Fig. 1．アジア各国の国立感染症研究機関との連携強化による
事前対応型の病原体監視体制構築に関する研究

Fig.2　アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究

目的：
・アジアのCDC（疾病制御センター）様機能を持つ研究機関と感染研との連携強化を図る。ネットワーク化
・アジアで流行している感染症の正確な情報を得るための検査法の基盤を構築する。検査法の標準化、精度管理を行う
・分子疫学的解析を可能にするため病原体のゲノム情報に基づいたデーターベース化を推進する
・我が国に侵入する病原体の起源の追求を可能にし、防疫に役立てる

モデルケース；細菌、ウィルス、原虫等の対象病原体を選出し対応：
細菌（アジアで流行しているコレラ、腸チフス等を対象）
ウィルス（アジアで問題となっているデング熱等を対象）
原虫・寄生虫（マラリア、クリプトスポリジウムを対象）

解析からの期待される結果:
I. アジアで流行している感染症が我が国に侵入する機会が増えている。それらの的確な情報を把握しておくことが対策上不可欠である。そのためにアジアで感染症対策に資する研究を行っている国立のＣＤＣ様の研究機関とのネットワークを構築することにより、情報の交換、人的交流を促進させることができる。そのことが我が国の感染症対策にも役立つ。
II. 病原体の伝播ルートの解析のためには病原体の遺伝的マーカーの情報が不可欠である。ゲノム情報を用いたアジア地域の病原体データーベースの構築は、病原体による感染場所の特定および伝播ルートの解析に貢献し、しいてはアジアにおける感染症のコントロールに役立つと期待される

方法：
1）Asia-Pacific（中国、韓国、ベトナム、タイ、インドネシア、フィリピン、マレーシア、インド、バングラデシュ，　オーストラリア、ニュージランド、米国等を中心に）のＣＤＣ様の国立の感染症研究機関との連携
2）下痢性腸内細菌の解析：コレラ菌、腸チフス菌等を対象に分子疫学的解析法としてPFGE（パルスフィールド電気泳動法）,MLVA（複数部位多型配列解析）等を用いたゲノムデーターベースの構築（PulseNet-Asia）；
手法の標準化、国際間の精度管理の実施
3）アジアで分離されるコレラ菌、腸チフス菌等の菌学的特徴（毒素型、薬剤耐性状況、病原性遺伝子群の分布）の解析とデーターベース化
4）アジアで流行しているデングウィルスのＥ遺伝子塩基配列に基づいた系統解析の標準化、
ウィルス分離法、塩基配列決定法の講習会
5）熱帯熱・三日熱マラリアの迅速診断法(LAMP法)の開発と普及。クロロキン耐性マラリアの分布と耐性遺伝子のデーターベース化。クリプトスポリディウムの遺伝子型別の開発

Fig.3. パルスネットアジアパシフィック会議

1) 2005年12月、感染研、2006年12月、南京市、中国で開催

2) 参加各国（国立感染症研究所、中国 CDC、韓国 NIH、香港 PHLC、フィリピン RITM、台湾 CDC、タイ NIH、マレーシア Malaya大学、ベトナム NIHE、インド NICED、バングラデシュ ICDDR,B、オーストラリア メルボルン大学、ニュージーランド IESR、米国CDC：１４研究機関）

3) PFGE解析法の標準化、精度管理に関する研究報告

4) PFGE解析の研修コースに関する討論

ワークショップ、香港(Public Health Laboratory Center, PHLC)、PFGE解析に関する研修

PFGE解析ソフト(BioNumerics, Applied Maths社）使用による解析及びデータベース構築に関する研修

5) パルスネットアジアパシフィックのWebBoard設置の報告

As at December 14, 2006

Agenda of the Fourth Meeting of PulseNet Asia Pacific

Place of meeting : Jiangsu CDC, Nanjing, Jiangsu Province, China
Date : December 19- 21, 2006

December 19, 2006

9:00 Welcome China CDC /SKLID*/ APHL / CDC
9:10 Welcome address Health Bureau, Jiangsu Province, China / APHL
9:20 Purposes and Expectations of the 4th Meeting Swaminathan/Gerner-Smidt, CDC/Xu, CCDC
9:30 Summary of Tokyo Meeting and Progress since last Meeting HK PHLC / APHL/ CDC
9:45 Group photo session
10:00 Break

*:State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control,

Country/Area presentation, PFGE analysis and network
Chair : Jianguo Xu, co-chair : Kwai Lin Thong

10:30 Australia Diane Lightfoot, University of Melbourne, Australia
10:50 New and evolving variants of the El Tor biotype of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh
G.B. Nair, International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh
11:10 Progress of Platform for Interlaboratory Comparison (PIC) Work Group in PulseNet Asia Pacific Danny Cheung, Cindy Luey and Kai Man Kam
Public Health Laboratory Centre, Centre for Health Protection, Hong Kong
11:30 PFGE analysis of vibrios, Salmonella and Shigella strains
T. Ramamurthy, National Institute of Cholera and Enteric Diseases, India
11:50 Analysis of Shiga toxin-producing *E. coli* O157:H7/- Isolates in Japan in 2005 by the use of PFGE and MLVA Jun Terajima[1], Yingxin Pei[1,2], Hidemasa Izumiya[1], Sunao Iyoda[1], Jiro Mitobe[1], Tomoko Ishihara[1], Haruo Watanabe[1]
[1] Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan
[2] Heilongjiang Center for Disease Control, Harbin, China
12:10~13:30 Lunch (in Jiangsu CDC)

Chair : Diane Lightfoot, co-chair : Rashmi Arora

13:30 **Molecular epidemiology of Shigellosis outbreak by extended spectrum beta lactamase producing *Shigella sonnei* in Korea.** Sunghan Kim, and Bok-Kwon Lee, Division of Enteric Bacterial Infections, National Institute of Health, KCDC, Korea.
13:50 Training and Further Development of PFGE technique in Malaysia
Thong KL, Norazah A., Rohani Yasin
14:10 **Comparison of O157 PFGE patterns between USA and New Zealand - our experiences following a query from USDA as to whether a particular a PFGE pattern involved in food outbreak in the USA, was present in the NZ O157 database.**
Brent Gilpin, Angela Cornelius, Chris Pope, Carolyn Nicol and Phil Carter. Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand
14:30 **Optimization of electrophoretic parameters in molecular subtyping of Pulse-Field Gel Electrophoresis** Biao Kan and Jianguo Xu, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, China CDC
14:50~15:10 Break

Chair : Kai-Man Kam, co-chair : Jun Terajima

Special Guest Lecture

15:10 Update on Work of PulseNet Canada 2006 Lai King NG, Health Canada

15:40 PFGE network updates from the Philippines

Celia C. Carlos, Research Institute for Tropical Medicine, Philippines

16:00 Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrheal patients in Thailand.

Orn-Anong Ratchtrachenchai*, Chollada Khlaiyaithong*, Suwaraporn Khompama*, Sasitorn Rakyart*, Sriwanna Huttayananont*, Jiraporn Sukkaew*, Kenitiro Ito**, Krongkaew Supawat*, Haruo Watanabe***, and Pathom Sawanpanyalert*.

