 24～25 年のそれぞれ 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。

3. PFGE 等疫学解析に活用した事例に関する調査

平成 26 年 4 月から 12 月までの間に東海・北陸各施設で各種病原菌による集団事例の際に PFGE、MLVA を行い疫学解析を行った事例について事例の概要、PFGE 泳動図等を愛知衛研に送付した。

C. 研究結果

平成 24 年度

1. 各施設の IS printing System の型別結果と他の都道府県分離株との関連

1) 愛知県

23 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 11 株、集団事例 (家庭内事例) 4 事例由来 12 株であった。これら 23 株は 11 の IS 型に分類された。集団事例 4 事例のうち 3 事例では同一事例内の 0157 の IS 型は同一であったが、残り 1 事例では 3 株のうち 2 株はバンド 1 本違いであったが、残り 1 株とは 3 本以上異なっていた。また、4 つの IS 型 (6 株) は同一の IS 型が愛知県以外の県 (東京都、岡山県、岐阜県)

から検出されていた。分離年月の間隔は 4 ヶ月以内であった。残り 2 つの IS 型 (5 株) は同一の IS 型が県内の岡崎市、豊田市、豊橋市から検出された。分離年月の間隔は 1 つの IS 型 (AA040) は約 2 年と離れていた。

2) 岡崎市

7 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 4 株、集団事例 (家庭内事例) 1 事例由来 3 株であった。これら 7 株は 4 つの IS 型に分類された。集団事例 1 事例は同一事例内の 0157 の IS 型は同一であった。また、1 散発事例由来株の IS 型 (AA040) は同一の IS 型が愛知県、及び豊田市から検出されていた。分離年月の間隔は 3 ヶ月以内であった。残り 3 つの IS 型は同一の IS 型は他の都府県市から検出されなかった。

3) 豊田市

9 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 2 株、集団事例 2 事例由来 7 株であった。これら 7 株は 4 つの IS 型に分類された。集団事例 2 事例のうち 1 事例では同一事例内の 0157 の IS 型は同一であったが、残り 1 事例では 4 株のうち 3 株は同一の IS 型であったが、残り 1 株はバンド 1 本異なっていた。9 株は 5 つの IS 型に型別された。このうち 1 つ (AA047) は東京都、岐阜県、名古屋市から同一の IS 型が検出されていた。また、分離年月の間隔は 2 ヶ月以内であった。散発事例から検出された IS 型 AA040 は愛知県、岡崎市から同一型が検出され、岡崎市由来株とは約 1 年検出間隔があった。

4) 豊橋市

5 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 1 株、集団事例 2 事例由来 4 株であった。これら 5 株は 3 つの IS 型に分類された。集団事例 2 事例では何れも同一事例内の 0157 の IS 型は同一であった。また、これらの IS 型は他の都府県市と同一の IS 型は認められなかった。散発事例 1 株 (IS 型 AA042) は同一の IS 型が岡山県、愛知県、岐阜県、東京都から検出されていた。その検出間隔は約 3 ヶ月であった。

5) 名古屋市

11 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 2 株、集団事例 4 事例由来 9 株であった。これら 11 株は 6 つの IS 型に分類された。集団事例 4 事例では同一事例内の 0157 の IS 型

は全て同一であった。また、これら集団事例株と同一の IS 型は他の都府県市由来株には認められなかった。散発事例株 1 株の IS 型は同一の型が豊田市、岐阜市、東京都から検出されていた。その検出間隔は約 2 ヶ月であった。

6) 岐阜県

22 株について型別を行った。その内訳は全て散発患者株であった。これら 22 株は 8 つの IS 型に分類された。これら IS 型のうち AA039 型が最も多く検出され 10 株に認められた。これら 10 株は 7 月から 8 月の 2 ヶ月間に集中していた。以下、AA045 が 3 株、AA009、AA044、AA046 がそれぞれ 2 株検出された。その分離間隔は、AA045 が 2 ヶ月、AA009、AA044、AA046 は同じ月に検出されていた。9 月に検出された AA046 は岐阜市から 1 月と 9 月に検出された。他の都府県市で同一の IS 型が検出された型は、AA009 が東京都、富山県、岐阜市 (検出月は 4 月から 10 月)、AA023 が東京都、愛知県、豊橋市、岡山県であった。東京都由来株は保育園での集団事例株であった。その検出間隔は約 4 ヶ月であった。AA047 は東京都、名古屋市、豊田市から 7 月から 9 月に検出されていた。

