

表 1 腸管出血性大腸菌分子疫学解析実施状況

施設名	PFGE	IS-printing	MLVA	備考
1	集団のみ	集団のみ	実施せず	
2	集団のみ	一部実施	全株実施	IS-printing は研究班依頼分のみ
3	集団のみ	全株実施	実施せず	
愛知県衛生研究所	集団のみ	全株実施	実施せず	IS-printing は研究として実施
4	集団のみ	集団のみ	実施せず	今年度は解析実績無し
5	集団のみ	全株実施	全株実施	
6	集団のみ	集団のみ	実施せず	今年度は解析実績無し
7	実施せず	実施せず	実施せず	
8	集団のみ	一部実施	実施せず	IS-printing は研究班依頼分のみ
9	集団のみ	集団のみ	実施せず	今年度は解析実績無し
10	集団のみ	集団のみ	実施せず	今年度は解析実績無し

表 2 IS-printing 精度管理結果

施設名	検体 1		検体 2		検体 3		判定エラーの推定原因
	Set1	Set2	Set1	Set2	Set1	Set2	
A	○	○	○	○	○	○	
B	○	○	○	○	○	○	
C	#1	○	1-02 (-)	○	○	○	電気泳動時のアプライ量過多疑い
D	#1	○	○	○	○	○	電気泳動距離不足
E	hly(-)	○	hly(-)	○	hly(-)	○	
F	#1	○	○	○	○	○	電気泳動距離不足
G	hly(-)	○	hly(-)	○	hly(-)	○	
H	hly(-)	○	hly(-)	○	hly(-)	○	
I	○	○	○	○	○	○	
J	hly(-)	○	hly(-)	○	hly(-)	○	

○ 想定どおりの結果を報告

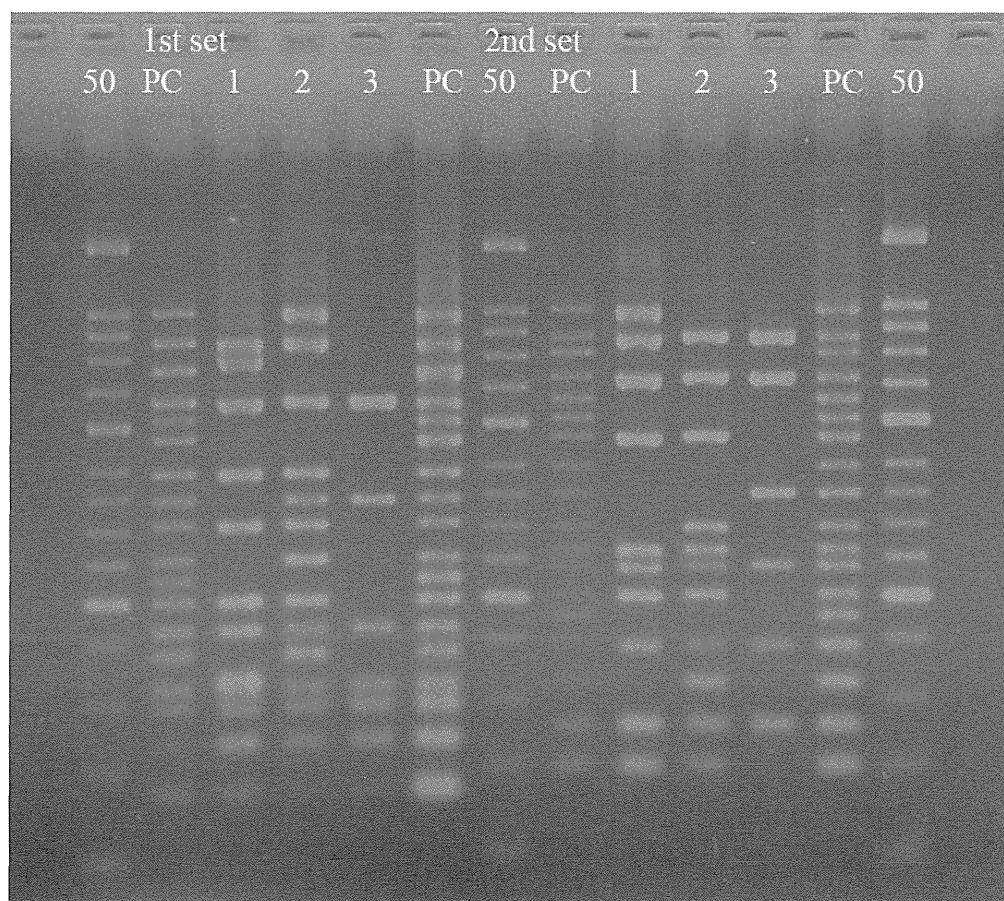
#1-02 と 1-03 の間の非特異バンドを 1-03(+) と報告

表 3 各施設における PCR 実施環境

施設	サーマルサイクラー	電気泳動装置	備考
愛知	9700/TP650/GA	Mupid exu 100V 70 min	テンプレート作成は 5% Chelex 100
A	TP600/TP650	Mupid 100V 135 min	
B	9700	Mupid-3 100V 120 min	
C	Takara MP	BioRad subcell GT 100V 60 min	
D	2720	Mupid-21 100V 45 min	NuSieve 3:1 Agarose 使用
E	C1000 touch	i-Mupid J 100V 60 min	3% Agarose HC (関東化学)使用
F	9700	BioRad sbcell GT 100V 65 min	
G	TP600/TP650 ?	CosmoBio MyRun 100V 110 min	Seakem GTG を Seakem Gold に変更
H	Veriti	電気泳動装置記載なし 100V 60 min	
I	Veriti	Mupid 100V 70 min	
J	Veriti	Mupid exu 100V 70 min	

9700 : GeneAmp PCR System 9700、TP600/TP650 :Takara TP600/TP650、GA : ASTEC Gene Atlas 322、
 2720 : Applied Biosystems 2720、MP : TaKaRa PCR Thermal Cycler MP、C1000 touch : BioRad C1000
 touch、Veriti : Applied Biosystems Veriti

