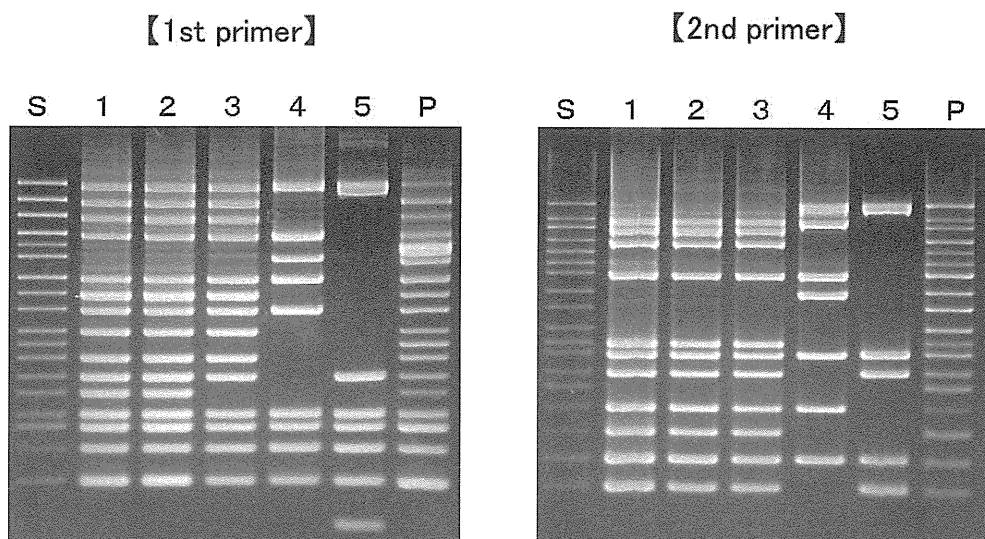
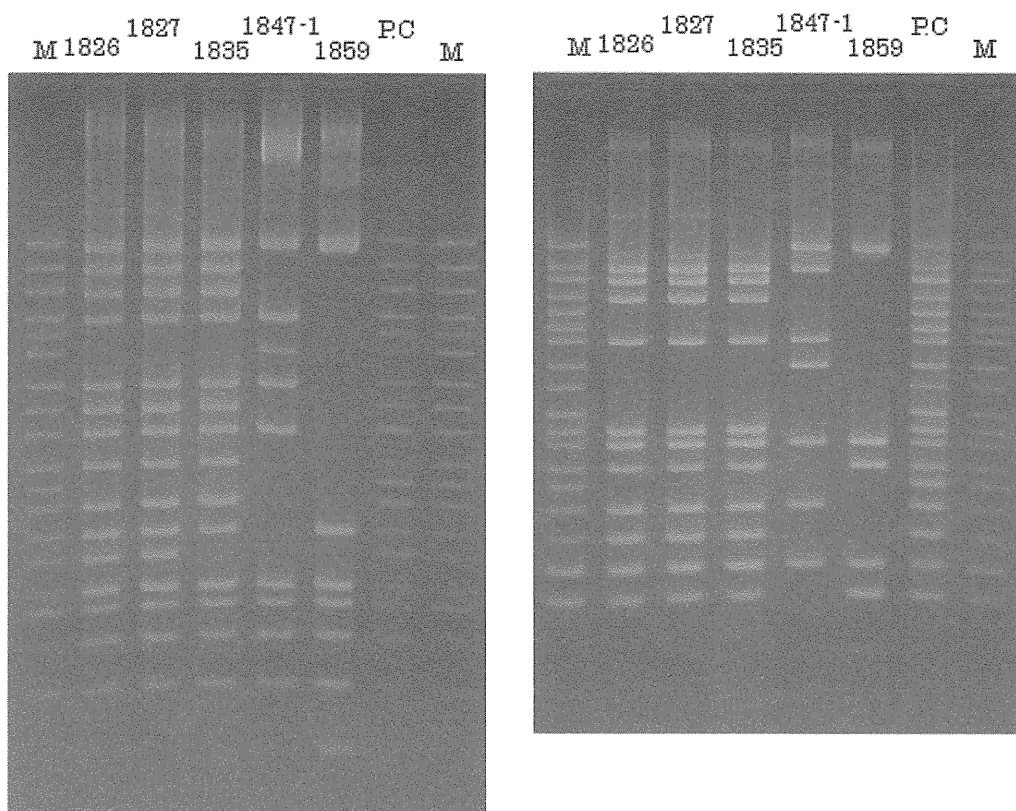


(D)

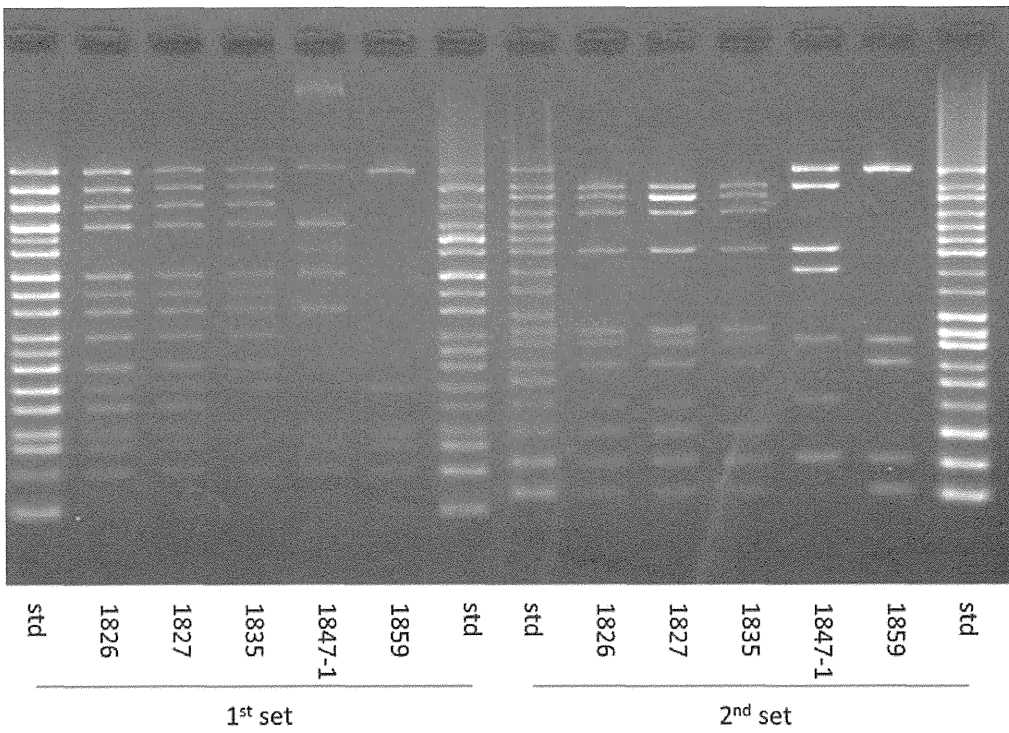


レーン 1 : No. 1826
2 : No. 1827
3 : No. 1835
4 : No. 1847-1
5 : No. 1859
S : Standard DNA
P : Positive control