7) 岐阜市

6 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 2 株、集団事例 2 事例由来 4 株であった。これら 6 株は 3 つの IS 型に分類された。集団事例 2 事例では何れも同一事例内の 0157 の IS 型は同一であった。さらに散発事例株 1 株はその IS 型がひとつの集団事例株と同一であった。この IS 型 (AA009) は東京都、富山県、岐阜県からも 4 月から 10 月に検出されていた。残りの集団事例由来株と同じ型 (AA046) は同じ月 (9 月) に岐阜市から検出されていた。

8) 三重県

12 株について型別を行った。その内訳は散発患者由来 1 株、2 つの集団事例由来 11 株であった。これら 12 株は 3 の IS 型に分類された。それぞれの集団事例で同一事例内では IS 型は全て一致した。また、これら 3 つの IS 型で他の都府県市由来株と同一の型は検出されなかった。

9) 石川県

10 株について型別を行った。その内訳は散発患者株が 3 株、2 集団事例由来株は 7 株であった。これら 10 株は 3 つの IS 型に分類された。これら IS 型のうち AA065 型が最も多く検出され、1 集団事例 4 株と散発事例 1 株、計 5 株であった。次に AA039 が 4 株認められ、1 集団事例 3 株と散発事例 1 株に認められた。他の都府県市で同一の型が認められたのは AA039 と AA065 で後者は富山県から同じ月（7 月）に検出されていた。

1 0) 富山県

7 株について型別を行った。その内訳は散発患者株が 5 株、1 集団事例由来株は 2 株であった。これら 10 株は 6 つの IS 型に分類された。集団事例由来株は同一の IS 型であった。これら IS 型のうち他の都府県市由来株と同一の型が認められたのは 3 つの型で AA063 は愛知県、岐阜県、石川県から 7 月から 10 月の間に、AA039 は 6 つの異なった都府県市から、集団事例由来 AA009 は東京都、岐阜県、岐阜市から 4 月から 10 月に検出されていた。

1 1) 福井県

12 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 5 株、集団事例 2 事例由来 7 株であった。これら 12 株は 8 つの IS 型に分類された。集団事例 2 事例ではひとつの集団事例由来 2 株は同様の IS 型であったが、他の集団事例株は 5 株のうち 2 株は同一の型であったが、残り 3 つの型はバンド 1 から 2 本異なる型であった。これら 12 株は *eae* 遺伝子陰性となっていたため IS データベースへの登録を行うことが出来なかった。

図 1 に 11 施設の泳動図と結果のエクセルシートを示した。但し、施設名は明記しなかった。

平成 25 年度

1. 各施設の IS printing System の型別結果と他の都府県市分離株との関連

1) 愛知県

25 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 13 株、集団事例 3 事例由来 12 株であった。これら 25 株は 10 の IS 型に分類された。集団事例 3 事例のうち 2 事例（集団事例 1、2）では同一事例内の 0157 の IS 型は同一であったが、残り 1 事例では 6 株のうち 4 株は同一の IS 型 AA040 であったが、残り 2 株は AA023 と AA402

型であった。また、最も多く検出された AA040 型（9 株）は、東海・北陸地方では三重県と豊田市からもそれぞれ 2 株検出されていた。AA040 型は全国では岡山県、静岡県で検出されていた。静岡県から検出された菌株は集団事例由来株であった。

2) 岡崎市

10 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 8 株、集団事例 1 事例由来 2 株であった。これら 10 株は 5 つの IS 型に分類された。集団事例内の 0157 の IS 型は同一（AA017 型）であった。また、最も多く検出された AA078 型（3 株）は、東海・北陸地方では岐阜県、三重県と豊橋市からもそれぞれ 2 若しくは 3 株検出されていた。AA078 型は全国では 2010 年から九州、近畿地方で検出されている型であった。特に九州地方では馬刺しを原因とする集団事例から検出されていた。

3) 豊田市

3 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 1 株、集団事例 1 事例由来 2 株であった。これらは 2 つの IS 型に分類された。集団事例内の 0157 の IS 型は同一の AA040 型であった。AA040 型は、東海・北陸地方では三重県（2 株）と愛知県（9 株）からも検出されていた。AA040 型は全国では岡山県、静岡県で検出されていた。静岡県から検出された菌株は集団事例由来株であった。