図1 IS-printing 精度管理用に送付した 3 株の IS-printing パターン



50 : 50 bp ラダーマーカー、PC : ポジティブコントロール、1-3 : 検体

図 2 クラウドデータベース kintone へのデータ入力方法

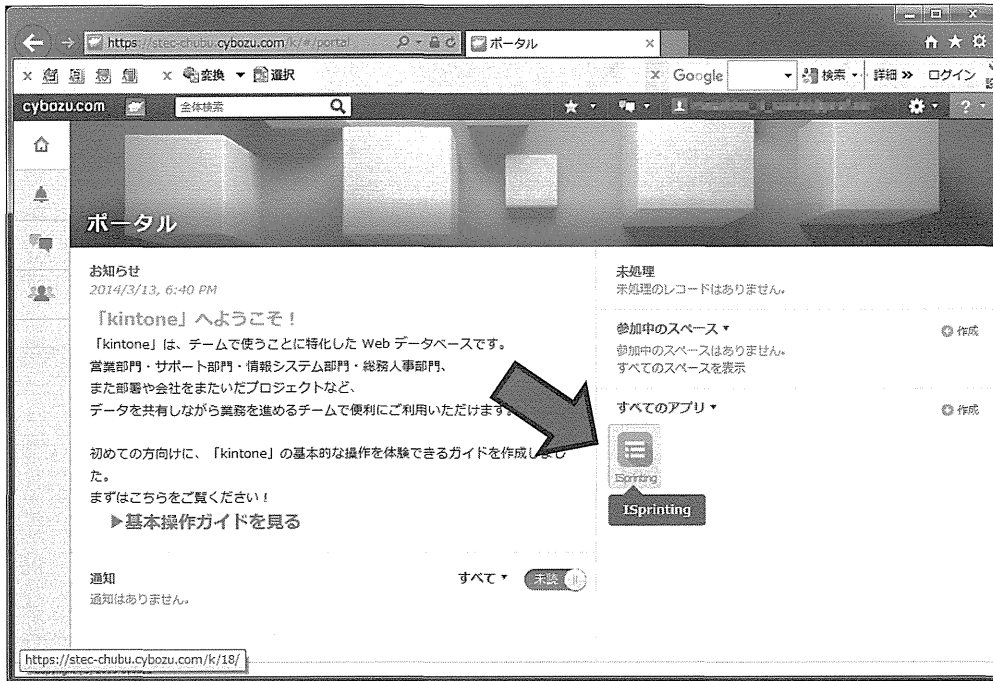
A. Login 画面



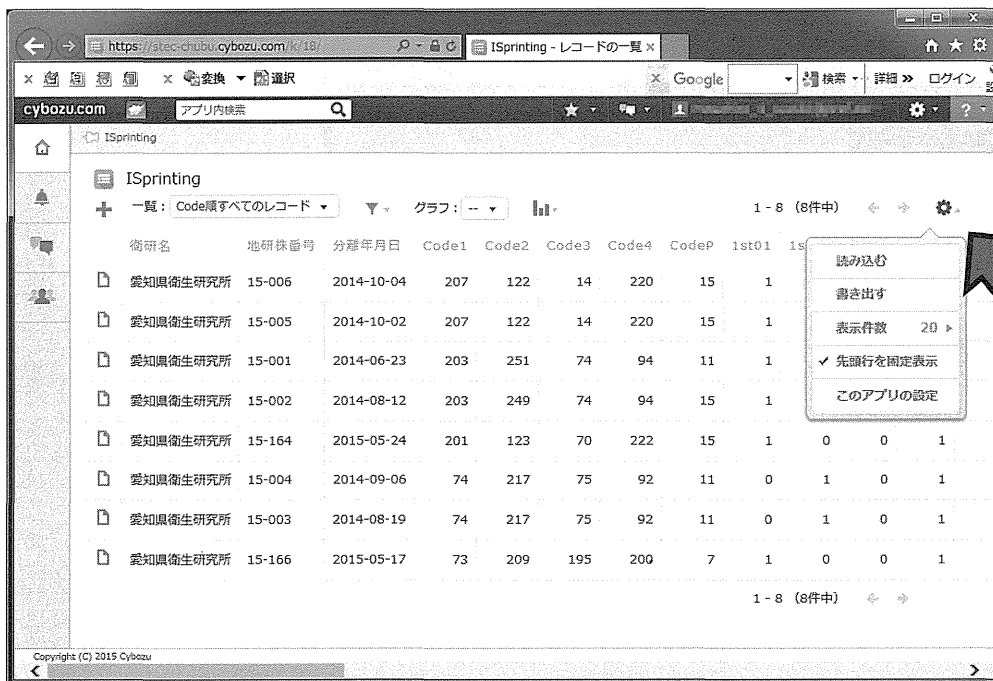
B. Kintone をクリック



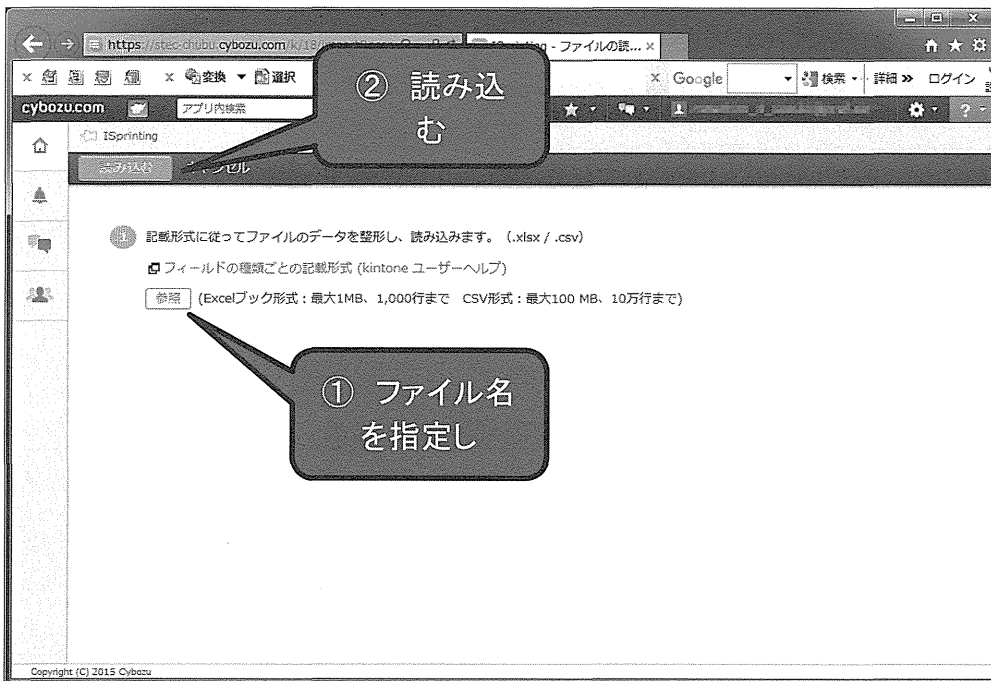
C. IS-printing をクリック



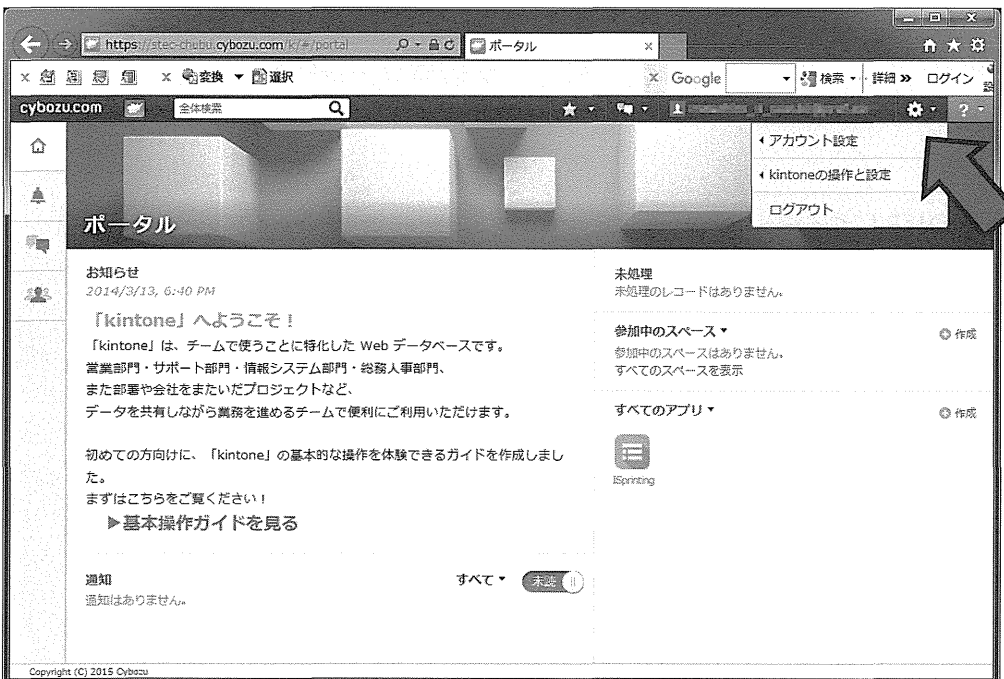
D. データのインポート



E. データのインポート実行



F. ログアウト



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

平成 27 年度分担研究報告書

近畿ブロックにおける食品由来感染症の病原体情報の解析および
共有化システムの構築に関する研究

研究分担者	勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	梅原 成子、河野 智美	滋賀県衛生科学センター
	平田 佐知、木上 照子、北野 隆一	京都府保健環境研究所
	清水 麻衣	京都市衛生環境研究所
	齋藤 悦子、荻田 堅一	兵庫県立健康生活科学研究所
	濱 夏樹、野本 竜平	神戸市環境保健研究所
	高澤 木綿子	姫路市環境衛生研究所
	村山 隆太郎	尼崎市衛生研究所
	中村 寛海	大阪市立環境科学研究所
	福田 弘美、下迫 純子	堺市衛生研究所
	田邊 純子、阿部 剛士	奈良県保健研究センター
	西山 貴士、金澤 祐子	和歌山市衛生研究所
	中岡 加陽子	和歌山県環境衛生研究センター
	田口 真澄、河原 隆二、原田 哲也	大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨

腸管出血性大腸菌 O157 について、IS-printing System (IS) 法およびパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法の精度管理を実施して遺伝子型別法の信頼性を確保するとともに、近畿 IS データベースを活用して、流行株の探知や複数の自治体にまたがった事例の解析を行った。IS 法の精度管理では、特定のバンドで増幅が弱い傾向がみられ、施設によっては陰性と判定された。実施にあたっては、試薬キットに添付の Template Mix で明瞭に 18 本のバンドが増幅されることを確認する必要がある。近畿 IS データベースには、12 施設から 323 株が登録され、IS 法で 91 タイプに型別された。最も多く登録されたタイプは、8 施設から 41 株登録された感染研 IS パターン番号 AA063 で、24～26 週分離株の一部は PFGE 型も一致しており、関連性が強く疑われた。PFGE 法の精度管理では、小さいサイズのバンドが不明瞭な画像もあり、菌株ごとの近似度は 85.5～95.0%と低いものもあったが、概ね良好な結果であった。精度管理株以外に実施機会のなかった施設もあり、経験豊富な施設のノウハウを情報共有することが課題である。

A. 研究目的