* National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. ** Bacteriological Laboratory of Infectious Diseases, Infectious Diseases Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases, Japan. *** Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, Japan

16:20 Enteric Infections and PulseNet development in Vietnam

Phung Dac Cam, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam

16:40 Global Salmonella Typhi PulseNet database

Peter Gerner-Smidt, Ahmed El Seddawy, CDC/ USA

17.00 Characterization of Escherichia coli O157:H7 isolation in Jiangsu Province, China.

Hua Wang, Jiangsu CDC, China

18:30 Reception dinner, sponsored by SKLID and ICDC of China CDC

December 20, 2006

Research Project Proposal in country

8:50 Introduction Haruo Watanabe

Chair : Haruo Watanabe, co-chair : Peter Gerner-Smidt

9:00 Salmonella, Shigella and Vibrios in Bangladesh: Analysis of clones by PFGE.

Kaisar Talukdar, Munir Alam and G. B. Nair, International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh

9:30 Optimized rapid PFGE for *Streptococcus suis*

Danny Cheung, Cindy Luey, Kai Man Kam, Public Health Laboratory Services Branch, Centre for Health Protection, Hong Kong

10:00 Networking of India Council of Medical Research in Infectious Diseases research

Dipali Mukherjee, Indian Council of Medical Research, New Delhi, India

10:30~11:00 Break

11:00 Distribution of the *subA* gene among the Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates in Japan

Hidemasa Izumiya[1], Sunao Iyoda[1], Jun Terajima[1], Makoto Ohnishi[1], Tomoko Ishihara[1], Shinji Yamasaki[2], Haruo Watanabe[1]

[1] Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan. [2] Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University, Osaka, Japan

11:30 PFGE Standardization and molecular epidemiological study of *Vibrio vulnificus*

Shukho Kim and Bok-Kwon Lee, Division of Enteric Bacterial Infections, National Institute of Health, KCDC, Korea

12:00~13:00 Lunch (in Jiangsu CDC)

13:00-13:50 Visit to Laboratory of Jiangsu CDC

14:00 Genotypic typing of *Salmonella enterica* Typhimurium and *Burkholderia pseudomallei*

in Malaysia Thong KL, SD Puthucheary, Norazah A., Rohani Yasin

14:30 NZ enteric microbiology research

Phil Carter Institute of Environmental Science & Research Limited, Kenepuru Science Centre, New Zealand

15:00 Molecular analysis of emerging and re-emerging pathogens in China

Jianguo Xu, State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, China

---

15:30 Special Review Lecture

"PulseNet : Past, Present, and Future" Bala Swaminathan/ CDC

16:00~16:20 **Break**

16:20 Development of a MLVA method for *Shigella sonnei*.

Chien-Shun Chiou, The Central Region Laboratory, Centers for Disease Control, DOH, Taiwan

16:50 Molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from patients in Thailand.

Sriwanna Huttayananont*, Kristsana Poorikittichai*, Jiraporn Sukkaew*, Orn-Anong Ratchtrachenchai*, Krongkaew Supawat*, Pathom Sawanpanyalert* and Haruo Watanabe**

* National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. ** Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, Japan

17:20 Antimicrobial susceptibility and Pulsed Field Gel Electrophoresis of *Shigella* strains in Vietnam (1998-2004).

Nguyen Thi Phong Lan, Phung Dac Cam, Tran Minh Thu and Haruo Watanabe

18:30 Welcome dinner and party, sponsored by Jiangsu CDC.

December 21, 2006

Chair: Brent Gilpin, co-chair: Dipali Mukherjee

9:00 PIC Work Group Report and Proposals for Future HK PHLC / All participants

9:30 Communication amongst PulseNet Asia Pacific - Email, Discussion Forums and other options Brent Gilpin, New Zealand

10:00~10:20 Break

10:20 WHO proposal on GLadNet ---- A Global Laboratory Directory and Network for Pathogens with Epidemic Potential. Bala Swaminathan/ CDC

11:10 Present and Future collaborative projects CDC/APHL/NIID/HKPHLC/New Zealand/Others.

(include on the role of PulseNet Asia Pacific in bioterrorism and emerging infectious diseases events)

11:30	MOU discussion CDC	*<Part presentation from PulseNet Canada>*
11:50	Funding issues	NIID / CDC / APHL
12:00	Training Plans	HK PHLC/ NIID/ CDC/ APHL
12:10	Summary of meeting/ Rapporteur session	CDC / APHL
12:30	Closing Remarks	Xu / Swaminathan/ Gerner-Smidt

Lunch (in Jiangsu CDC)

In the afternoon :