4) 豊橋市

13 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 7 株、集団事例 2 事例由来 6 株であった。13 株のうち 2 株は *eae* 遺伝子陰性のため解析不可であった。残り 11 株は 8 つの IS 型に分類された。集団事例 2 事例では何れも同一事例内の 0157 の IS 型は同一であった。また、最も多く検出された AA078 型（3 株）は、東海・北陸地方では岐阜県、三重県と岡崎市からもそれぞれ 2 若しくは 3 株検出されていた。AA078 型は全国では 2010 年から九州、近畿地方で検出されている型であった。特に九州地方では馬刺しを原因とする集団事例から検出されていた。

5) 名古屋市

10 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 7 株、集団事例由来 3 株であった。これら 10 株は 5 つの IS 型に分類された。集団事例では同一事例内の 0157 の IS 型は全て同一であった。また、最も多く検出された AA404 型 (4 株) は、東海・北陸地方、全国ともこれまで検出されていない IS 型であった。

6) 岐阜県

15 株について型別を行った。その内訳は散発患者 8 株、家庭内集団事例 2 事例由来 4 株、食中毒疑い事例 1 事例由来 3 株であった。これら 15 株は 9 つの IS 型に分類された。3 つの集団事例内の IS 型はそれぞれ同一であった。これら IS 型のうち AA382 型が最も多く検出され 4 株に認められた。これら 10 株は岐阜県のみからで、東海・北陸地方、全国とも検出されていない IS 型であった。さらに、9 株 (由来不明) についても同様に解析を行った。その結果、これらの株は AA063 (3 株)、AA028 及び AA044 (それぞれ 2 株)、AA045 及び AA403 (それぞれ 1 株) に型別された。これらの中で、最も多く検出された AA063 型はデータベースに 119 株登録されている型で、全国からその検出が報告されていた。

7) 岐阜市

5 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 1 株、集団事例 2 事例由来 4 株であった。これら 5 株は 3 つの IS 型に分類された。集団事例 2 事例では何れも同一事例内の 0157 の IS 型は同一であった。集団事例 1 事例から検出された AA352 型は岐阜市のみから検出されている IS 型であった。また、もうひとつの集団事例由来 AA382 型は平成 25 年に岐阜県から検出されていた。

8) 三重県

13 株について型別を行った。その内訳は散発患者由来 4 株、3 つの集団事例 (1 事例は家庭内) 由来 9 株であった。これら 13 株は 6 の IS 型に分類された。それぞれの集団事例で同一事例内では IS 型は全て一致した。また、最も多く検出された AA031 型 (1 集団事例由来 4 株) は、東海・北陸地方では岐阜県からも 1 株検出されていた。AA031 型は全国では九州、中国・四国、近畿地方からも検出されていた。

9) 石川県

16 株について型別を行った。その内訳は散発患者株が 10 株、3 集団事例由来株は 6 株であった。これら 16 株は 9 つの IS 型に分類された。集団事例では同一事例内の 0157 の IS 型は全て同一であった。これら IS 型のうち AA091 型が最も多く検出され、散発事例 3 株及び 1 集団事例 2 株と、計 5 株であった。AA091 型は東海・北陸地方では愛知県、岡崎市、岐阜県、富山県及び福井県から検出されていた。また、全国では九州、近畿、関東・甲信越から検出されていた。

10) 富山県

10 株について型別を行った。その内訳は散発患者株が 10 株であった。これら 10 株は 5 つの IS 型に分類された。最も多く検出された AA091 型 (6 株) は、東海・北陸地方では愛知県、岡崎市、岐阜県、石川県及び福井県から検出されていた。また、全国では九州、近畿、関東・甲信越地方からも検出されていた。

11) 福井県

14 株について型別を行った。その内訳は散発患者株 8 株、集団事例 1 事例由来 6 株であった。これら 12 株は 7 つの IS 型に分類された。集団事例では同一事例内の 0157 の IS 型は全て同一であった。集団事例由来 AA017 型 (6 株) は、東海・北陸地方では愛知県、岡崎市から検出されていた。また、全国では九州、近畿地方からも検出されていた。特に九州地方から検出された菌株は韓国 (ソウル) 旅行者でユッケ、せんまいを喫食していた。

平成 26 年度

1-1. 各施設の IS printing System の型別結果と他の都県市分離株との関連

1) 愛知県

20 株について型別を行った。その内訳は患者由来 7 株、保菌者由来 7 株、不明 6 株であった。これら 20 株は 13 の IS 型に分類された。複数の株が含まれた IS 型は 4 つで AA023 が 4 株、AA078 が 3 株、AA091 と AA525 がそれぞれ 2 株であった。最も多く検出された AA023 型は、愛知県以外では豊田市からも 1 株検出されていた。