食品由来感染症において、分離された病原体の分子疫学解析、すなわち遺伝子型別を実施して事例間の関連性を明らかにすることは、感染源の究明や感染拡大防止など行政対応に必須のものとなっている。近畿ブロックの地方衛生研究所（地衛研）では、毎年夏季に多発する腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症 O157 について、IS-printing System (IS) 法およびパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）法を共通の遺伝子解析法に用いており、IS 法の結果はデータベース化して情報を共有している。本研究では、精度管理を実施して遺伝子型別法の信頼性を確保するとともに、近畿 IS データベースを活用して、流行株の探知や複数の自治体にまたがった事例の解析を行った。

B. 研究方法

1. 供試菌株

IS 法および PFGE 法の精度管理には 2015 年に分離された EHEC O157 を 5 株（菌株 1～5）用い、規定に沿った菌株搬送容器を使って 13 か所の地衛研に配付した（表 1）。

2. IS 法の精度管理

IS 法は、IS-printing System Version 2（東洋紡）を使用し、表 2 の条件で実施した。結果については、プライマーごとに増幅の有無を記入した判定表と電気泳動画像の提出を求めた。

3. 近畿 IS データベース

各地衛研で EHEC O157 を収集して IS 法

を実施し、その結果を施設内データベースに登録した。更新した施設内データベースは、レファレンス用データとして大阪府立公衆衛生研究所（公衛研）に送付し、公衛研では各施設から送付されたデータをもとにレファレンス・データベースを更新して、最新版を研究協力者に電子メールで送信した。

特定の IS 型を示す株が多数登録された場合などは、必要に応じて PFGE 画像や国立感染症研究所（感染研）の MLVA 型別結果について情報交換を行った。

4. PFGE 法の精度管理

平成 15 年度から使用している「PFGE New Protocol-Kinki」に従って実施した。電気泳動画像は、サイズマーカー（*Salmonella* Braenderup H9812 PulseNet Standard Strain の *Xba* I 切断）の Band 9 と Band 10 が明瞭に 2 本に分かれ、Band 16 が認識できることを条件とし、TIFF ファイルでの提出を依頼した。

画像解析は、BioNumerics ver. 6.1（Applied Maths）を使用し、ソフトウェアの自動バンド認識を目視で補正した後、類似係数 Dice、デンドログラムタイプ UPGMA、トレランス設定は最適化 0%、トレランス 1.5% でデンドログラムを作成した。

C. 研究結果

1. IS 法の精度管理

IS 法の精度管理には 11 施設が参加し、10 施設はすべて一致した判定結果が得られた（図 1）。菌株 4 はセット 1 で約 800bp および 220bp に非特異増幅（図 1 白矢印）がみ

られ、約 800bp のバンドは 1-03 と間違いやすいが、誤判定した施設はなかった。どの施設でも、セット 1 では 1-06 (菌株 1)、セット 2 では 2-09 (菌株 5 および Template Mix) の増幅が弱い傾向がみられた (図 1 黒矢印)。施設 13 では両バンドが陰性と判定されたため、テンプレートの調整からやり直して再実施した。その結果、菌株 1 の 1-06 は陽性となったが、菌株 5 および Template Mix の 2-09 は増幅バンドが観察されなかった。