13.10-18.00 City tour, organized by Jiangsu CDC

Fig.4. PulseNet Asia PacificのWebBoard

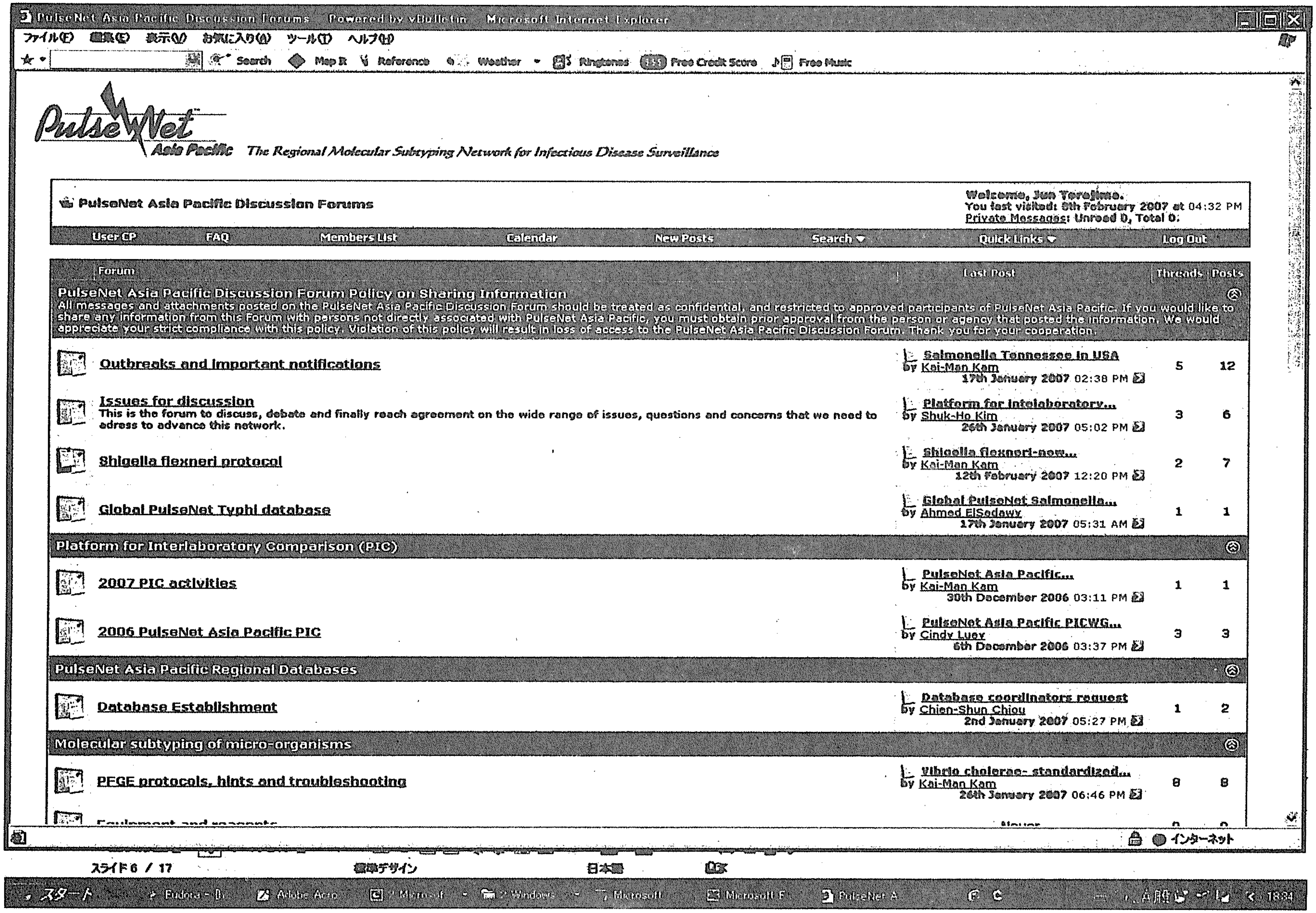


Fig.5.Asian ArboNET トップページ

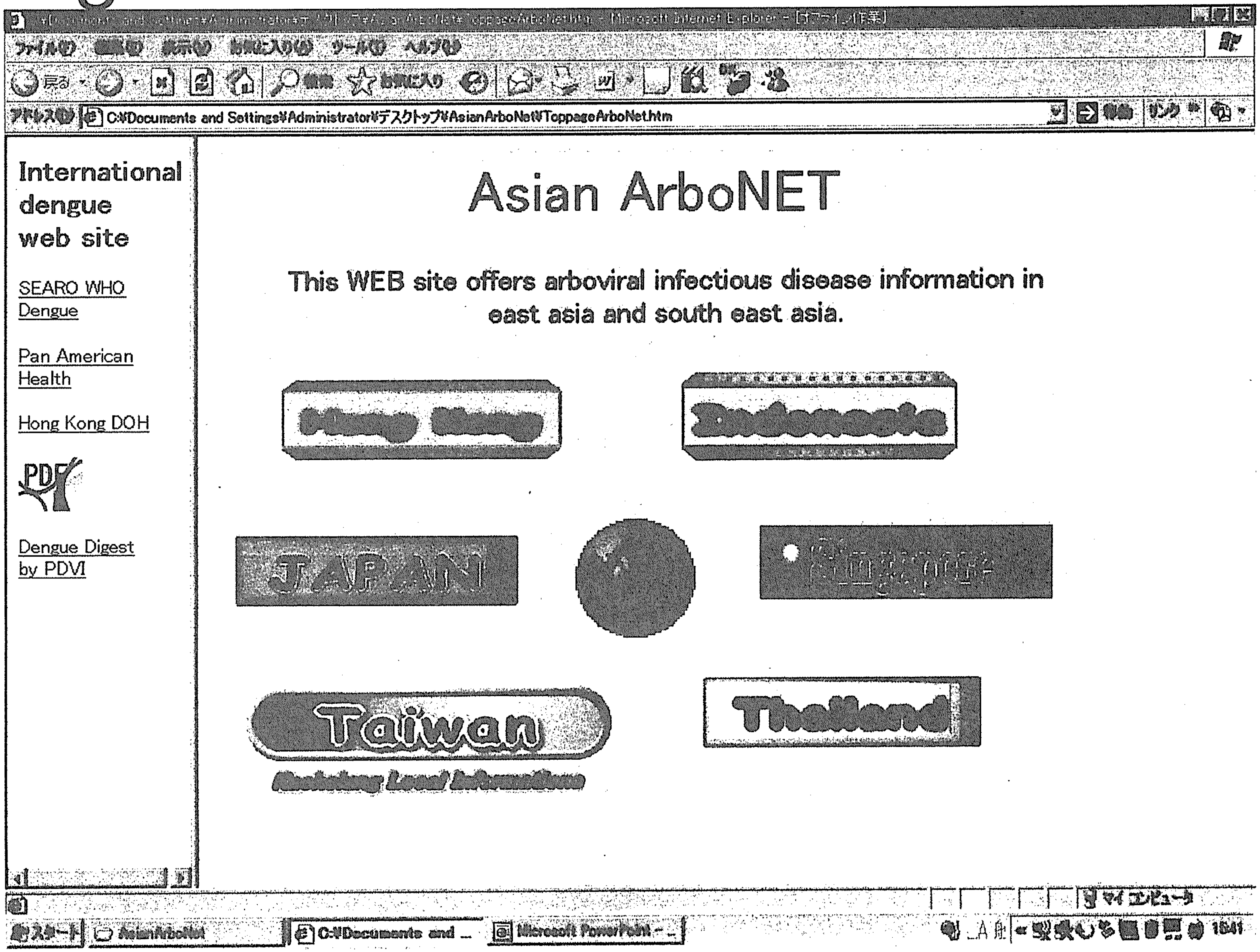


Fig.6 アジア・太平洋関係各国のマラリア研究機関との
ネットワーク強化と情報収集・共有に係る課題：遠藤班

1. 太平洋地域のマラリア感染状況と疫学的指標の変化に関する研究
2. マラリア原虫の診断法の開発·普及
3. 新入植地におけるマラリアの侵入·拡大要因（インドネシア）
4. マラリアの分子進化速度や薬剤耐性に関する分子生物学的研究
5. 熱帯熱マラリア表面蛋白の検索とワクチン開発に関する研究
6. Ｇ６ＰＤ欠損症の疫学と簡易な診断法の開発、普及に関する研究
7. マラリア感染に係る数理モデル構築と非流行地（わが国を含む）でのReemergingと流行地での都市型マラリア防遏への適用