2) 岡崎市

10 株について型別を行った。その内訳は患者由来 5 株、保菌者由来 2 株、不明 3 株であった。

これら 10 株は 6 つの IS 型に分類された。複数の株が含まれた IS 型は 3 つで AA017 が 3 株、AA022 と AA091 がそれぞれ 2 株であった。AA091 型は愛知県 (2 株)、三重県 (2 株)、AA040 型は福井県 (1 株)、石川県 (2 株) から検出されていた。

3) 豊田市

4 株について型別を行った。その内訳は全て患者由来株であった。これら 4 株は全て異なった IS 型に型別された。このうち AA023 型は、愛知県 (1 株)、AA063 型は岐阜県 (3 株)、富山県、福井県 (それぞれ 1 株)、AA103 型は名古屋市 (1 株) から検出されていた。

4) 豊橋市

3 株について型別を行った。これら 3 株は全て異なった IS 型に型別された。また、最も多く検出された AA078 型 (3 株) は、愛知県、三重県 (それぞれ 3 株)、名古屋市 (1 株) から検出されていた。

5) 名古屋市

10 株について型別を行った。これらは全て由来不明であった。これら 10 株は 9 つの IS 型に分類された。複数の株が含まれた IS 型は 1 つで AA047 が 2 株であった。この IS 型は愛知県、石川県 (それぞれ 1 株)、岐阜県 (4 株)、福井県 (7 株) から検出されていた。

6) 岐阜県

23 株について型別を行った。その内訳は患者由来 14 株、保菌者由来 9 株であった。これら 23 株は 12 の IS 型に分類された。複数の株が含まれた IS 型は 6 つで AA016 と AA047 がそれぞれ 4 株、AA063 が 3 株、AA046、AA332、AA611 がそれぞれ 2 株であった。AA016 型は岐阜市 (1 株)、AA047 型は愛知県、石川県 (それぞれ 1 株)、名古屋市 (2 株)、福井県 (7 株)、AA063 型は富山県、福井県、豊田市 (それぞれ 1 株)、AA332 型は名古屋市 (1 株) から検出された。

7) 岐阜市

2 株について型別を行った。これら 2 株は何れも患者由来株であったが、その IS 型は異なっていた。AA016 型は岐阜県 (4 株)、AA064 型は愛知県、三重県 (それぞれ 1 株) から検出されていた。

8) 三重県

14 株について型別を行った。その内訳は患者由来 9 株、保菌者由来 5 株であった。複数の株が含まれた IS 型は 5 つで AA076 が 4 株、AA078 が 3 株、AA060、AA091、AA612 がそれぞれ 2 株であった。AA078 型は愛知県 (3 株)、豊橋市、名古屋市 (それぞれ 1 株)、AA060 型は富山県 (1 株)、AA064 型は愛知県、岐阜市 (それぞれ 1 株)、AA091 型は愛知県、岡崎市 (それぞれ 2 株) から検出された。

9) 石川県

13 株について型別を行った。その内訳は患者株が 12 株、保菌者株が 1 株であった。複数の株が含まれた IS 型は 3 つで AA020、AA040、AA599 がそれぞれ 2 株であった。AA040 型は岡崎市、福井県 (それぞれ 1 株)、AA047 型は愛知県 (1 株)、名古屋市 (2 株)、岐阜県 (4 株)、福井県 (7 株) から検出された。

10) 富山県

8 株について型別を行った。その内訳は患者株が 7 株、保菌者株が 1 株であった。これら 8 株は全て異なった IS 型に型別された。AA060 型は三重県 (1 株)、AA063 型は岐阜県 (3 株)、福井県、豊田市 (それぞれ 1 株) から検出された。

11) 福井県

12 株について型別を行った。その内訳は患者株が 11 株、保菌者株が 1 株であった。これら 12 株は 5 つの IS 型に分類された。複数の株が含まれた IS 型は 2 つで AA047 が 7 株、AA071 が 2 株含まれた。AA047 型は愛知県、石川県 (それぞれ 1 株)、名古屋市 (2 株)、岐阜県 (4 株)、AA063 型は岐阜県 (3 株)、富山県、豊田市 (それぞれ 1 株) から検出された。