2. 近畿 IS データベース 2015 年分離株の傾向

2015 年分離株は 12 施設から 323 株登録され、6 施設で昨年よりも登録数が増加していた (表 3)。IS 型は 91 タイプに分かれ、10 株以上登録されたタイプは 5 タイプあり、このうち 3 タイプ (感染研 IS パターン番号 AA078、AA023 および AA063) は、2014 年も登録数上位 5 タイプに入っていた (表 4、図 2)。感染研 IS パターン番号 AA465 と 1 本異なる近畿 IS コード「68207 68238」は、堺市内の保育施設で発生した集団事例で、これまでに同一タイプの株はなかった (詳細は下迫らの報告書)。最も多く登録された AA063 は、24~27 週には施設 11 と施設 4 で、33~37 週は施設 1 で多く分離されていた (図 3)。施設 11 と施設 4 では PFGE 画像を交換し、24~26 週に分離された 13 株のうち少なくとも 10 株は同一の PFGE 型であることが確認された。これらの症例の一部は、「焼肉店を利用した」との情報があつたが、感染源の解明には至らなかった。また、41 週に発生した 3 株のうち 2 株は「炙りレバ

一」関連事例であった (詳細は勢戸らの報告書)。

3. EHEC O157 の PFGE 精度管理

PFGE の精度管理には 11 施設が参加した。このうち 8 施設では、EHEC をはじめとする腸管感染症由来菌やレジオネラなどで日常的に PFGE を実施していた。送られてきた PFGE 画像は、サイズマーカーについての条件を満たしていたが、施設 4 の画像は菌株 2 で、施設 5 の画像は菌株 5 で、施設 8 と施設 9 の画像は菌株 5 の大きいサイズで、未消化が疑われるバンドがみられた (図 4 矢印)。

画像解析にあたっては、バックグラウンドの汚れやうすいバンド、小さいサイズのバンドについて自動バンド認識を目視で補正した。トレランス値 1.5% でデンドログラムを作成したところ、菌株ごとにクラスターを作り、その近似度は 85.5~95.0% であった (図 5)。施設 12 の画像はサイズマーカーの Band 16 付近のバンドが不鮮明で、どの菌株でも他施設に比べ近似度が低い結果となった (図 4、図 5)。

D. 考察

近畿ブロックでは、IS 法を EHEC O157 遺伝子型別のスクリーニング法として位置づけ、毎年精度管理を実施しているが、今年度は試薬キットに多少の問題があると考えられた。使用された試薬キットのロットは、3 施設が Lot. 3551A、8 施設が Lot. 5001A で、特に後者で Template Mix の 2-09 の増幅が弱い傾向がみられた。試薬キットには Template

Mix の電気泳動像が添付されており、問い合わせに対しても問題ないと回答されたが、他のバンドに比べて極端に増幅が弱く、全く増幅されない施設もあった。各施設で使用している遺伝子増幅装置の影響も否定できないが、陽性対照として使用することを考えると、使用機器に関係なく増幅される安定性が求められる。今年度は 2-09 が陽性となる菌株を精度管理に使用したため、このような不具合に気づいたが、判定に関係のないバンドでは見過ごされる可能性がある。バンドによっては陽性となる株が少ない場合もあり、今後は精度管理株の選択に一層注意する必要がある。また、IS 法の実施にあたっては、必ず Template Mix で 18 本のバンドが明瞭に増幅されることを確認し、不具合がみつかった場合は、手技や使用機器の点検に加えて、ブロック内への情報提供をお願いします。

2015 年は 4 年ぶりに近畿ブロック内での EHEC 感染症が増加し、近畿 IS データベースへの登録も昨年の約 1.3 倍となった。登録数の多い IS 型のうち、感染研 IS パターン番号 AA078、AA023 および AA063 は 2014 年も登録数が多かったが、AA063 については施設 11 で 6 月に多発し、その PFGE 型が一致したことから、ブロック内に情報提供を行った。その結果、施設 4 でも IS 型および PFGE 型の一致する株が分離されており、関連性が強く疑われた。その後、AA063 は 2015 年広域流行タイプ（感染研 MLVA complex 15c011）を含むことがわかったが、この MLVA complex は非常に大きく複雑な complex であり、近畿ブロックでは、24～26

週と 33～37 週の 2 回流行があったと推察された。

PFGE 法の精度管理については、デンドログラム上の近似度はやや低い数値であったが、肉眼的な比較には概ね問題ないと考えられた。PFGE 法の実施状況については、3 施設が「精度管理株のみの実施」と回答しており、手技を継承し、電気泳動装置などの状態を確認するためにも、精度管理の継続が必要であると考えられた。近畿ブロックでは日常的に EHEC の MLVA 法を実施している施設はなかったが、PFGE 法は EHEC 以外の菌種でも汎用されていた。それらの経験を共有できるように、菌株の前培養から写真撮影までの全ての手技について、気をつけている点や工夫している点を各施設から集めてまとめていきたい。

E. 結論

IS-printing System (IS) 法の精度管理を実施し、試薬キットに添付の Template Mix についてはロットによって極端に増幅の弱いバンドがあり、注意が必要であることがわかった。

近畿 IS データベースへの登録数は 4 年ぶり増加した。最も多く登録された IS 型は感染研 IS パターン番号 AA063 で、24～26 週 of 分離株の一部は PFGE 型が一致しており、関連性が強く疑われた。

PFGE 法の精度管理については、概ね良好な結果であったが、実施機会の少ない施設もあり、経験豊富な施設のノウハウを情報共有することが課題である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 誌上発表

- 1) Kayali AY, Escalante-Maldonado O, Vuddhakul V, Seto K, Nakaguchi Y, Nishibuchi M: Development of a method for detection of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* belonging to clinically important twelve O serotypes based on the combination of PickPen-assisted immunomagnetic separation and loop-mediated isothermal amplification. Int. J. Immunol. Immunother. 2015, 2:1.
- 2) Harada T, Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Taguchi M, Kumeda Y: Multiplex real-time PCR assays for screening of Shiga toxin 1 and 2 genes, including all known subtypes, and *Escherichia coli* O26-, O111-, and O157-specific genes in beef and sprout enrichment cultures. J. Food Prot. 2015, 78:

1800-1811.