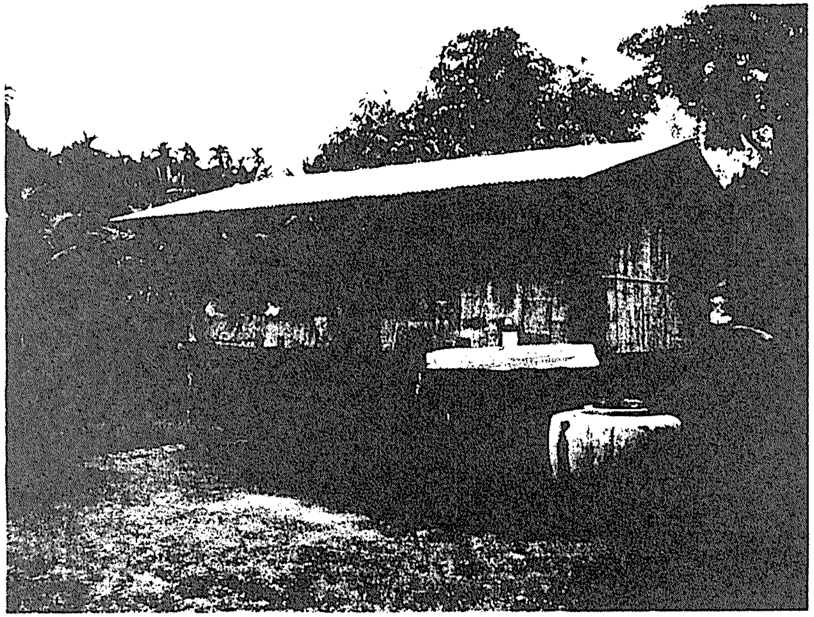


Fig. 7 マラリア関係国際会議

1．Laboratory Network on Malaria and Enteric Protozoan Infections in Southeast Asia

平成18年１月31日－２月１日，　国立感染症研究所 主催
６ヶ国（日本，韓国，タイ，カンボジア，フィリピン，インドネシア）＋WHO（WPRO)から計28名の参加を得て、18課題の報告があった。

2．International Conference on Vivax Malaria in Asia and Pacific Area

平成19年1月16－18日，国立感染症研究所·中国CDC·WHO(WPRO,SEARO) 共催
９ヶ国（日本，中国，韓国，北朝鮮，タイ，カンボジア，フィリピン，インドネシア，ソロモン諸島国）＋WHO（ WPRO, SEARO ,EMRO）から44名の参加を得て、24課題の報告があった。この会議を通して、感染の中心が熱帯熱マラリアから三日熱マラリアへとシフトしている熱帯アジアでは、この状況変化を把握できる疫学的指標の開発が、三日熱マラリアのアウトブレイクが懸念される温帯アジアでは、ベクター生息状況の把握が大切であることが確認された。また、韓国における、1990年代からの三日熱マラリア再流行の原因とされる北朝鮮のマラリアについても、情報を得ることができた。

プロジェクト１：細菌

平成18年度厚生科学研究 新興再興感染症 研究事業

研究課題名:「アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究」

分担研究報告書

分担研究者 寺嶋 淳　　国立感染症研究所 細菌第一部

協力研究者 荒川英二　　国立感染症研究所 細菌第一部

協力研究者 泉谷秀昌　　国立感染症研究所 細菌第一部

協力研究者 伊豫田 淳　　国立感染症研究所 細菌第一部

研究要旨　1) 2005年に分離された腸管出血性大腸菌(EHEC)のうち広域で分離されたEHEC O157について、6箇所以上の都道府県で分離されたパターンを示す株について、Multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)法による解析を行った。これらの広域分離株の示すパターンは異なる7種類のパターンがあり、XbaI及びBlnI消化によるPFGEパターンが一致している株であったが、MLVAでは9つの遺伝子座のうち1～2個の遺伝子座においてリピート数が異なる株が見いだされた。 2) *Vibrio parahaemolyticus* について、米国CDCを中心として香港(Public Health Laboratory Centre;PHLC)、Bangladesh(International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh;ICDDR,B)、India(National Institute of Choleae and Enteric Diseases, NICED), Thailand(National Institute of Health)及び国立感染症研究所細菌第一部においてPFGE標準化プロトコールの作成を試みた。CDC, ICDDR,B, PHLC、NICED Thailand NIH及び細菌第一部から供出された *Vibrio parahaemolyticus* 計36株について、それぞれの研究室において標準化プロトコールの候補により泳動を行い、画像をPHLCに電送後、解析ソフトBioNumericsにより比較解析を行った。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌O157については標準化Pulsed-Field Gel Electrophoresis(PFGE)法による解析が行われ、国際的なネットワークであるPulseNet Asia Pacific等においても分離菌株の解析結果が比較可能となっている。一方、解析結果の数値化が困難であるPFGEに比べてデータ比較が容易であるMLVAの分離株識別能については、PFGEとの比較を行い分子疫学的解析方法としての評価を行うことを目的とする。また、アジア諸国においては分子疫学的なサーベイランスとしてPFGEを用いる場合の最も関心度の高い病原菌のひとつとしてV. choleraeに引き続き *Vibrio parahaemolyticus* が挙げられる。PulseNet Asia Pacificの共同研究として、*Vibrio parahaemolyticus* のPFGE標準化プロトコールを作成することを目的として米国CDC, ICDDR,B, PHLC、NICED及びThailand NIHとともに標準化プロトコールの評価を行った。

B. 研究方法

1) MLVA による解析;2005 年に分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち、PFGE 解析により XbaI 及び BlnI でのパターンが同一と考えられる広域分離株を使用して MLVA による解析を行った。MLVA の primer には、米国 CDC において選択された既報の 9 種類を使用した。9 種類のうち、4 種類の multiplex PCR を 2 本と single set primer による計 3 本の PCR を行い、増幅断片について、ABI Genetic Analyzer 3130 xl による電気泳動を行った。DNA size marker として、GeneFlo625 DNA ladder(Chimerx 社)を用いた。泳動後のフラグメント解析には、GeneMapper (ABI 社)を使用した。一部の増幅断片については、塩基配列を決定し MLVA から推定される増幅断片サイズとの比較を行い、泳動誤差の補正を行った。解析結果については、9つの遺伝子座におけるリピート数を表及び星型グラフにプロットして提示した。

2) *Vibrio parahaemolyticus* 用の PFGE プロトコールの作成;まず PhaseI 試験として、参加 6 機関において過去に分離された疫学的に重要度が高いと考えられる *Vibrio parahaemolyticus* 36 株を選択して PHLC に送付集約しこれら 36 株について、それぞれの研究室において PFGE を行った。PFGE の泳動条件としては、条件1; 2 ブロックの組み合わせで、block1; switch time 4 – 8 秒、7h、block2; switch time 8 – 50 秒、13h、電圧; 6V/cm, 泳動角度 120° 温度 14℃、条件 2; 2 ブロックの組み合わせで、block1; switch time 2 – 10 秒、13 h、block2; switch time 20 – 25 秒、6h、電圧; 6V/cm, 泳動角度 120° 温度 14℃、条件 3; Switch time; 10 – 35.03 秒、電圧; 6V/cm, 泳動角度; 120° 、泳動時間;18h、温度;14℃の 3 つの条件を検討した。PFGE には、CHEF Mapper (BIO-RAD 社)を使用した。Plug の作成、washing buffer 等の作成は 1% SDS を除去した以外は腸管出血性大腸菌 O157 等のプロトコールに準じた。すなわち、Plug は 1% SeaKem Gold agarose in TE Buffer(10 mM Tris/1 mM EDTA, pH8.0)で作成し、Cell Suspension Buffer(100mM Tis/100 mM EDTA, pH8.0)、Cell Lysis Buffer(50 mM Tis/5o mM EDTA, pH8.0 + 1% Sarcosyl)を使用した。Plug mold は、0.75 mm 厚の reusable plug mold を使用した。制限酵素には、SfiI と, NotI を用いて泳動断片のパターンが読み取り易い制限酵素の検討を行った。PhaseII 試験として、36 株のうちから 6 ヶ所の地域から、血清型の重要性、PhaseI 試験の PFGE パターンにおけるバンド分布等を考慮して 7 株を選択して条件 3 に統一して PFGE 解析を行った。