1-2. 複数の市県から検出された IS 型

最も多くの市県から検出された IS 型は AA047 型 (5 市県由来 15 株) であった。その内訳は福井県 7 株、岐阜県 4 株、名古屋市 2 株、愛知県、石川県それぞれ 1 株であった。以下、多くの市県から検出された IS 型は AA078 型 (4 市県由来 8 株で、その内訳は愛知県、三重県それぞれ 3 株、豊橋市、名古屋市それぞれ 1 株。)、AA063 型 (4 市県由来 6 株で、その内訳は岐阜県 3 株、富山県、福井県、豊田市それぞれ 1 株。) であった。

2. PFGE 解析結果の行政への還元に関する調査 平成 24 年度

今年度は 4 施設から報告があった。

1)

<概要>

平成 24 年 7 月に K 保健所管内で患者 2 名から腸管出血性大腸菌 0157 (VT1, 2) が検出された。また、同時期に I 保健所管内でも腸管出血性大腸菌 0157 (VT1, 2) 感染症の患者が 2 名発生し、疫学調査より関連が疑われた。また、K 保健所管内で直近に分離された腸管出血性大腸菌 0157 (VT1, 2) 菌株を関連性の有無をみるために加え、計 5 株の PFGE の依頼があった。

PFGE による解析結果より K 保健所で分離された菌株 No. 2、3 及び I 保健所で分離された菌株 No. 4、5 の DNA 切断パターンは全て同一であったことから、これらは同一感染源による集団事例と判断されたが、感染源の特定には至らなかった。また、直近に発生した菌株 No. 1 については上記 4 株の DNA 切断パターンと異なっていたため関連性はないと判断された。

<PFGE による解析結果>

K 保健所で分離された菌株 No. 2、3 及び I 保健所で分離された菌株 No. 4、5 の DNA 切断パターンは全て同一であった。

2)

富山県では腸管出血性大腸菌感染症全事例について PFGE 解析を行っている。このうち、本年は腸管出血性大腸菌 0121 による集団感染事例について PFGE による解析を行ったので報告する。

平成 24 年 8 月に、0121 (VT2、以下 0121) 感染者 3 名および 098 (VT1) 感染者 1 名の集団感染事例が発生した。0121 感染者 3 名のうち 1 名は乳糖代謝陰性の 0121 のみが検出された。しかし、他の 2 名の 0121 感染者からは乳糖代謝陽性・乳糖代謝陰性の双方の 0121 が検出された。これらの乳糖代謝陽性および乳糖代謝陰性の 0121 の PFGE パターンは同一であった。

また、6 月と 7 月に 0121 による感染事例が 2 件発生した。しかし、上記の集団感染事例分離株の PFGE パターンはこれらの 2 件の分離株とは異なっていた。このことからこれらの事例は由来の異なる 0121 による感染事例であると推定された。

3)

事例 1:平成 23 年 12 月 28 日に福井県で EHEC 感染症 (0157:H7 Stx1+2) が発生し、患者の接触者 3 名のうち 1 名からも菌が分離された。患者らは福井県内のスキー場 a でのケバブ喫食を含め、複数の施設で食肉を喫食していた。

事例 2:平成 24 年 1 月 6 日に富山県で EHEC 感染症 (0157:H7 Stx1+2) が発生し、患者が福井県内のスキー場 a でケバブ喫食があったため、福井県に情報提供がなされた。

事例 3:事例 1 および 2 を踏まえて、福井県が近隣の EHEC 感染症発生状況を調査したところ、平成 24 年 1 月 7 日に大阪府で発生した EHEC 感染症 (0157:H7 Stx1+2) の患者およびその接触者 (菌分離) が、スキー場 a でケバブを喫食していた。

事例 1、2 および 3 について、分離菌の血清型および毒素型が同一であったことおよび 3 事例の共通食がスキー場 a のケバブのみであったことから、ケバブを調理した施設を原因とする散発的集団食中毒と断定された。

事例 4:平成 24 年 1 月 17 日に福井県で EHEC 感染症 (0157:H7 Stx1+2) が発生し、接触者 4 名のうち 2 名からも菌が分離された。患者の家族 (菌陰性) が平成 23 年 12 月 26 日にスキー場 a でケバブを喫食し、平成 24 年 1 月 1~2 日にかけて下痢等を発症していたことが判明した。

4)