- 3) Kawahara R, Seto K, Taguchi M, Nakajima C, Kumeda Y, Suzuki Y: Characterization of third-generation-cephalosporin-resistant Shiga toxin-producing strains of *Escherichia coli* O157:H7 in Japan. J. Clin. Microbiol. 2015, 53:3035-3038.
- 4) 四宮博人, 勢戸和子, 川瀬遵, 有川健太郎, 船渡川圭次, 鈴木匡弘, 久保田寛顕, 調恒明: 地方衛生研究所における細菌学的検査・研究の最新事情. 日本細菌学雑誌 2015, 70:309-318

2. 学会発表

- 1) 勢戸和子, 河原隆二, 原田哲也, 田口真澄: EHEC O157 流行株探知のための近畿 IS データベース活用状況 第 19 回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (2015 年 7 月, 東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 IS-printing System および PFGE の精度管理に使用した菌株

菌株 番号	菌種(毒素型)	分離年	近畿ISデータベース		感染研遺伝子型別	
			ISコード		ISパターン番号 ^a	MLVA type
1	EHEC O157:H7 (VT2)	2015	137743	199758	AA077	15m0011
2	EHEC O157:H7 (VT1, VT2)	2015	216959	117103	AA195	15m0046
3	EHEC O157:H7 (VT1, VT2)	2015	249709	116975	AA070	15m0065
4	EHEC O157:HNM (VT1)	2015	84589	215273	AA284	15m0062
5	EHEC O157:H7 (VT2)	2015	17453	82506	AA281	15m0095

a 感染研データベース(試用版)のISパターン番号

表 2 IS-printing System 精度管理の実施条件

施設	ISキット Lot.	遺伝子増幅装置	電気泳動装置	泳動時間
1	5001A	Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700	サブマリン電気泳動装置 (ゲルサイズ 12x12cm)	100V 180分
2	3551A	Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700	BIO-RAD Sub-cell GT	50V 6時間
3	5001A	TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice TP-600	Mupid-2plus	50V 165分
4	5001A	Applied Biosystems Verti Thermal Cycler	Mupid	100V 60分 + 50V 15分
5	5001A	Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700	QIAxcel (DNA High Resolution Cartridge)	5kV 35分
6	3551A	Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700	Mupid-2plus	50V 15分 + 100V 60分 + 50V 35分
8	5001A	TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice mini	Mupid J	135V 30分 + 50V 30分
9	3551A	BIOER Life Touch	GelMate2000	100V 120分
10	5001A	Applied Biosystems Verti Thermal Cycler	Mupid	100V 55分 + 50V 20分
11	5001A	TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice TP-600	MultiNA (DNA-1000)	
13	5001A	Applied Biosystems Verti Thermal Cycler	Mupid-2plus	50V 60分 + 100V 45分

表3 近畿ISデータベース登録数(2011～2015年)

施設	2011	2012	2013	2014	2015	2015実施状況
1	51	16	28	24	33	全株
2	11	10	6	11	5	全株
3	24	26	33	23	21	ほぼ全株 ^a
4	26	36	56	22	43	全株
5	31	13	23	6	14	全株
6	5	3	8	25	3	全株
7	28	30	47	32	33	(全株) ^b
8	29	9	12	10	48	全株
9	20	13	26	19	26	全株
10	5	3	7	4	3	全株
11	84	54	42	69	92	全株
13		7	7	5	2	ほぼ全株 ^c
計	314	220	295	250	323	

a 同一人の服薬後検便で分離された株を除く

b テンプレートを提供し施設11で実施

c 一部の株は収集できていない

表4 2015年分離株の主なIS型

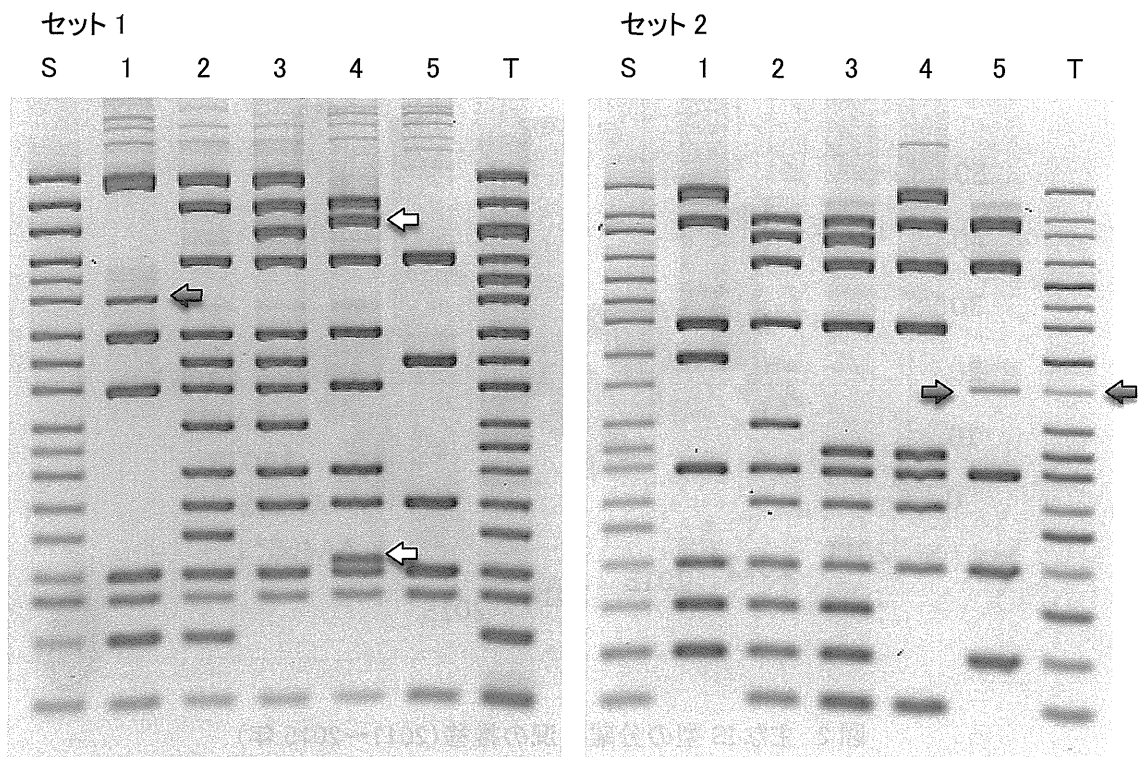
ISパターン番号 ^a	近畿ISコード ^b		登録数	登録施設数	分離時期	備考
AA465*1 ^c	68207	68238	35	1	1～3月	保育施設集団事例
AA195	216959	117103	13	6	4～6月	2つの家族事例を含む
AA078	84591	215275	18	5	5～7, 9～11月	2つの家族事例を含む
AA023	216959	84463	16	4	6, 8～9, 12月	3つの家族またはグループ事例を含む
AA063	249711	116975	41	8	6～10月	5つの家族事例を含む

a 感染研データベース(試用版)のISパターン番号

b 近畿ISデータベースのISコード

c AA465と2-03が異なる

1) 電気泳動画像



S: Standard DNA, 1~5: 精度管理株, T: Template Mix, ◀: 非特異バンド, ◀: 増幅が弱いバンド

2) 判定

セット1

プライマー	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	hlyA	非特異
サイズ(bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	325	300	269	241	211	185	171	137	バンド(bp)
菌株1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	
菌株2	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	
菌株3	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	
菌株4	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	800, 220
菌株5	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	