C. 研究結果と考察

1) MLVA による解析;2005 年に分離されたヒト由来腸管出血性大腸菌 O157 1783 株のうち、XbaI と BlnI による PFGE パターンが一致し 5 箇所以上の都道府県から分離されている株について(図 1 及び表 1)調べた。XbaI のパターンが一致し、広域から分離されている株には 33 種類のパターンが見られたが、5 箇所以上の都道府県から分離されているパターンには 7 種類が見いだされた。これらの 7 種類のパターンを示す株について MLVA を行い、9 遺伝子座についてそれぞれのリピート数の比較を行った(表 2、図 2 及び 3)。2004 年に見られたパターン名である、type No. 112, 52, 413 については、変異が起きている遺伝子座の種類が多く、リピート数の違いも大きい傾向があった。一方、2005 年に初めて観察されたパターン名である type No. a27, a491, a264, a230 については、変異が発生している遺伝子座数及びリピート数の違

いのいずれも少なかった。Type No. a27 においては、3種類の遺伝子座において変異が見られたが、リピート数の違いは1にとどまっており、集団発生株では一遺伝子座で変異が発生する場合もあるとする報告の範囲内に収まっていた。また、Type No. a491, a264, a230 については供試菌株数がやや少ないものの、変異が見られた株は1株ずつで、変異が見られた遺伝子座の数は1（Type No. a230）または 2(Type No. a491, a264)であった。2005 年に見られたパターンである Type No. a27, a491, a264, a230 については、XbaI 及び BlnI によるPFGE パターンとMLVA の解析で一致する株があることから、それぞれのパターンに属するこれらの分離株については感染源等の共通性を強く示唆する結果であると考えられる。しかしながら、これらの株はほとんどが散発事例由来株であり疫学的な関連情報については不明である。

MLVA の結果については、それぞれの type No. で主要な MLVA タイプと異なる箇所を黄色で示した（表 2）。それぞれ、PFGE で同一パターンを示しながらも MLVA では違いが見つかっており、本法の識別能の高さが示された結果といえる。一方、Type No. 413 及び a264 においては、PCR での増幅産物が得られていない遺伝子座（No. 9 及び 10）があったものの、9つ全ての遺伝子座においてリピート数が極めて近く、なかには全く同じ MLVA タイプを示す株も存在した。XbaI による PFGE パターンも両者ではかなり類似しているが、パターンの違いが識別できることから（図1）、株によっては MLVA よりも PFGE の方が識別能の高い場合もあることを示している。

2) *Vibrio parahaemolyticus* 用の PFGE プロトコールの作成；条件 1, 2 で 2 ブロックの泳動条件であるのと比べると、条件 3 は1ブロックの泳動条件であり、SfiI, NotI 処理で生ずるバンドもムラなく分布していることから、条件 3 を用いて 6ヶ所の機関で解析を行った。用いた分離株は、上位4つの血清型を含む 7 種類の異なった *Vibrio parahaemolyticus* である。それぞれの分離株のパターンは図4に示すとおり、条件3により鮮明な泳動像が得られた。泳動時間に関しては、18 時間よりもやや延ばして行うことも可能と考えられた。

D. 結論

MLVA により、同一 PFGE タイプと考えられる腸管出血性大腸菌 O157 でもさらに識別できる株があることが明らかになった。一方、株によっては同一 MLVA タイプであるにもかかわらず PFGE で識別できる場合もあり、今後種々のパターンを示す O157 について MLVA での検討が必要と考えられた。また、どの程度の MLVA タイプの違いが集団発生由来株などの関連株内に存在するのかについてもさらに検討が必要である。

Vibrio parahaemolyticus の PFGE については今回作成したプロトコールでほぼ標準化されたものと考えることができるが、今後集団発生由来株等を用いて解析を行い検証が必要だろう。

参考文献

1) Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Mitobe J, Miura M, Watanabe H. Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing Escherichia coli in Japan. Foodborne Pathogens and Disease. 2006, 3(1):68-73.

2) Cooper KL, Luey CK, Bird M, Terajima J, Nair GB, Kam KM, Arakawa E, Safa A, Cheung DT, Law CP, Watanabe H, Kubota K, Swaminathan B, Ribot EM. Development and validation of a

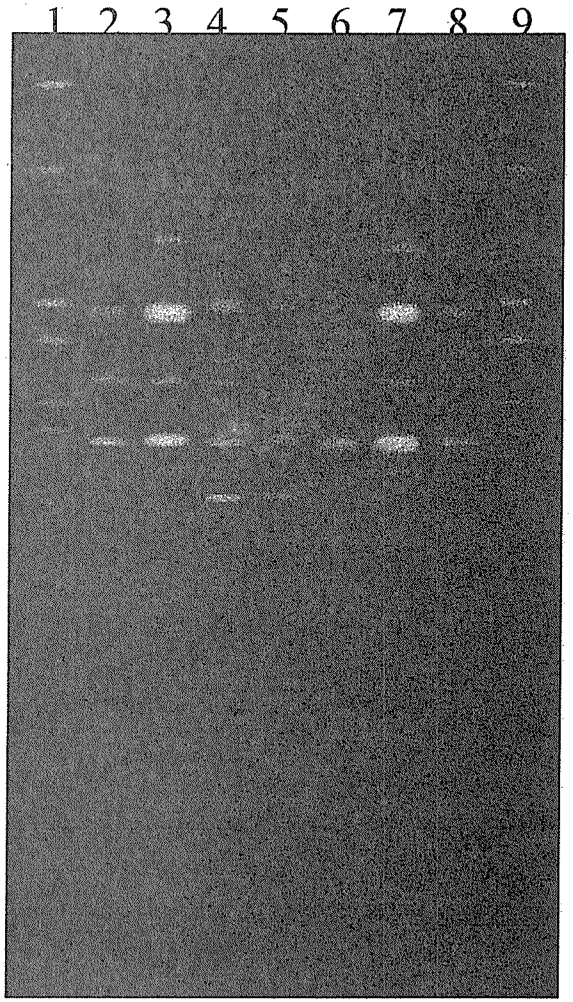
PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of Vibrio cholerae. Foodborne Pathogens and Disease. 2006, 3(1):51-8.