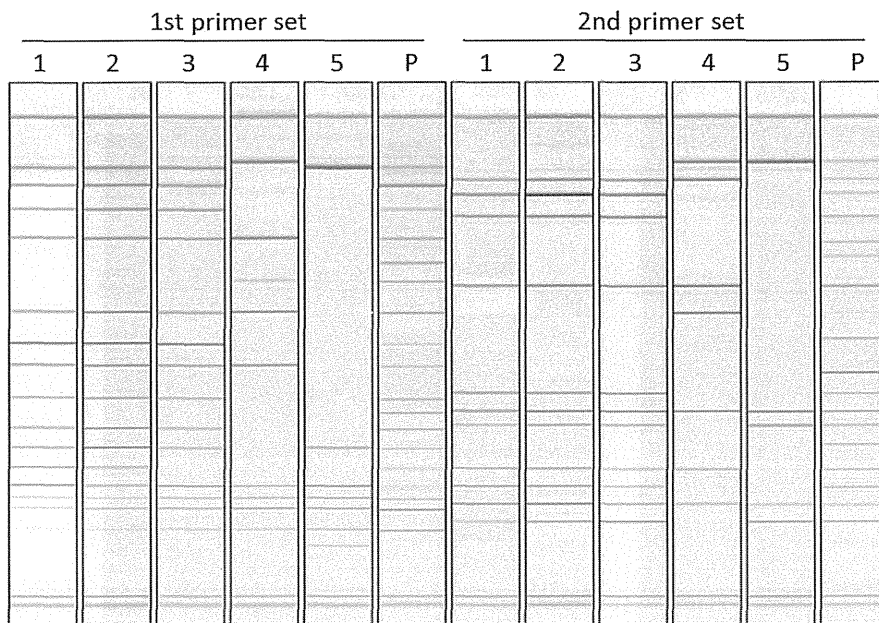
(E)



(F)

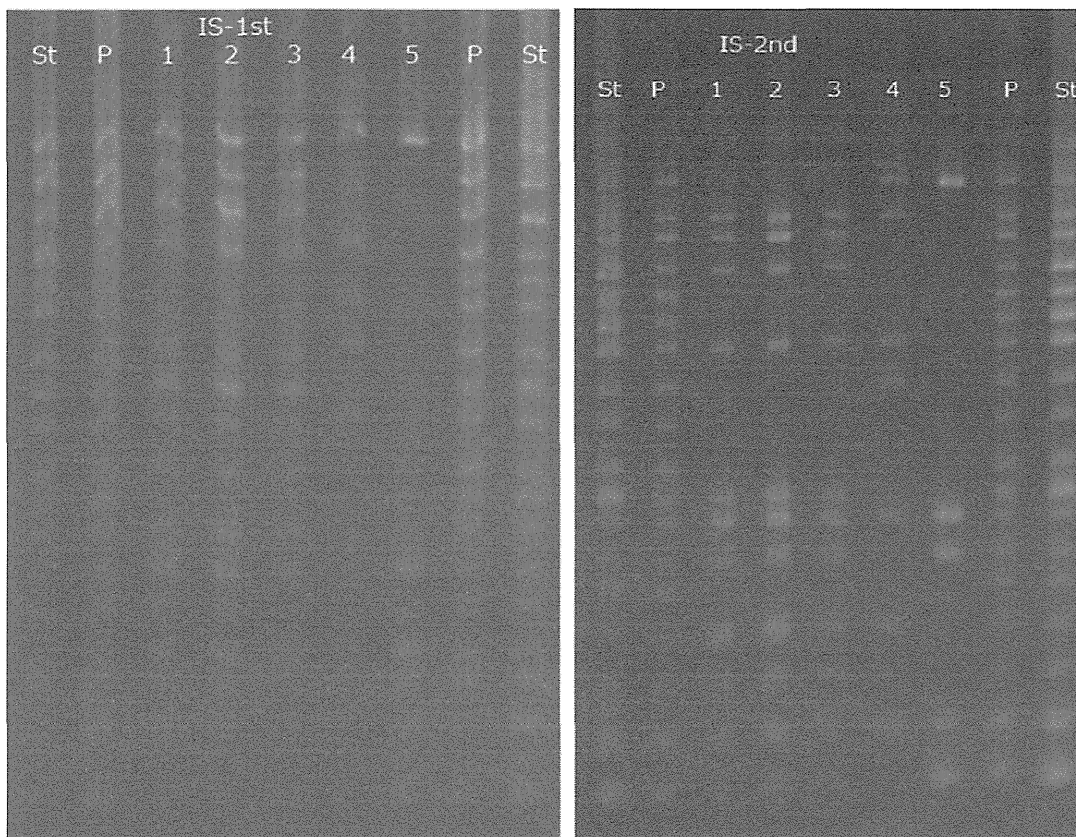


(G)



- 1: 1826
- 2: 1827
- 3: 1835
- 4: 1847-1
- 5: 1859
- P: Positive control

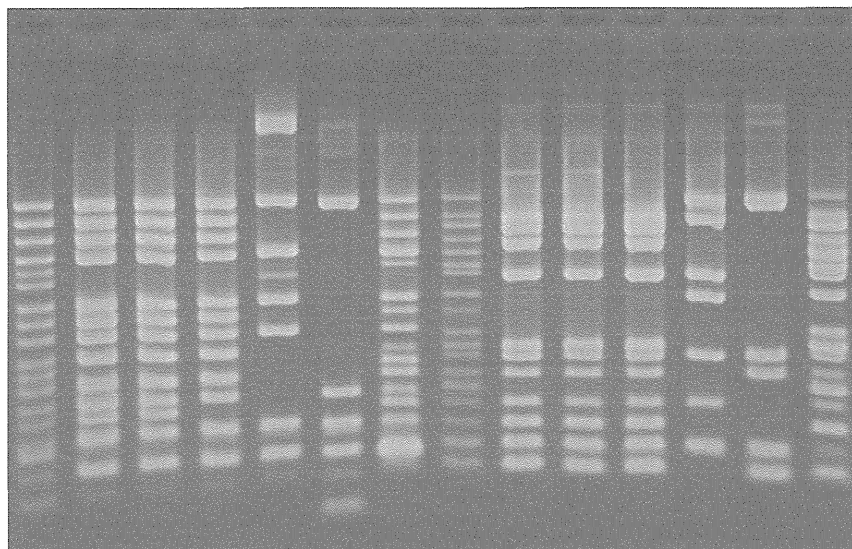
(H)



(I)

1st set Primer MIX

2nd set Primer MIX



Std : Standard DNA

1 : No.1826

2 : No.1827

3 : No.1835

4 : No.1847-1

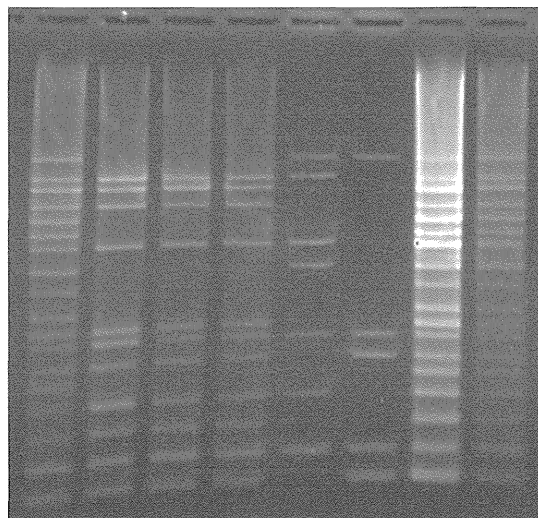
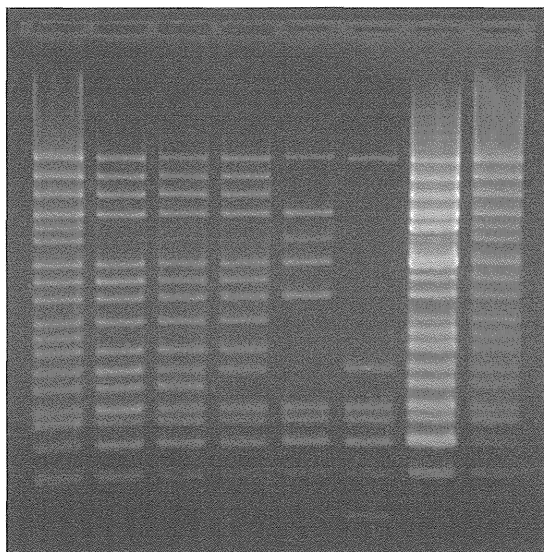
5 : No.1859