セット2

プライマー	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	stx2	stx1
サイズ(bp)	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151
菌株1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0
菌株2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1
菌株3	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1
菌株4	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1
菌株5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0

1: 増幅あり, 0: 増幅なし

図1 EHEC O157 精度管理株の IS-printing System 実施例(施設1)

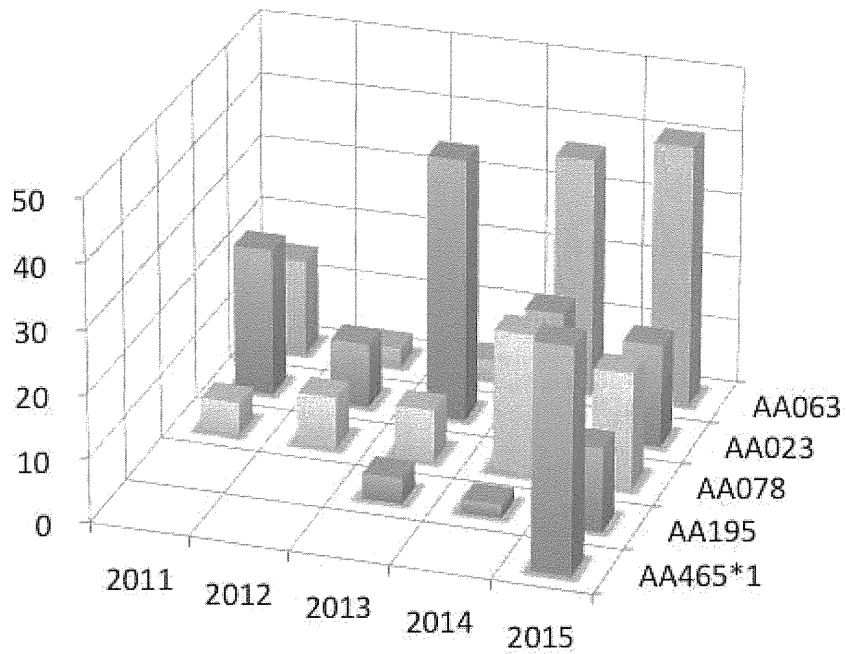


図2 主なIS型の分離状況の推移(2011~2015年)