平成 24 年に 1 施設で分離した 0157 および病院より分与された 6 株の 0157 の PFGE を実施した。その結果、集団事例 2 事例 (4 株) では同一事例内で 0157 の PFGE は一致していた。また、散発事例 1 株の PFGE パターンは 1 集団事例由来株と一致していた。2 つの集団事例株でそれぞれ 1 株は病院より分与された。

平成 25 年度

1) 岐阜市 (図 1)

平成 25 年に岐阜市の飲食店を原因施設とする食中毒の原因菌であった A 群溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) の PFGE を実施した。

平成 25 年 8 月 13 日に依頼のあった腸管出血性大腸菌 0157 2 検体の相同性についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) により検査

した。なお、上記の2検体と同様にVT1・VT2陽性となった検体について同時にPFGEを実施した。

2) 三重県 (図2)

2013年7月に三重県の北勢地域で検出された腸管出血性大腸菌0121 4株および2010年6月に分離された0121 2株の計6株についてPFGE解析を実施した。その結果、集団事例由来4株では2株で同一パターンを示し、家族内感染事例では、2株が同一パターンであった。

3) 石川県 (図3)

平成25年9月に有症者Aから腸管出血性大腸菌0157(VT2)が検出された(菌株No.1)。また、10月に定期検便で無症状病原体保有者Bから腸管出血性大腸菌0157(VT2)が検出された(菌株No.2)。疫学調査の結果、有症者Aと無症状病原体保有者Bは、焼肉店①で同じ日に喫食していることが判明し、同一感染源による感染が疑われた。しかし、無症状病原体保有者Bは、上記焼肉店①とは別の焼肉店②に勤務していることから、別の感染源の可能性もあったため、関連性の有無を調べるために、PFGEを実施した。PFGEによる解析結果より菌株No.1、2のDNA切断パターンは全て同一であったことから、同一感染源による感染と判断されたが、感染源の特定には至らなかった。

4) 富山県 (図4)

平成25年7月から8月にかけて、0157(VT1VT2、以下0157)感染事例が7件発生した。これらの事例についてIS-Printingによる遺伝子型別を行ったところ、6件についてIS-Printingの型別が一致した。これらの事例についてPFGEを行った結果、IS-Printingの型別が一致した6件の0157のPFGEパターンが一致した。IS-Printingの型別が異なっていた1件の0157はPFGEパターンが一致しなかった。IS-PrintingおよびPFGEパターンが一致した6件の感染事例はすべて散発であり、関連性は不明であった。

5) 岐阜県 (図5)

幼稚園における腸管出血性大腸菌026集団感染事例

事例の概要

- ・原因施設：高山市内の幼稚園
- ・感染者数：6名 (園児及びその家族)
- ・発生日：平成25年7月20日

・原因菌：腸管出血性大腸菌026:H11 VT1
PFGE解析結果

感染者6名から検出された腸管出血性大腸菌026 (6株)、及び直近に県内で発生があった026散発事例の6株について、制限酵素Xba IによるPFGEを実施した。その結果、集団感染事例(6株)の泳動パターンは、すべて一致した。また、散発事例の内1株がこれと同一パターンを示したが、関連性については不明であった。

平成26年度

3. PFGE、MLVA 解析結果の疫学解析に活用された事例に関する調査

今年度はPFGEに関して2施設から報告があった。

1) 富山県

平成26年6月と8月に0157 (VT1、以下0157)の感染事例が2件発生した。VT1単独保有型0157は、全国の2013年の0157感染事例1077件の4.5%しか報告されておらず*1、稀な毒素型であった。そこで本県で発生したこれらの0157(VT1)2件について、IS-Printingによる遺伝子型別を行った。その結果、IS-Printingの型別は1バンド違いであった。さらに分離株のPFGEを行った結果、PFGEパターンは3バンド(バンド位置、輝度の相違を含む)違いであり、菌株間の類似性が極めて高い*2と考えられた(図)。また、国立感染症研究所によるMLVA型別においても、これらの菌株のMLVA型は一致していた。しかし、これらの2件の感染事例は散発事例であり、その関連性や感染経路は不明であった。

*1病原微生物検出情報(2014), 35, 119

*2J. C. M. (1995), 33, 2233-2239.

2) 岐阜市

散発事例2株についてPFGEを実施した。両者のバンドパターンは7本以上異なっており由来は異なると推察された。

3) 岐阜県

岐阜県では腸管出血性大腸菌0157全株についてMLVA解析を実施している。そのうち、飲食店が関連した集団感染事例について報告する。

事例の概要

- ・原因施設：各務原市内の飲食店