P : Template Mix

(J)

IS printing 1st set

IS printing 2nd set



1st, 2nd set 共に左から、スタンダード、1826、1827、1835、1847-1、1859、テンプレート、スタンダード

表2 平成26年度 IS-printing system精度管理結果

施設	菌株No				
	1826	1827	1835	1847-1	1859
A	IS-printing system精度管理不参加				
B	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
C	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
D	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
E	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
F	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
G	717577	717577	717557	055047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
H	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
I	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416
J	717577	717577	717557	155047	100057
	611657	611657	611657	303442	100416

上段：1st primer code、下段：2nd primer code、マーカ一部はISコードが異なったもの。

表3 中四国地域で発生したEHEC感染事例(平成26年度)

グループ	No.	年齢	性別	血清型	Stx	発病日	MLVA type	MLVA comp	IS-printing (1)	IS-printing (2)	備考
	1843	4	女	O103:H2	1	2014/7/22					
	1847-2	23	男	O103:H2	1	2014/7/30					
	1850	46	女	O103:H2	1	2014/7/30					
	1845	31	男	O103:H2	1	2014/7/26					
	T-4	20才代		O103:H2	1	2014/7/1					
	1814	34	女	O111:H-	1	2014/6/26	14m3011				
	1837	4	男	O111:H-	1	2014/6/19	14m3009				
	1853	9	女	O111:H-	1	2014/8/21	14m3021				
	1854	42	男	O111:H-	1	2014/8/28	14m3021				
	K140648	13	F	O111:H8	1,2	2014/4/28	14m3004				
	1869	19	女	O121:H19	2	2014/12/21					
	1856	4	女	O157:H-	1	2014/8/21	14m0265		100057	100416	
	H26E072	70	男	O157:H-	1	2014/8/6	14m0244		615457	311656	
	1858	38	女	O157:H-	1	2014/9/3			100057	100416	
	1859	9	男	O157:H-	1	2014/9/3			100057	100416	
	1842	5	男	O157:H-	2	2014/7/19	14m0064		615057	611643	
	EH14-08	80	F	O157:H-	1,2	2014/7/22	13m0647		311057	310457	
	T-2	20才代		O157:H-	1,2	2014/6/1	14m0087		605457	311656	
	H26E077	15	男	O157:H-	1,2	2014/8/22	14m0261		307575	611657	
①	T-6	40才代		O157:H-	1,2	2014/9/1	14m0346 (14c046)		215457	311656	保健所の調査では関連性不明
	T-7	30才代		O157:H-	1,2	2014/9/1	14m0347 (14c046)		215457	311656	
	HC-3	2	男	O157:H-	1,2	2014/10/16	14m0426				
①	14Y34	3	女	O157:H-	1,2	2014/11/4	14m0454		215457	311656	
	EH14-15	31	F	O157:H7	2	2014/8/21	14m0402		114057	303443	
	1844	69	男	O157:H7	2	2014/7/29	14m0266		115057	303443	
	14Y04	23	M	O157:H7	2	2014/6/29	14m0123		145047	301443	
	1847-1	23	男	O157:H7	2	2014/7/30	14m0267		155047	303442	
	1812	63	男	O157:H7	2	2014/5/15	14m0149		205455	311242	
	14Y23	23	F	O157:H7	2	2014/9/23	14m0382	14c066	215557	111043	
	EH14-12	28	M	O157:H7	2	2014/7/30	14m0170	14c053	245457	611242	
	SE14005	5	男	O157:H7	2	2014/7/30	14m0170	14c53	245457	611242	家族SE1
	SE14006	2	女	O157:H7	2	2014/8/2	14m0170	14c53	245457	611242	
②	SE14007	35	女	O157:H7	2	2014/8/2	14m0170	14c53	245457	611242	
	SE14011	58	女	O157:H7	2	2014/9/8	14m0380		245457	611242	
	SE14010	33	男	O157:H7	2	2014/8/26	14m0381	14c53	245457	611242	家族SE1
	1806	23	女	O157:H7	2	2014/4/13	14m0112		305057	211242	
	1808	85	男	O157:H7	2	2014/4/25	14m0111		305455	211642	
	14Y17	1	F	O157:H7	2	2014/9/23	14m0056	14c013	305457	211642	家族Y1
	14Y19	7	M	O157:H7	2	2014/9/26	14m0056	14c013	305457	211642	
③	14Y20	3	M	O157:H7	2	2014/9/19	14m0056	14c013	305457	211642	
	K142246	81	F	O157:H7	2	2014/10/6	14m0357		305457	211642	家族K1
	K142248	50	M	O157:H7	2	2014/10/9	14m0357		305457	211642	
④	K141186	64	F	O157:H7	2	2014/6/27	14m0110	14c048	341057	310652	
	K142247	9	F	O157:H7	2	2014/9/29	14m0356	14c048	341057	310652	
	EH14-21	82	F	O157:H7	2	2014/10/3	14m0396		345457	311652	
	KO-2	60	女	O157:H7	2	2014/8/25			002057	214443	
	EH14-14	75	F	O157:H7	2	2014/8/8	13m0327	14c036	012057	214442	川崎市届出患者の接触者EH
	HC-2	26	女	O157:H7	2	2014/8/25	14m0298				
	HC-5	13	男	O157:H7	2	2014/10/29	14m0421				
	KO-1	11	女	O157:H7	1,2	2014/8/13			117176	601757	
⑤	1861	1	女	O157:H7	1,2	2014/10/15			117575	601757	
	1866	3	女	O157:H7	1,2	2014/10/26			117575	601757	
	1867	36	女	O157:H7	1,2	2014/10/28			117575	601757	
	SE14009	28	女	O157:H7	1,2	2014/8/28	14m0307		307577	211757	
	SE14008	70	女	O157:H7	1,2	2014/8/13	14m0388		311477	611756	

(表3 つづき①)