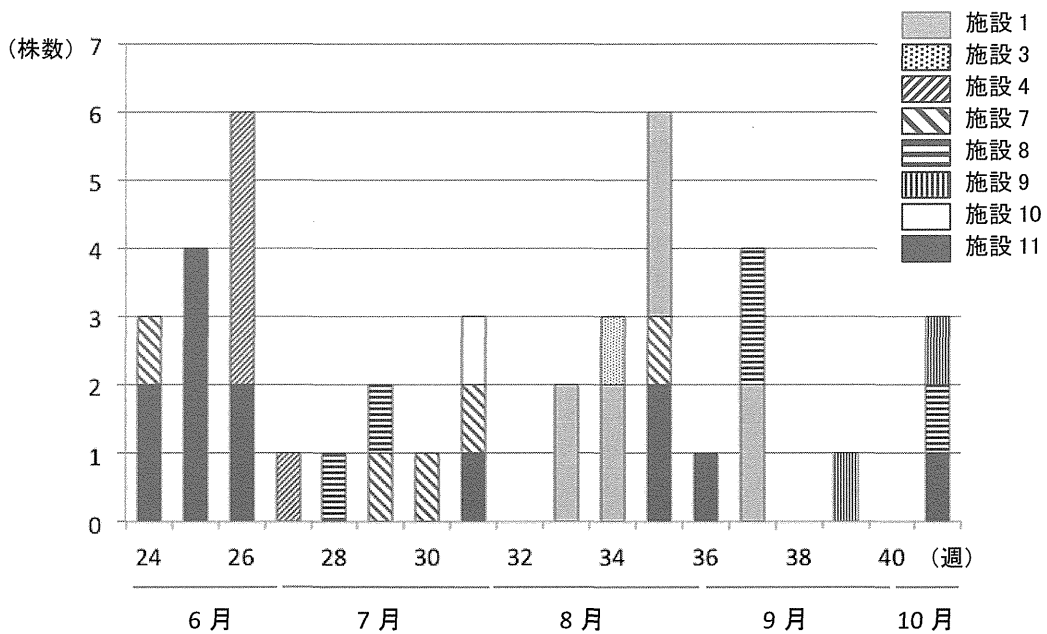


図3 ISパターンAA063株の発生週と登録施設

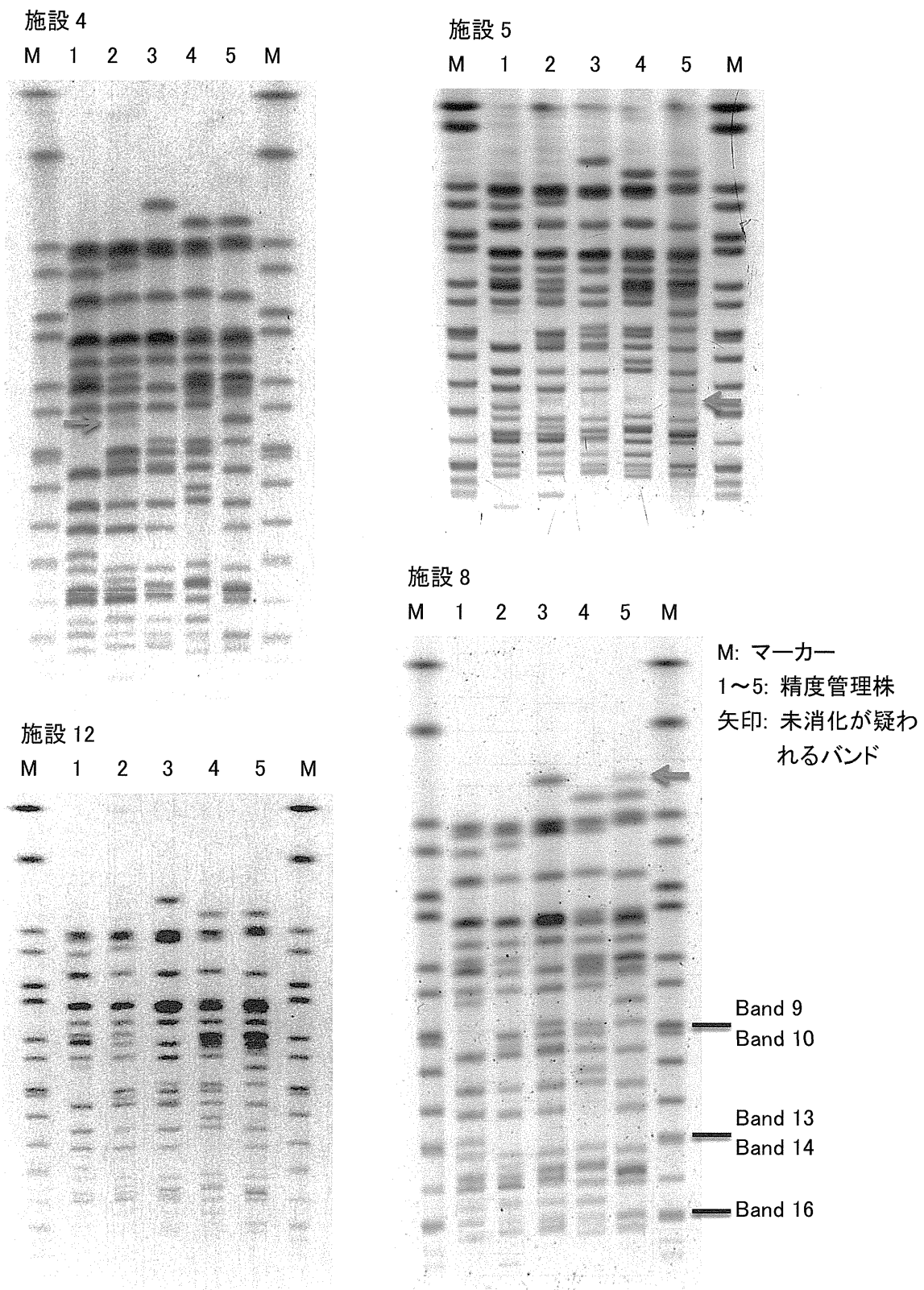


図 4 EHEC O157 精度管理株の PFGE 画像例

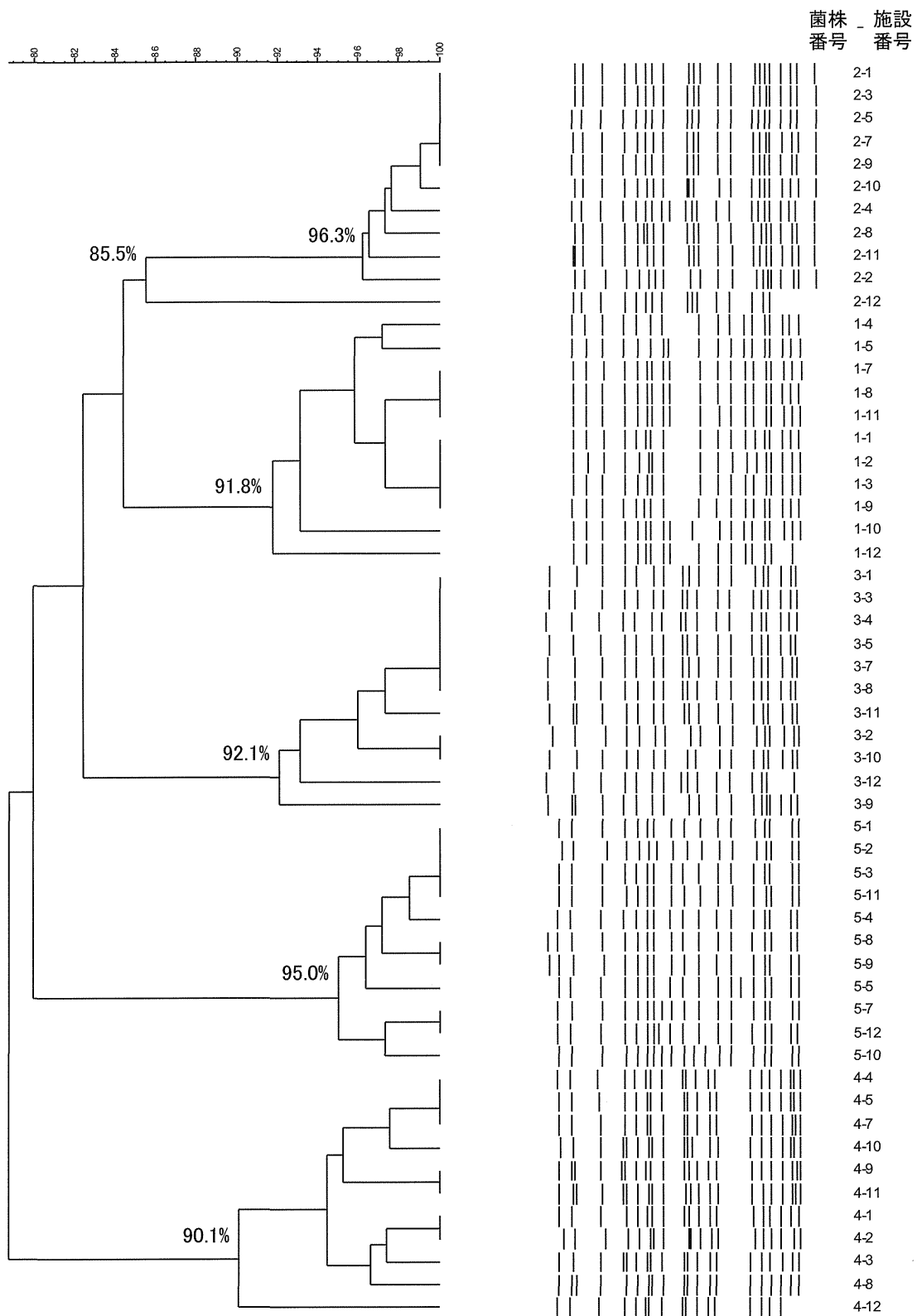


図5 EHEC O157 精度管理株のデンドログラム

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

平成 27 年度分担研究報告書

飲食チェーン店で発生した腸管出血性大腸菌 O157 食中毒疑い事例

研究分担者	勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	田邊 純子	奈良県保健研究センター
	福田 弘美	堺市衛生研究所
	中村 寛海	大阪市立環境科学研究所
	松原 弘明	仙台市衛生研究所
	原田 哲也、田口 真澄	大阪府立公衆衛生研究所
	河原 隆二、久米田 裕子	大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨

2015 年 9 月から 10 月に、飲食チェーン店である 4 店舗の利用者から複数の下痢症患者が発生し、7 名から腸管出血性大腸菌（EHEC）O157 が分離された。7 名はそれぞれ別のグループで、全員「炙りレバー」を喫食していた。3 グループが発症した A 店では食中毒と断定されたが、その他の店舗では食中毒と断定するに至らなかった。本事例の患者発生は 6 つの自治体にまたがっており、それぞれの地方衛生研究所で患者分離株を精査したところ、7 株の EHEC O157 は 3 タイプの遺伝子型に分かれた。レバーは本社併設のセントラルキッチンで加工して各店舗に卸されており、ロットによって異なる EHEC O157 に汚染していたものと考えられた。