図1

1/3 1

腸管出血性大腸菌 O157 の XbaI 消化による

PFGE パターン



Lanes:1, 9; *Salmonella* Braenderup, 2;TN. 112, 3;TN. 52, 4;TN. 413, 5;TN. a264, 6;TN. a27, 7;TN. a230, 8;TN. a491

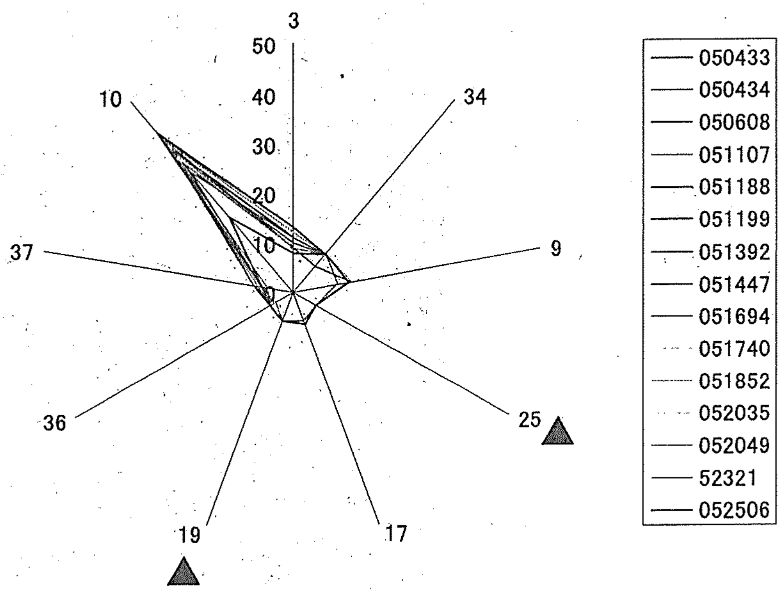
3ヶ所以上の異なる都道府県から分離された、33 種類の O157 のパターン名（Type No.）と分離都道府県

Type No.	総株数	都道府県数	
→ 52	9	6	徳島、宮城、新潟、福島、大阪、山口
103	9	4	埼玉、群馬、和歌山、神奈川
→ 112	36	10	宮城、大阪、神奈川、群馬、熊本、福井、東京、長野、埼玉、奈良(静岡、岡山、茨城、山口)
130	3	3	大阪、埼玉、愛知
150	10	4	神奈川、大阪、和歌山、宮城
170	9	3	千葉、大阪、岡山
233	14	3	静岡、新潟、富山（佐賀）
247	22	4	高知、兵庫、岡山、大阪
292	52	4	神奈川、香川、埼玉、鳥取
→ 413	16	8	兵庫、奈良、大阪、東京、岡山、愛知、石川、神奈川
485	7	4	神奈川、福井、東京、宮城（島根）
673	10	3	埼玉、岐阜、愛知
722	4	3	埼玉、東京、群馬
769	22	5	富山、兵庫、大阪、岡山、京都（埼玉）
828	41	4	埼玉、神奈川、東京、茨城、（千葉、大分、大阪、岐阜、新潟、福岡、宮城）
851	3	3	兵庫、岐阜、三重
936	14	3	福岡、宮崎、愛媛、（山口）
953	8	3	大阪、京都、滋賀
a119	9	3	兵庫、福井、京都
a176	23	3	島根、大阪、静岡
a215	5	3	新潟、神奈川、埼玉
a222	25	3	大分、大阪、兵庫、（東京）
a229	3	3	富山、東京、青森
→ a230	11	5	富山、広島、大分、岡山、山口
a236	7	3	鹿児島、大阪、京都
→ a264	26	5	埼玉、栃木、神奈川、東京、大阪
a269	3	3	高知、大阪、宮城
→ a27	19	9	富山、新潟、栃木、長野、山口、山梨、滋賀、広島、福岡（岡山）
→ a491	12	6	長野、愛知、群馬、福島、栃木、神奈川（茨城）
a530	4	3	東京、埼玉、佐賀
a594	5	4	群馬、長野、茨城、佐賀
a637	12	3	長野、大阪、神奈川
a64	5	5	東京、徳島、大阪、神奈川、京都

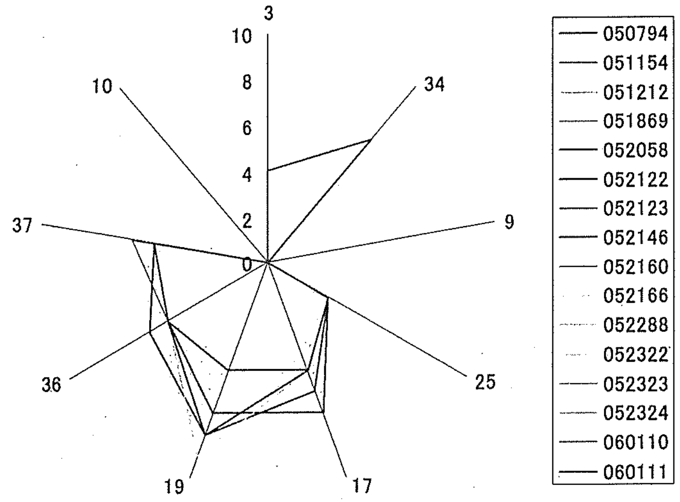
図2

Variable No. of repeat in 9 loci of EHEC O157 strains (I)

Type No. 112



Type No. 413



Type No. 52

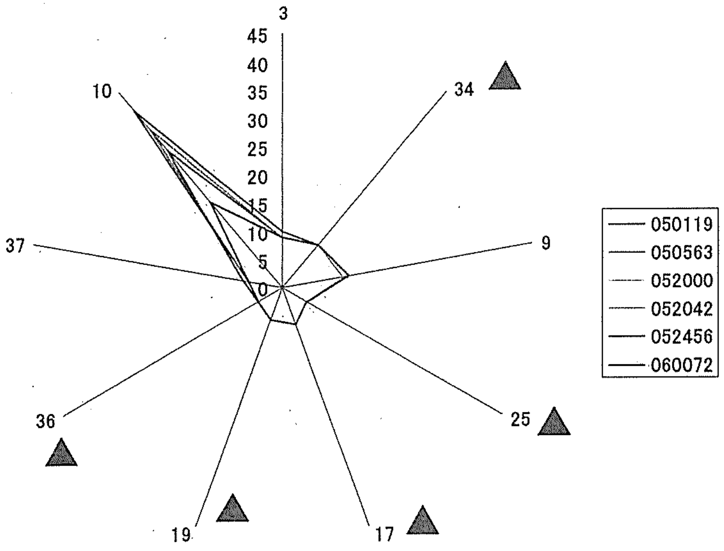
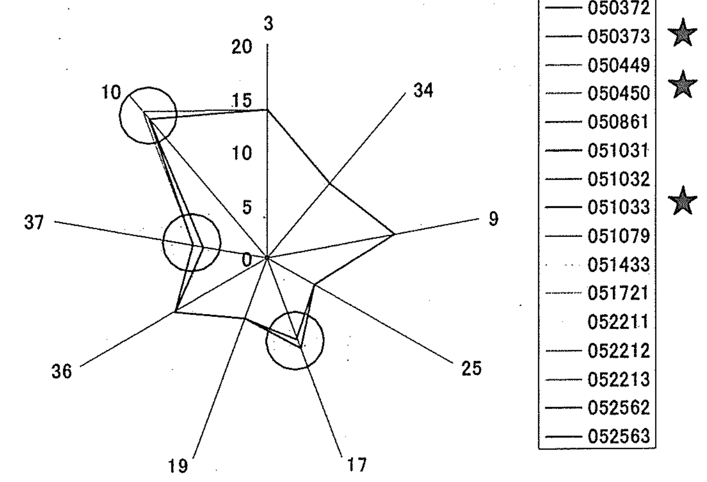