⑥	14Y01	49	F	O157:H7	1,2	2014/6/4	14m0131		317475	611756	家族Y2
	14Y02	2	F	O157:H7	1,2	2014/6/16	14m0131		317475	611756	
	14Y03	4	F	O157:H7	1,2	2014/6/18	14m0131		317475	611756	
	14Y05	18	F	O157:H7	1,2	2014/7/5	14m0131		317475	611756	
⑦	1811	67	女	O157:H7	1,2	2014/5/12	14m0130	14c033	317477	611756	家族E2
	T-8	20才代		O157:H7	1,2	2014/11/1	依頼中		317575	211757	
⑦	H26E083	11	男	O157:H7	1,2	2014/11/6	14m0449		317575	611757	家族E2
	H26E084	4	男	O157:H7	1,2	2014/11/2	14m0449		317575	611757	
	H26E085	39	女	O157:H7	1,2	-	14m0449		317575	611757	家族K2
	K142617	4	M	O157:H7	1,2	2014/11/6	14m0449		317575	611757	
K142618	39	F	O157:H7	1,2	2014/11/9	14m0449		317575	611757		
⑧	1848	33	女	O157:H7	1,2	2014/7/30	13m0157	14c007	317577	211756	同一飲食店利用Y
	1849	36	男	O157:H7	1,2	2014/8/1	14m0272		317577	211756	
	1855	2	男	O157:H7	1,2	2014/8/15	14m0275		317577	211756	
⑨	EH14-16	72	M	O157:H7	1,2	2014/8/30	14m0407		317577	211757	同一飲食店利用Y
	14Y11	17	M	O157:H7	1,2	2014/8/23	14m0236		517557	201657	
	14Y13	37	F	O157:H7	1,2	2014/8/26	14m0236		517557	201657	
⑩	EH14-10	16	M	O157:H7	1,2	2014/7/28	14m0177		707557	611657	託児所関連株O-2
	1868	22	男	O157:H7	1,2	2014/12/14			707557	611657	
⑪	1824	66	女	O157:H7	1,2	2014/7/5	14m0127		715575	611357	託児所関連株O-2
	1841	14	女	O157:H7	1,2	2014/7/25	14m0148		717557	211657	
	1835	26	女	O157:H7	1,2	2014/7/15	13m0694	14c021	717557	611657	
	14Y09	13	F	O157:H7	1,2	2014/8/10	13m0694	14c021	717557	611657	
⑪	14Y24	20	M	O157:H7	1,2	2014/10/11	13m0694	14c021	717557	611657	託児所関連株O-2の接触者EH
	1810	3	男	O157:H7	1,2	2014/5/10	13m0697		717557	611657	
	EH14-09	22	M	O157:H7	1,2	2014/7/24	14m0196		717557	611657	
	K141185	12	M	O157:H7	1,2	2014/7/9	13m0694	14c021	717577	611657	
⑫	T-3	10才代		O157:H7	1,2	2014/6/1	14m0088		717577	611657	託児所関連株O-2の接触者EH
	1815	1	女	O157:H7	1,2	2014/6/24	14m0129		717577	611657	
	1822	27	男	O157:H7	1,2	2014/6/24	14m0129		717577	611657	
	1823	2	男	O157:H7	1,2	2014/7/8	14m0129		717577	611657	
	1825	3	女	O157:H7	1,2	2014/7/3	14m0129		717577	611657	
	1826	6	女	O157:H7	1,2	2014/7/13	14m0129		717577	611657	
	1827	2	女	O157:H7	1,2	2014/7/14	14m0129		717577	611657	
	1838	1	女	O157:H7	1,2	2014/7/12	14m0129		717577	611657	
	1839	36	女	O157:H7	1,2	2014/7/25	14m0129		717577	611657	
	EH14-06	2	M	O157:H7	1,2	2014/7/8	14m0129		717577	611657	
	SE14012	72	男	O157:H7	1,2	2014/9/25	14m0387		717577	611657	
	SE14013	70	女	O157:H7	1,2	2014/9/29	14m0387		717577	611657	
⑬	1851	16	女	O157:H7	1,2	2014/8/25	13m0816		737575	611657	家族SE2
	1870	34	男	O157:H7	1,2	2015/1/7			未	未	
	HC-1	69	男	O157:H7	1,2	2014/7/31	13m0192				
	HC-4	12	男	O157:H7	1,2	2014/10/23	14m0434				
	T-5	10才未満		O165:H-	2	2014/8/1					
	1852	74	男	O179:H8	2	2014/8/4					
	1813	50	女	O26:H-	1	2014/6/9	13m2069				
	T-1	30才代		O26:H-	1	2014/6/1	14m2029				
	EH14-07	27	F	O26:H11	1	2014/7/22	13m2015				
	H26E086	20	男	O26:H11	1	2014/11/14	13m2021				
⑭	14Y35	1	女	O26:H11	1	*	13m2040	14c072			集団発生(保育園)Y-H
	14Y37	1	女	O26:H11	1	2014/11/5	13m2040	14c072			
	14Y38	1	男	O26:H11	1	2014/11/7	13m2040	14c072			
	14Y39	38	女	O26:H11	1	*	13m2040	14c072			
⑮	14Y06	2	M	O26:H11	1	2014/8/1	13m2123				保育園関連事例Y-U 14Y06と14Y16は同一人
	14Y07	30	F	O26:H11	1	*	13m2123				
	14Y14	1	M	O26:H11	1	2014/9/12	13m2123				
	14Y16	2	M	O26:H11	1	*	13m2123				
	14Y08	1	F	O26:H11	1	2014/8/10	13m2123				
⑯	HC-7	2	女	O26:H11	1	2014/6/26	13m2192				託児所関連株O-2の接触者EH
	1807	59	男	O26:H11	1	2014/4/20	14m2003				

(表3 つづき②)

	1816		O26:H11	1		14m2016	14c020			
	1818	2女	O26:H11	1	2014/7/6	14m2016	14c020			
	1819	2女	O26:H11	1	2014/6/30	14m2016	14c020			
	1820	3男	O26:H11	1	2014/7/3	14m2016	14c020			
	1821	1女	O26:H11	1	2014/7/2	14m2016	14c020			
	1828	3女	O26:H11	1	2014/7/7	14m2016	14c020			
	1829	2男	O26:H11	1	2014/7/8	14m2016	14c020			
	1830	2男	O26:H11	1	2014/7/8	14m2016	14c020			
	1831		O26:H11	1		14m2016	14c020			
	1832		O26:H11	1		14m2016	14c020			
	1833		O26:H11	1		14m2016	14c020			
	1834		O26:H11	1		14m2016	14c020			
	1836	2男	O26:H11	1	2014/6/15	14m2016	14c020			
	1846		O26:H11	1		14m2016	14c020			
⑮v	1817		O26:H11	1		14m2038	14c020p			保育園関連株O-1
	K141187	39M	O26:H11	1	2014/7/25	14m2039				
	HC-6	82女	O26:H11	1	2014/6/19	14m2041				
⑯	H26E063	20女	O26:H11	1	-	14m2044				家族E1
	H26E064	1女	O26:H11	1	2014/7/14	14m2044				家族E1の接触者
	H26E065	1男	O26:H11	1	2014/7/17	14m2044				
	EH14-11	22M	O26:H11	1	2014/8/4	14m2049				
	1857	4女	O26:H11	1	2014/7/29	14m2068				
	HC-8	2男	O26:H11	1	2014/8/30	14m2084				
	14Y10	21F	O26:H11	1	2014/8/18	14m2099				
	14Y21	7M	O26:H11	1	2014/9/19	14m2101				家族Y3
⑰	14Y26	3M	O26:H11	1	2014/10/27	14m2104	14c071			集団発生(認可外保育施設)Y
	14Y27	2M	O26:H11	1	2014/10/20	14m2104	14c071			
	14Y28	5F	O26:H11	1	2014/10/20	14m2104	14c071			
	14Y29	2M	O26:H11	1	2014/9/28	14m2104	14c071			
	14Y30	1F	O26:H11	1	*	14m2104	14c071			
	14Y32	22F	O26:H11	1	2014/10/18	14m2104	14c071			
	14Y22	63F	O26:H11	1	*	14m2106				家族Y3
⑱	EH14-17	2M	O26:H11	1	2014/9/20	14m2108	14c061			家族EH
	EH14-19	8M	O26:H11	1	2014/9/9	14m2108	14c061			
	EH14-20	5F	O26:H11	1	2014/9/12	14m2108	14c061			
⑱v	EH14-18	34F	O26:H11	1	2014/9/9	14m2109	14c061			
	EH14-13	17F	O26:H11	1	2014/8/14	14m2111				
⑲	14Y36	2女	O26:H11	1	*	14m2125	14c072p			集団発生(保育園)Y-H
	14Y40	40男	O26:H11	1	*	14m2125	14c072p			
⑳	14Y41	5男	O26:H11	1	2014/11/8	14m2126				家族Y4
	14Y42	3女	O26:H11	1	2014/11/2	14m2126				
㉑v	14Y25	2M	O26:H11	1	2014/10/17	14m2127	14c071			集団発生(認可外保育施設)Y
	14Y31	61M	O26:H11	1	*	14m2128	14c071			
	T-9	10才代	O26:H11	1	2014/12/1	依頼中				
	1860	4女	O26:H11	1	2014/10/7					
	1862	29女	O26:H11	1	2014/10/20					
	1863	2男	O26:H11	1	2014/10/20					
	1864	1女	O26:H11	1	2014/10/20					
	1865	61男	O26:H11	1	2014/10/20					
	KO-3	47女	O91	1,2	2014/10/17					同一人物から、
	KO-4	47女	O91	1,2	2014/11/12					陰性確認後に再検出された。
	1809	23女	O91:H14	1	2014/5/8					
	1871	25女	OUT:H	2	2015/1/17					