A. 研究目的

2015 年 9 月から 10 月に飲食チェーン店を原因と疑う食中毒事例が発生した。当該チェーン店は近畿を中心に 15 店舗あり、4 店舗を利用した患者から腸管出血性大腸菌（EHEC）O157 が分離されたが、店舗ごとの感染者は少なく利用日が異なっていたことから、分離株を精査し、各症例の関連性を調査した。

B. 事例の概要

奈良県にある A 店を利用した 3 グループ

4 名が発症し、3 名から EHEC O157（VT1, VT2）が分離されたため、10 月 3 日に食中毒事例として奈良県から報道提供された。10 月 5 日には大阪府内の B 店を利用した患者から EHEC O157 が分離されたとの連絡があり、大阪府は施設調査を実施するとともに、患者発生があった大阪市、仙台市に同行者の調査を依頼した。また奈良県と本社を管轄する堺市に情報提供を行った。その後、大阪府内の C 店、D 店の利用者にも患者が発生し、10 月 9 日までに合計で 7 グループ 8 名が発症し、7 名から EHEC O157

が分離されたことが判明した（表 1）。患者はいずれも成人の男女で、少なくとも 4 名は入院していた。患者への聞き取り調査から、利用店舗や利用日は異なっていたが、どの患者も牛レバーを加工した「炙りレバー」を喫食していたことがわかった。

C. 研究方法

IS-printing System (IS) 法による遺伝子型別は近畿ブロックの 3 か所の地方衛生研究所（地衛研）で実施し、近畿 IS データベースに登録して IS コードを情報共有した。また、Multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) を実施するため、分離株を国立感染症研究所（感染研）に送付し、各地衛研に報告された解析結果を情報共有した。

D. 研究結果

近畿ブロック内で分離された 6 株について、IS 型別結果は 2 株ずつ 3 タイプに分かれ、このうちのひとつは運動性陰性株（O157:HNM）であった（表 2, 表 3）。感染研 MLVA の結果も IS 型と一致しており、3 タイプに分かれた。すなわち、IS コード「84591 215275」と「249711 116975」はそれぞれ MLVA type 14m0426、15m0101 であり、IS コード「118143 114891」の 2 株は、MLVA type は異なっていたものの同一の MLVA complex 「15c036」であった。仙台市分離株（感染研番号 152658）も 15c036 であった。

遺伝子型別結果を利用店舗ごとにみると、A 店患者と B 店患者からは 2 タイプ分離さ

れており、それぞれ遺伝子型は一致していた。また、C 店患者と D 店患者の分離株は同じ遺伝子型であったが、A 店および B 店患者分離株とは異なっていた。

E. 考察

当該チェーン店の炙りレバーは本社保設のセントラルキッチンで加工されて各店舗へ卸され、本社作成の「調理マニュアル」にしたがって各店舗で加熱調理し提供されていた。また、店舗への配送日は 2~3 日に 1 回で、A 店と B 店、C 店と D 店はそれぞれ同じ配送日であった。加工冷凍されたレバーはロット管理ができておらず、A 店および B 店に配送されたレバーが、2 タイプの O157 で汚染されていたのか、タイプの異なる O157 が付着したレバーが 2 ロットあったのかは不明である。C 店および D 店の患者は、A 店、B 店の患者よりも利用日が 6 日以上遅く、異なる O157 で汚染された別ロットが提供されたと考えられる。

EHEC 感染症は感染菌量が少ないことから、同一の感染源であっても散發的に探知されることが多く、感染源が明らかになることは少ない。近畿ブロックでは、広域散发事例を探知するため、EHEC O157 の IS 型別結果をデータベース化し、その情報を共有している。本事例は、同一 IS 型の登録が集中したわけではなかったが、日頃の情報共有ネットワークを活かして関連株の IS 型別結果を情報交換し、利用した店舗や利用日が異なる症例の関連性を明らかにできた。

A 店では 3 グループで患者が発生してお

り、「炙りレバーを原因とする食中毒」と断定された。その他の3店舗では患者の利用日がそれぞれ異なり、また他に同様の苦情がないことから、その店舗を原因とする食中毒とは断定されなかったが、大阪府では再発防止のため、府外店舗も含めた全15施設を集め、衛生管理に関する講習会を実施した。

当該飲食チェーン店では、A店における食中毒により10月3日から全店舗で炙りレバーの提供を自粛した。その後患者発生はなく、現在も提供を中止している。

E. 結論

同一飲食チェーン店の4店舗で、炙りレバーの関連が疑われる食中毒が発生し、7名からEHEC O157が分離された。

分離株の遺伝子型は3タイプに分かれ、

店舗や利用日によって異なるEHEC O157に汚染されたレバーが提供されたと推察された。

患者発生は6つの自治体にまたがっており、行政機関と地衛研および感染研を含めた連携や情報共有により事例の全容を明らかにできた。

F. 健康危機情報

特になし

G. 謝辞

本事例の調査にご尽力いただいた大阪府食の安全推進課、奈良県消費・生活安全課、堺市保健所食品衛生課、大阪市保健所感染症対策課、仙台市健康福祉局のみなさまに深謝致します。

表 1 患者の発生状況

店舗	利用日	喫食者	発症者	菌分離陽性者	症状	備考
A	9月19日, 21日	3グループ 13名	4名	3名	腹痛、下痢、血便	入院2名
B	9月19日	1グループ 3名	1名	1名	腹痛、下痢、血便	入院
	9月20日	1グループ 6名	1名	1名	有症	
C	9月29日	1グループ 8名	1名	1名	腹痛、下痢、血便	入院
D	9月25日	1グループ 2名	1名	1名	腹痛、下痢、血便	カンピロバクターも陽性

表 2 分離株の遺伝子解析結果

感染研番号	血清型	毒素型	検出日	近畿ISデータベース		感染研遺伝子型別		利用日
				ISコード		MLVA type	MLVA complex	
152422	O157:H7	1+2	2015/9/29	118143	114891	15m0173	15c036	9月19日 A店
152658	O157	1+2	2015/10/1			15m0173	15c036	9月20日 B店
152750	O157:H7	1+2	2015/10/2	118143	114891	15m0347	15c036	9月21日 A店
152749	O157:HNM	1+2	2015/9/28	84591	215275	14m0426	15c057	9月19日 A店
152740	O157:HNM	1+2	2015/10/6	84591	215275	14m0426	15c057	9月19日 B店
152675	O157:H7	1+2	2015/10/8	249711	116975	15m0101		9月29日 C店
152690	O157:H7	1+2	2015/10/9	249711	116975	15m0101		9月25日 D店

表 3 IS 型別の増幅パターン

近畿ISコード	1st set Primer Mix															2nd set Primer Mix																				
	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	hlyA	stx2	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	stx2	stx1
84591 215275	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	a	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
118143 114891	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	
249711 116975	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	

1: 増幅あり, 0: 増幅なし, a: 780bp, 220bp