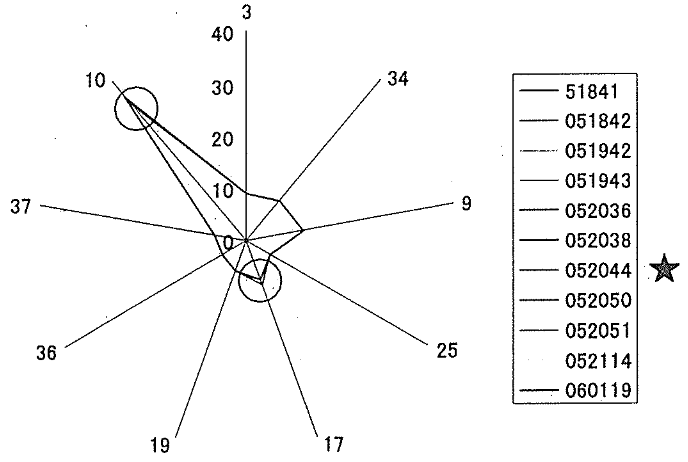
図3

Variable No. of repeat in 9 loci of EHEC O157 strains (II)

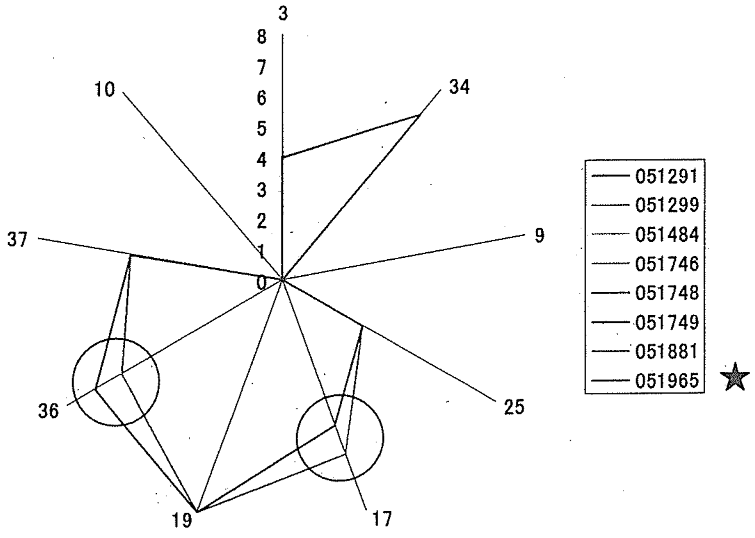
Type No. a27



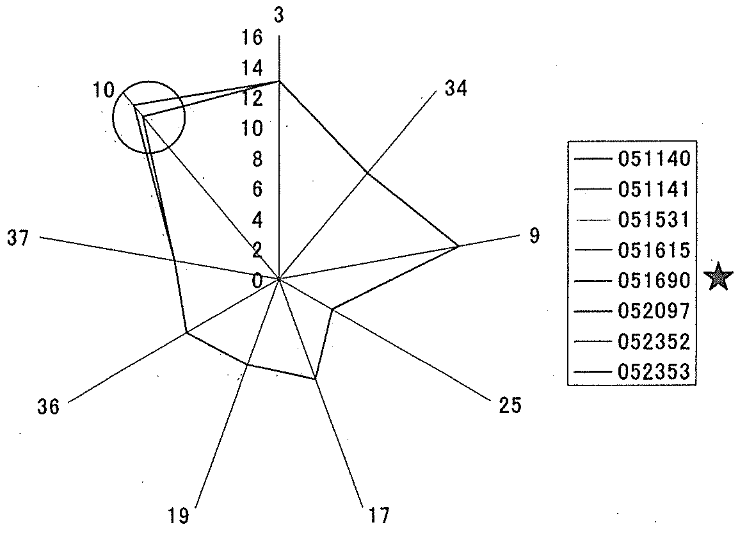
Type No. a491



Type No. a264



Type No. a230



$\frac{1}{3}$2

Type No. 112

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
050433	10	10	12	5	6	6	5	6	34
050434	10	10	12	5	6	6	5	6	34
050608	8	10	11	5	7	6	5	6	20
051107	9	10	11	5	7	6	5	7	41
051188	11	10	12	5	7	6	5	8	37
051199	11	10	12	5	7	6	5	8	38
051392	9	7	12	5	7	6	5	6	35
051447	11	10	11	5	7	6	5	6	32
051694	9	10	9	5	7	6	4	8	40
051740	13	10	11	5	7	6	5	6	42
051852	12	10	12	5	7	6	4	6	40
052035	9	10	12	5	7	6	5	6	30
052049	9	10	11	5	7	6	5	5	38
52321	13	10	11	5	7	6	5	6	40
052506	13	10	11	5	7	6	5	6	42

Type No. 52

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
050119	9	10	12	5	7	6	5	7	32
050563	9	10	11	5	7	6	5	6	36
052000	9	10	11	5	7	6	5	6	30
052042	9	10	11	5	7	6	5	6	37
052456	10	10	12	5	7	6	5	6	41
060072	9	10	12	5	7	6	5	6	20

Type No. 413

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
050794	4	7	none	3	7	7	5	5	none
051154	4	7	none	3	5	8	5	5	none
051212	4	7	none	3	5	8	5	5	none
051869	4	7	none	3	5	8	5	5	none
052058	4	7	none	3	6	8	6	5	none
052122	4	7	none	3	5	8	5	5	none
052123	4	7	none	3	5	8	5	5	none
052146	4	7	none	3	5	5	5	5	none
052160	4	7	none	3	5	8	5	6	none
052166	4	7	none	3	5	9	5	5	none
052288	4	7	none	3	5	8	5	5	none
052322	4	7	none	3	5	8	5	5	none
052323	4	7	none	3	5	8	5	5	none
052324	4	7	none	3	5	8	5	5	none
060110	4	7	none	3	5	8	5	5	none
060111	4	7	none	3	5	8	5	5	none