島根県における IS printing 法による腸管出血性大腸菌 O157 の
分子疫学解析の有用性の検討

研究協力者 島根県保健環境科学研究所

川上優太 川瀬遵

研究要旨

平成 26 年度中に島根県内で分離された腸管出血性大腸菌 O157（以下 O157） 9 株について、IS printing 法による分子疫学解析を行った。

IS printing 法による解析結果は、MLVA 法による結果と概ね一致し、各事例内ではほぼ同一の IS コードが得られた。疫学的関連のある菌株について同じ IS パターンを示したことから、IS printing 法は迅速、簡便に実施できる有用なサブタイピング法であると考えられた。

IS printing 法による解析結果はデジタルデータであり簡単に比較ができるので、広域での発生の有無を比較的迅速に探知できるシステムを構築する上でも有用であると思われる。

A. 研究目的

O157 感染症の発生時に IS printing 法を用いた分子疫学解析を行い、解析のツールとして有用であるか検討することを目的とした(表 1)。

増幅ありを「1」、増幅なしを「0」と判定、各セットとも増幅サイズの大きいバンドから順に 3 バンドごとに「1」「2」「4」の係数を乗じた数値を加算し、セット 1、セット 2 の順に 12 桁にコード化(以下 IS コード)した(表 1)。

B. 研究方法

1. 供試菌株(表 2)

平成 26 年度中に島根県内で届出のあった O157 9 株(5 事例)を用いた。

2. 方法

(1)IS printing 法

IS printing System(東洋紡)の説明書に記載された方法に準じて実施した。

電気泳動は、3%濃度の Nu Sieve GTG : SeaKem GTG=2 : 1 アガロース、0.5×TBE バッファーを用い、サブマリン型電気泳動装置で 120V 100 分を行った。

IS printing の結果は、各プライマーセットごとにスタンダード DNA と比較し、

(2) Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (以下 MLVA) 法

国立感染症研究所(以下感染研)に菌株を送付し解析を依頼した。

C. 研究結果(表 2、図 1)

島根県における平成 26 年度の O157 感染症の発生は、7 月 30 日届出から 9 月 29 日届出までの 9 件(5 事例、以下事例 A、B、C、D、E)であった。事例 A と事例 D は同一の IS コードを示したが、疫学的な関連は見いだせなかった。事例 B、C、E は、異なる IS コードを示し、疫学的な

関連は見いだせなかった。事例 A、E では事例内で複数の患者等があったが、IS コードは各事例ごとに同一であり、疫学情報と一致した。

感染研の MLVA による解析では、事例間で異なる MLVA type を示し、IS-printing の結果（事例 A と D が同じ IS コード）とは一部異なっていた。事例 A の 4 株については、MLVA type は 3 株と 1 株に分けられたが、MLVA code は同じであった。事例 E の 2 株については、2 株とも同じ MLVA type であった。

D 考察

平成 26 年度の島根県での O157 発生 5 事例のうち、2 事例で IS コードが同一だったが、MLVA type が異なっていた。IS printing 法の型別能力は MLVA 法より低いと考えられるが、疫学的関連のある菌株は概ね同じ IS コードを示しており、バンドの若干の違いについて相同性の評価ができれば、迅速、簡便に実施できるため、有用なサブタイピング法であると思われる。

IS printing 法による解析結果はデジタルなデータであり、データのやりとりやデータベース化は比較的容易である。解析結果を集約し、広域での発生の有無を比較的迅速に探知できるシステムを構築する場合でも IS printing 法は有用であると思われる。

E 結論

1. 疫学的関連のある菌株は、同じ IS コードを示しており、IS printing 法は O157 の分子疫学解析ツールとして有用である。
2. IS printing 法は比較的迅速に解析が可能であるが、各事例の発生に時間差があり、疫学的関連性についての再調査は困難であった。
3. IS printing 法による解析結果は、デジタルなデータのためデータベース化は比較的容易であり、広域での発生の有無を比較的迅速に探知できるシステムを構築する場合にも有用である。

F. 研究発表

なし

表 1 IS printing の増幅バンドサイズ及び判定のコード変換

1st set primer																		
primer No.	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	<i>eae</i>	1-16	<i>hlyA</i>
size(bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	325	300	269	241	211	185	171	139
判定例(菌株No.1)	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
係数	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
加算	└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘		
	6			1			3			5			7			7		
2nd set primer																		
primer 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	<i>stx2</i>	<i>stx1</i>
size(bp)	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151
判定例(菌株No.1)	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
係数	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
加算	└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘			└──┬──┘		
	6			1			0			6			4			6		

表2 供試菌株及び IS printing、MLVA の結果

事例	No.	届出年月日	VT	IS コード		MLVA(感染研)		備考
				Ist set	2nd set	type	code	
A	1	2014/7/30	2	245457	611242	14m170	14c53	No.1,2,3, 6は家族
	2	2014/8/2	2	245457	611242	14m170	14c53	
	3	2014/8/2	2	245457	611242	14m170	14c53	
	6	2014/8/26	2	245457	611242	14m0381	14c53	
B	4	2014/8/13	1&2	311477	611756	14m0388		
C	5	2014/8/28	1&2	307577	211757	14m0307		
D	7	2014/9/8	2	245457	611242	14m0380		
E	8	2014/9/25	1&2	717577	611657	14m0387		No.8,9は 家族
	9	2014/9/29	1&2	717577	611657	14m0387		

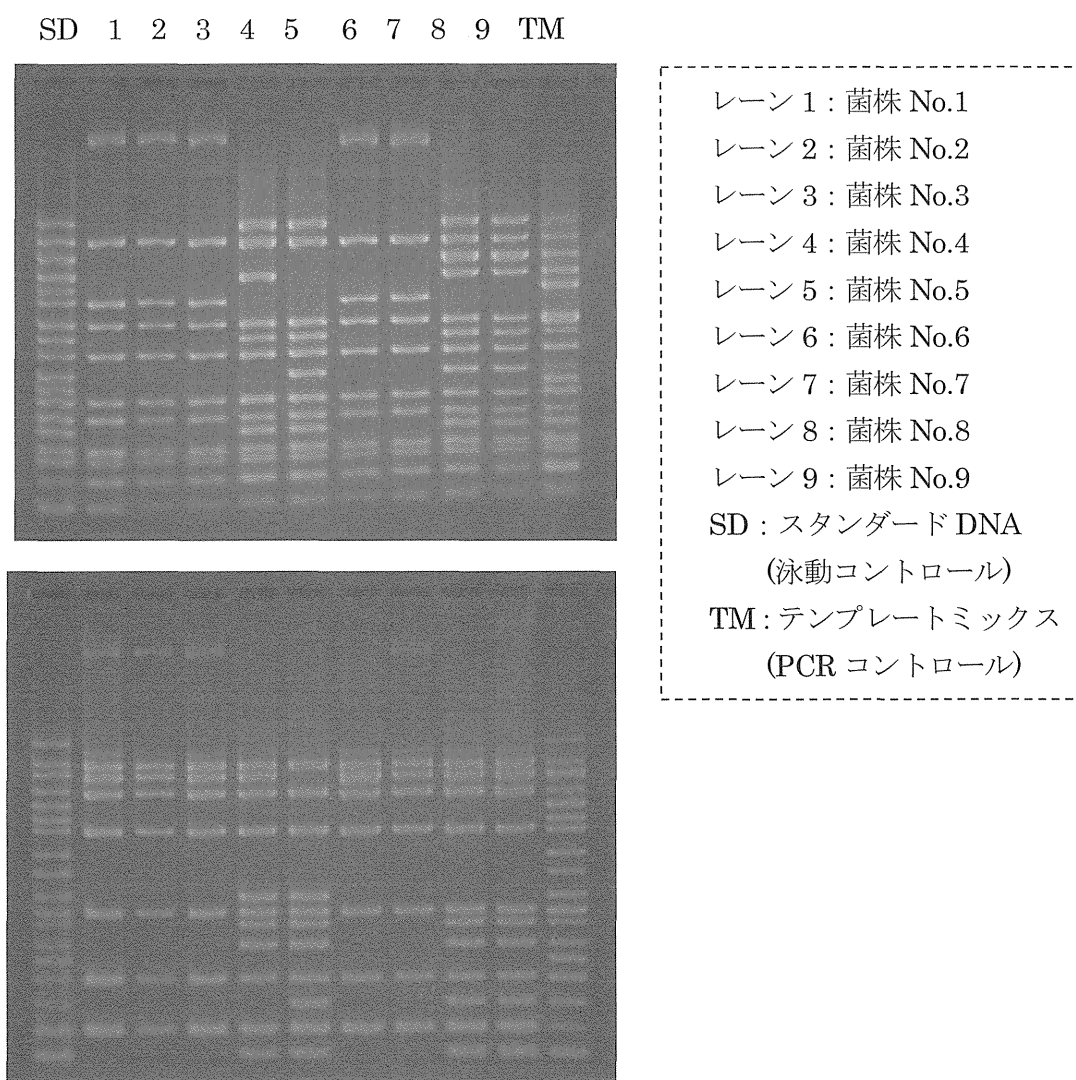


図1 IS printing の結果(上段 : 1st set、下段 : 2nd set)

広島県で分離された腸管出血性大腸菌 O157, O26, O111 における 分子疫学的解析法の検討

研究協力者 広島県立総合技術研究所保健環境センター
山田 裕子 増田 加奈子 今井 佳積

研究要旨

広島県で分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157 9 株, O26 15 株, O111 18 株について, パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法, IS-printing System (IS) 法 (O157 のみ), Multi-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法により解析した。その結果, 疫学的関連の推察される菌株間では, PFGE 法では 3 バンド以内の相違, MLVA 法ではリピート数の相違が 1 遺伝子座以内であり, 密接に関係していると解釈された。一方, 疫学情報からは関連を有しない菌株間では, MLVA 法では不一致であったが, PFGE 法では関連があると解釈される結果が得られた事例が存在し, MLVA 法の方がより正確に遺伝学的差異を識別可能な場合もあると考えられた。MLVA 法は, PFGE 法に比べ短時間で結果が得られ, データの数値化により結果の比較が容易であることから, EHEC の主要な血清群である O157, O26, O111 を対象とした, 迅速な分子疫学的解析法として有用であることが示された。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (EHEC) の分子疫学的解析法として, 従来からパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法が用いられているが, 近年, 迅速性・簡便性に優れた IS-printing System (IS) 法や Multi-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法が開発され, その有用性が報告されている。また, 国立感染症研究所における DNA 型別解析は, 本年度より, EHEC O157, O26, O111 に対しては, PFGE 法から MLVA 法に変更されている。今回, O157, O26, O111 を対象とした 17 Locus の MLVA 法について, 県内で分離された菌株を用いて解析を行い, 菌株間の疫学的関連性の検討および PFGE 法, IS 法との比較を行った。

B. 研究方法

1. 供試菌株

広島県内で分離され, 当センターへ搬入された EHEC O157 9 株 (2014 年), O26 15 株 (2013~14 年), O111 18 株 (2000~13 年) を用いた。各菌株および患者の概要を表 1 に示した。

2. 方法

(1) PFGE 法

国立感染症研究所の方法¹⁾に準拠した。制限酵素は *Xba* I (TaKaRa) を用い, 電気泳動は BIO-RAD CHEF MAPPER (Bio-Rad) を用いて 6V/cm, パルスタイム 2.16-63.8 秒, 14°C の条件で 18 時間行った。PFGE パターンは, BioNumerics Ver.6.6 (Applied Maths) を用い, Dice および UPGMA によりクラスター解析を行

った。バンドパターンの相違数が3以内を同一クラスターとして分類した。

(2) IS 法

IS-printing System (東洋紡) を用い、取扱説明書に従って実施した。判定は、2種類のプライマーセット (1st set, 2nd set) ごとに、増幅ありを「1」、増幅なしを「0」とし、増幅サイズの大きいバンドから順に3バンドごとに「1」、「2」、「4」の係数を乗じた数値を加算して、1st set, 2nd set の順に並べ、12桁のISコードとした。

(3) MLVA 法

Izumiya ら²⁾の方法に従い、O157-10を除いた17ヶ所のLocusについて解析した。QIAGEN Multiplex PCR Kit (QIAGEN) を用いて各検体2セットのPCR反応を実施し、3500 Genetic Analyzer (Applied biosystems) および Gene Mapper Software 5 (Applied biosystems) を用いてフラグメント解析を行った。Fragment size marker は GeneScan 600 LIZ Size Standard v2.0 (Applied biosystems) を使用した。また、代表的なフラグメントについて、Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied biosystems) を用いてシーケンスを行い、各Locusのリピート数を確認した。なお、フラグメント解析によりピークが認められない場合は、「-2」とした。また、リピート数の相違が1遺伝子座以内 [Single locus variant (SLV)] を同一グループとして分類した。

C. 研究結果

1. EHEC O157 の解析結果

(1) PFGE 法

2014年に県内で分離されたEHEC O157 9株は、PFGE法によりすべて異なるパターンを示したが、14-06、-10、-16

は3バンド以内の相違で、類似度90.0%の同一クラスターに分類された (クラスター I a) (図1)。これらの9株は、疫学情報からは関連性は認められなかった。

(2) IS 法

EHEC O157 9株は、すべて異なるISコードを示した (表2)。

(3) MLVA 法

EHEC O157 9株は、MLVA法において、17ヶ所の遺伝子座のうちリピート数の相違が1 (SLV) または2 [Double locus variant (DLV)] の株は認められなかった (表2)。

2. EHEC O26 の解析結果

(1) PFGE 法

2013年から2014年に分離されたEHEC O26 15株は、PFGE法により8パターンに型別され、6つのクラスターに分類された (図2)。同一家族由来の菌株間では、13-23/-24/-25の3株は1バンド以内の相違で、類似度95.2%の同一クラスター (I b)、13-26/-27/-31の3株はパターンが一致 (I b)、14-17~20の4株は1バンド以内の相違で、類似度95.5%の同一クラスター (II b) に分類された。一方、13-23/25と13-26/-27/-31は異なる家族であるが、PFGEパターンが完全に一致した (I b)。また、13-17、-18は疫学情報からは関連は不明であるが、PFGEパターンが一致した (III b)。

(2) MLVA 法

O26 15株は、MLVA法により6つのグループに分類された (表3)。家族内事例 (13-23~25, 13-26/-27/-31, 14-17~20) では、それぞれ菌株間のリピート数の相違が1遺伝子座以内 (SLV) であり、同一グループに分類された。また、PFGE法での

結果と同様に、13-23～-25 と 13-26/ -27/ -31 は異なる家族であるが、すべての遺伝子座でリピート数が一致し (complex B)、疫学的関連が不明の 13-17, -18 も完全に一致した (A)。