Type No. a27

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
050372	14	9	12	5	8	6	10	7	17
050373	14	9	12	5	8	6	10	7	18
050449	14	9	12	5	8	6	10	7	17
050450	14	9	12	5	8	6	10	7	18
050861	14	9	12	5	8	6	10	7	17
051031	14	9	12	5	8	6	10	7	17
051032	14	9	12	5	8	6	10	7	17
051033	14	9	12	5	8	6	10	6	17
051079	14	9	12	5	8	6	10	7	17
051433	14	9	12	5	8	6	10	7	17
051721	14	9	12	5	8	6	10	7	17
052211	14	9	12	5	8	6	10	7	17
052212	14	9	12	5	8	6	10	7	17
052213	14	9	12	5	8	6	10	7	17
052562	14	9	12	5	8	6	10	7	17
052563	14	9	12	5	9	6	10	7	17

Type No. a491

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
51841	9	10	11	5	8	6	5	6	36
051842	9	10	11	5	8	6	5	6	36
051942	9	10	11	5	8	6	5	6	36
051943	9	10	11	5	8	6	5	6	36
052036	9	10	11	5	8	6	5	6	36
052038	9	10	11	5	8	6	5	6	36
052044	9	10	11	5	9	6	5	6	35
052050	9	10	11	5	8	6	5	6	36
052051	9	10	11	5	8	6	5	6	36
052114	9	10	11	5	8	6	5	6	36
060119	9	10	11	5	8	6	5	6	36

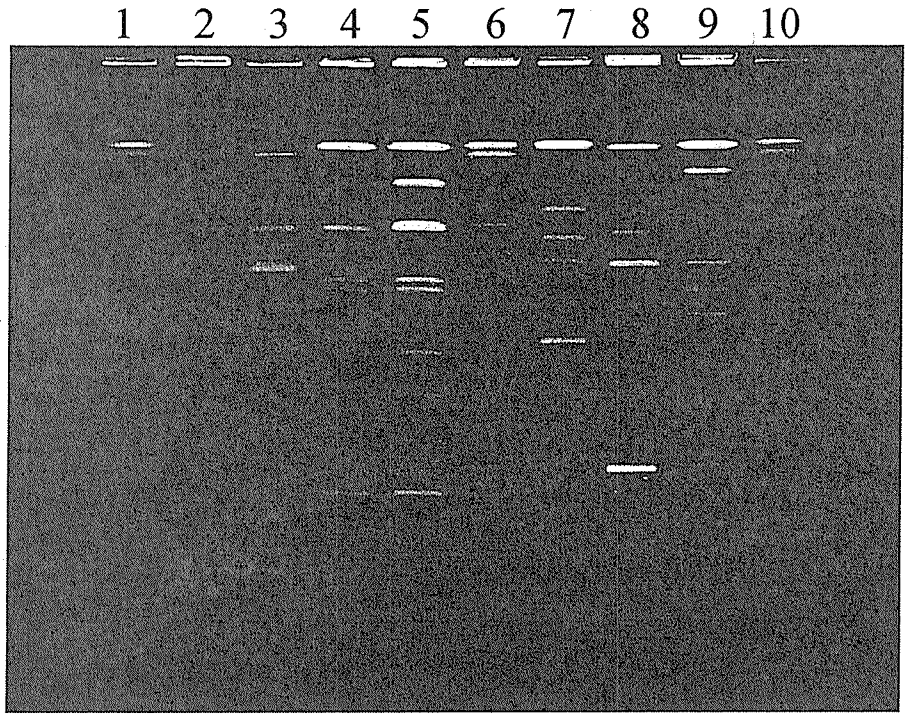
Type No. a264

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
051291	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051299	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051484	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051746	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051748	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051749	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051881	4	7	none	3	6	8	6	5	none
051965	4	7	none	3	5	8	7	5	none

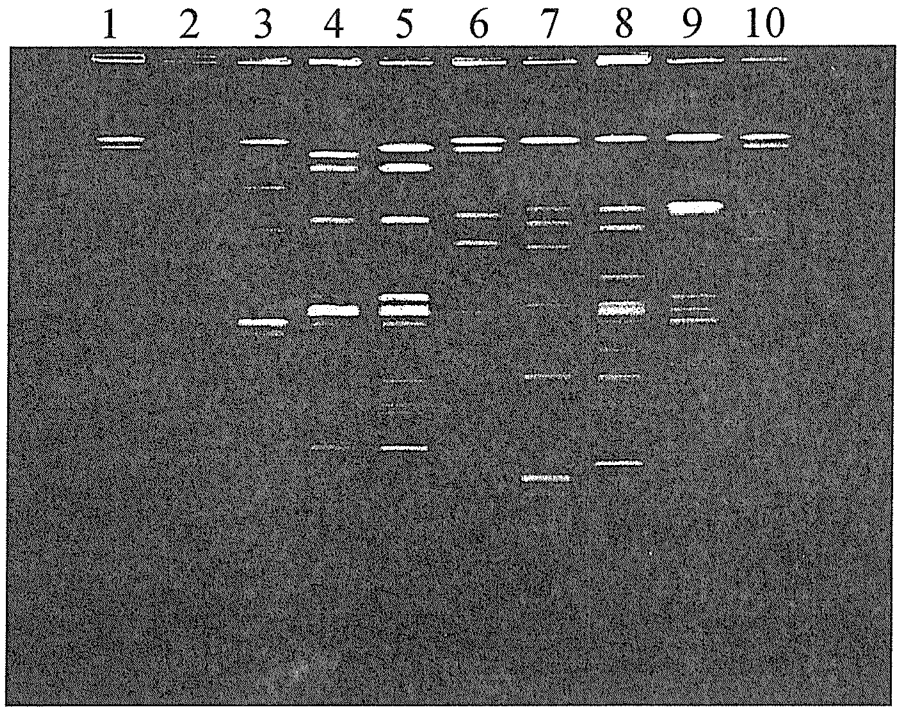
Type No. a230

菌株番号	遺伝子座名及びリピート数 3	34	9	25	17	19	36	37	10
051140	13	9	12	4	7	6	7	7	14
051141	13	9	12	4	7	6	7	7	14
051531	13	9	12	4	7	6	7	7	14
051615	13	9	12	4	7	6	7	7	14
051690	13	9	12	4	7	6	7	7	15
052097	13	9	12	4	7	6	7	7	14
052352	13	9	12	4	7	6	7	7	14
052353	13	9	12	4	7	6	7	7	14

図4



NotI



SfiI

Well	Isolate	area	Enzyme	Year	Serotype
1	H9812		XbaI		Salmonella Braenderup
2	VPS04	Bangladesh	NotI/SfiI	1998	**O4:K68**
3	VPS10	Hong Kong	NotI/SfiI	2005	O4:K8
4	VPS14	India	NotI/SfiI	2001	**O3:K6**
5	H9812		XbaI		Salmonella Braenderup
6	VPS19	Japan	NotI/SfiI	2004	**O1:KUT**
7	VPS27	Thailand	NotI/SfiI	2005	O2:K28
8	VPS31	CDC, USA	NotI/SfiI	1997	**O4:K12**
9	VPS35	CDC, USA	NotI/SfiI	2003	O6:K18
10	H9812		XbaI		Salmonella Braenderup

*Serotypes in bold are the top four among the evaluation set