3. EHEC O111 の解析結果

(1) PFGE 法

2000年から2013年に分離された EHEC O111 18 株は、PFGE 法により 13 パターン、8つのクラスターに型別された(図3)。家族内事例では、00-28/ -29 (IIIc) および 00-33/ -34 (IIIc) は PFGE パターンが一致、09-40/ -42 は 2 バンドの相違で類似度 91.3% (Ic)、08-62/ 08-64 は 2 バンドの相違で類似度 90.9% (IVc) のクラスターを形成した。また、疫学情報からは関連が認められなかった株については、00-23, 02-8, 05-32, 08-8 が 3 バンド以内の相違で類似度 86.1%の同一クラスター (IIc)、00-9, 00-28/ -29, 00-33/ -34, 01-8 が 2 バンド以内の相違で類似度 90.9%の同一クラスター (IIIc) に分類された。

(2) MLVA 法

EHEC O111 18 株は、14 のグループに分類された(表4)。家族内事例の 00-28/ -29 (a)、00-33/ -34 (b)、08-62/ 08-64 (c)、09-40/ -42 (d) は、それぞれ SLV 以内の同一グループに分類された。その他、疫学情報からは関連を有しない菌株間では、00-33/ -34 と 01-8 が DLV の関係であったが、その他の菌株では関連は認められなかった。

D. 考 察

広島県内で分離された EHEC O157 9 株、O26 15 株、O111 18 株を PFGE 法および

MLVA 法により解析した。O157 については、IS 法を加えた 3 法により解析した。

国立感染症研究所の示した分類では、PFGE 法においては、バンドの相違数が 0 の場合は一致、2-3 は密接に関係、4-6 は関係する可能性がある、7 以上は不一致と解釈し³⁾、MLVA 法においては、相違する部位数が 0 の場合は一致、1 (SLV) は密接に関係、2 (DLV) は関係する可能性がある、3 以上は不一致と解釈する。2014 年に県内で分離された EHEC O157 9 株は、疫学情報からは関連性が認められなかったが、PFGE 法では 14-06, -10, -16 が 3 バンド以内の相違で関連があると解釈される結果であった。一方、IS 法および MLVA 法ではいずれの株も分子疫学的にも不一致という結果であった。これらの株は分離地域や時期も異なることから、疫学的関連を有する可能性は低いと考えられる。2014 年度は、県内では、例年に比べて O157 の検出数が少なく、集団発生や広域散在発生の疑われる事例は存在しなかった。

EHEC O26 については、2013～14 年の 2 年間に分離された 15 株を PFGE 法、MLVA 法により解析した。その結果、同一家族由来の菌株間 (13-23～-25, 13-26/ -27/ -31, 14-17～-20) では、PFGE 法ではそれぞれ 1 バンド以内の相違で類似度も 95% 以上と高い値であり、MLVA 法においても SLV 以内であった。したがって、密接に関係していると解釈され、分子疫学的にも、分離菌株はそれぞれ関連があることが示された。また、疫学情報からは関連を有しない株について、13-23/ -25 と 13-26/ -27/ -31 は異なる家族由来であるが、PFGE パターンが一致し、MLVA 法でも SLV 以内の同一グループに分類された。これらの菌株は同地域で近い時期に分離されていることか

ら、関連を有する可能性が示唆された。また、疫学的関連が不明の 13-17, -18 についても、PFGE パターン、MLVA リポート数が完全に一致しており、同時期に同地域で分離されていることから、関連している可能性が高いと考えられた。

EHEC O111 については、2000～13 年の 14 年間に分離された 18 株について、PFGE 法、MLVA 法により解析を行った。家族内事例 (00-28/ -29, 00-33/ -34, 08-62/ -64, 09-40/ -42) では、PFGE 法では 2 バンド以内の相違で類似度は 90%以上、MLVA 法においてはそれぞれ SLV 以内であったことから、これらの菌株はそれぞれ密接に関係していることが示された。一方、疫学情報からは関連が見られない 00-23, 02-8, 05-32, 08-8 は、PFGE 法において、関係があると解釈される 3 バンド以内の相違であったが、MLVA 法では不一致であった。これらの株は分離時期が 2 年以上離れており、地域も異なることから、疫学的関連を有する可能性は低いと考えられる。さらに、00-9, 00-28/ -29, 00-33/ -34, 01-8 は PFGE パターンが 2 バンド以内の相違であり、00-28/ -29 と 00-33/ -34 については、分離時期が近いこと、関連を有する可能性も示唆される。また、00-33/ -34 と 01-8 は MLVA 法においても DLV の関係であったことから、遺伝学的には近縁であると考えられるが、分離時期や地域は離れており、疫学的関連は不明である。

PFGE 法と MLVA 法の 2 法を比較すると、今回の結果では、同一家族由来の菌株ではすべて、関連があると解釈される結果が得られたことから、疫学的関連が推察されるグループ内では、2 法は同等の解析能力を有していると考えられた。一方、疫学情報からは関連が認められない菌株間で、

EHEC O157 および O111 では PFGE パターンの相違が 3 バンド以内であった事例が存在した。それに対し、MLVA 法において SLV 以内の株では、PFGE 法でも 2 バンド以内の相違で関連があると解釈される結果が得られ、疫学情報ともほぼ一致した。PFGE 法は分子疫学的解析法の標準法であるが、今回の結果では、MLVA 法の方が、より正確に遺伝学的差異を識別可能な場合もあると考えられた。分子疫学的解析を行う際には、疫学情報を十分考慮することが重要であり、必要に応じて、PFGE 法と MLVA 法を組み合わせることにより、より正確な判定をすることが可能であると考えられる。また、EHEC O157 については、IS 法も加えて 3 法での比較を行ったが、MLVA 法と IS 法の結果は一致し、いずれの株も関連性は認められなかったのに対し、PFGE 法による解析結果では、関連が示唆される株が存在した。今回用いた O157 の菌株はすべて疫学情報からは関連を有しない株であったため、今後、さらなるデータの蓄積が必要である。

本研究により、当センターにおいても EHEC O157, O26, O111 に対する MLVA 法の有用性が確認された。MLVA 法は、PFGE 法に比べ、短時間で結果が得られ、データを数値化できるため、結果の比較が容易であった。したがって、施設間でのデータ共有が可能であり、広域発生事例を探知する上で優れていると考えられる。IS 法が現段階では EHEC O157 に限定されるのに対し、MLVA 法は、EHEC の主要な 3 血清群を対象としていることから、有用な分子疫学的解析法であると考えられた。

E. 結論

EHEC O157, O26, O111 の分子疫学的

解析法として、PFGE 法、MLVA 法、O157 については IS 法も加えて検討した。その結果、MLVA 法は迅速性に優れ、PFGE 法と同等、もしくはより正確に遺伝学的差異を識別可能な、有用な疫学的解析法であると考えられた。

F. 研究発表

なし

G. 参考文献

- 1) 寺嶋淳 他(2004): 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究. 平成 15 年度総括・分担研究報告書, 10-21.
- 2) Izumiya H. et al. (2010): Microbiol Immunol, 54: 569- 577.
- 3) Tenover FC. et al. (1995): J Clin Microbiol, 33(9): 2233-2239.

表 1 供試菌株および患者の概要

菌株番号	届出年月日	地域	年齢	性別	血清型	毒素型	疫学情報
14-06	2014/7/8	A	2	男	O157:H7	VT1,2	
14-08	2014/7/22	A	80	女	O157:H-	VT1,2	
14-09	2014/7/24	B	22	男	O157:H7	VT1,2	
14-10	2014/7/28	B	16	男	O157:H7	VT1,2	
14-12	2014/7/30	A	28	男	O157:H7	VT2	
14-14	2014/8/8	A	75	女	O157:H7	VT2	
14-15	2014/8/21	A	31	女	O157:H7	VT2	
14-16	2014/8/30	A	72	男	O157:H7	VT1,2	
14-21	2014/10/3	C	82	女	O157:H7	VT2	
13-17	2013/7/11	D	28	女	O26:H11	VT1	
13-18	2013/7/11	D	37	女	O26:H11	VT1	
13-23	2013/8/10	A	5	男	O26:H11	VT1	
13-24	2013/8/14	A	29	女	O26:H11	VT1	13-23の家族
13-25	2013/8/14	A	1	女	O26:H11	VT1	13-23の家族
13-26	2013/8/20	A	3	男	O26:H11	VT1	
13-27	2013/8/23	A	27	女	O26:H11	VT1	13-26の家族
13-31	2013/8/28	A	1	女	O26:H11	VT1	13-26の家族
14-07	2014/7/22	D	27	女	O26:H11	VT1	
14-11	2014/8/4	D	22	男	O26:H11	VT1	
14-13	2014/8/14	D	17	女	O26:H11	VT1	
14-17	2014/9/20	B	2	男	O26:H11	VT1	
14-18	2014/9/9	B	34	女	O26:H11	VT1	14-17の家族
14-19	2014/9/9	B	8	男	O26:H11	VT1	14-17の家族
14-20	2014/9/12	B	5	女	O26:H11	VT1	14-17の家族
00-9	2000/6/22	E	6	女	O111:H-	VT1,2	
00-23	2000/8/3	E	4	男	O111:H-	VT1	
00-28	2000/8/19	D	1	女	O111:H-	VT1,2	
00-29	2000/8/25	D	6	女	O111:H-	VT1,2	00-28の家族
00-33	2000/8/24	A	8	男	O111:H-	VT1,2	
00-34	2000/8/27	A	36	女	O111:H-	VT1,2	00-33の家族
01-8	2001/5/11	D	2	女	O111:H-	VT1,2	
02-8	2002/5/15	F	2	男	O111:H-	VT1,2	
05-32	2005/8/30	D	1	女	O111:H-	VT1	
08-8	2008/5/20	E	23	男	O111:HUT	VT1	
08-21	2008/7/23	D	21	男	O111:HUT	VT1,2	
08-62	2008/10/1	B	2	女	O111:H-	VT1,2	
08-64	2008/10/6	B	66	女	O111:H-	VT1,2	08-62の家族
09-9	2009/5/14	D	3	女	O111:HUT	VT1,2	
09-40	2009/9/1	D	4	男	O111:HUT	VT1	
09-42	2009/9/6	D	5	男	O111:HUT	VT1	09-40の家族
13-28	2013/9/6	C	36	女	O111:H-	VT1	
13-38	2013/10/31	A	9	男	O111:H-	VT1,2	

表 2 EHEC O157 の MLVA,IS 法による解析結果

菌株番号	MLVA repeat-numbers																ISコード ^c		
	O157-3	O157-9	O157-25	O157-34	EH157-12	EH111-11	EH111-8	EHC-1	EHC-2	EHC-5	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	EH26-7	EH111-14	EHC-6	1st	2nd
14-06	10	12	6	12	4	2	1	5	5	2	7	6	3	5	-2	-2	11	717577	611657
14-08	10	14	7	9	4	2	1	9	5	-2	4	10	4	3	-2	-2	-2	311057	310457
14-09	12	9	5	12	4	2	1	6	4	10	6	6	12	7	-2	-2	-2	717557	611657
14-10	13	12	5	11	4	2	1	5	4	-2	10	6	14	7	-2	-2	-2	707557	611657
14-12	9	20	4	9	6	2	1	12	4	-2	4	7	10	6	-2	-2	-2	245457	611242
14-14	4	-2	3	9	4	2	1	12	5	-2	5	7	6	5	-2	-2	-2	012057	214442
14-15	7	8	3	9	1	2	1	7	5	2	3	5	7	6	-2	-2	-2	114057	303443
14-16	13	11	5	13	5	2	1	6	4	-2	6	6	5	7	-2	-2	-2	317577	211757
14-21	14	10	4	9	6	2	1	3	5	-2	7	8	-2	9	-2	-2	-2	345457	311652

表 3 EHEC O26 の MLVA 法による解析結果

菌株番号	MLVA repeat-numbers																MLVA complex	
	O157-3	O157-9	O157-25	O157-34	EH157-12	EH111-11	EH111-8	EHC-1	EHC-2	EHC-5	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	EH26-7	EH111-14		EHC-6
13-17	-2	9	2	1	2	2	1	7	12	7	-2	1	-2	-2	4	1	-2	A
13-18	-2	9	2	1	2	2	1	7	12	7	-2	1	-2	-2	4	1	-2	
13-23	-2	9	2	1	2	2	1	9	16	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	
13-24	-2	9	2	1	2	2	1	9	16	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	B
13-25	-2	9	2	1	2	2	1	9	16	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	
13-26	-2	9	2	1	2	2	1	9	16	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	
13-27	-2	9	2	1	2	2	1	9	16	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	
13-31	-2	9	2	1	2	2	1	9	16	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	C
14-07	-2	8	2	1	2	2	1	12	14	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	
14-11	-2	10	2	1	2	2	1	8	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	8	
14-13	-2	11	2	1	2	2	1	12	15	2	-2	1	-2	2	3	1	17	
14-17	-2	11	2	1	2	2	1	8	15	14	-2	1	-2	-2	2	1	-2	
14-18	-2	11	2	1	2	2	1	8	15	-2*	-2	1	-2	-2	2	1	-2	
14-19	-2	11	2	1	2	2	1	8	15	14	-2	1	-2	-2	2	1	-2	
14-20	-2	11	2	1	2	2	1	8	15	14	-2	1	-2	-2	2	1	-2	

*太字はsingle locus variantを示す

表 4 EHEC O111 の MLVA 法による解析結果

菌株番号	MLVA repeat-numbers																MLVA complex	
	O157-3	O157-9	O157-25	O157-34	EH157-12	EH111-11	EH111-8	EHC-1	EHC-2	EHC-5	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	EH26-7	EH111-14		EHC-6
00-9	-2	8	2	3	2	4	5	7	9	-2	-2	1	-2	9	-2	1	3	a
00-23	-2	14	2	3	2	4	5	12	9	-2	-2	1	-2	5	-2	1	3	
00-28	-2	12	2	3	2	4	5	8	8	-2	-2	1	-2	-2	-2	1	3	
00-29	-2	11*	2	3	2	4	5	8	8	-2	-2	1	-2	-2	-2	1	3	
00-33	-2	10	2	3	2	4	5	11	9	-2	-2	1	-2	8	-2	1	3	b
00-34	-2	10	2	3	2	4	5	11	9	-2	-2	1	-2	8	-2	1	3	
01-8	-2	8	2	3	2	4	5	11	8	-2	-2	1	-2	8	-2	1	3	c
02-8	-2	12	2	3	2	4	5	14	9	2	-2	1	-2	12	-2	1	3	
05-32	-2	13	2	3	2	5	5	13	9	7	-2	1	-2	12	-2	1	3	
08-8	-2	14	2	3	2	4	5	16	9	-2	-2	1	-2	10	-2	1	3	
08-21	-2	10	2	3	2	4	5	10	8	-2	-2	1	-2	10	-2	1	3	
08-62	-2	13	2	3	2	4	5	10	10	9	-2	1	-2	10	-2	1	3	
08-64	-2	13	2	3	2	4	5	10	10	9	-2	1	-2	10	-2	1	3	
09-9	-2	6	2	3	2	3	9	9	11	10	-2	1	-2	11	-2	1	6	d
09-40	-2	12	2	3	2	4	5	13	9	9	-2	1	-2	6	-2	1	3	
09-42	-2	12	2	3	2	4	5	13	9	9	-2	1	-2	6	-2	1	3	
13-28	-2	9	2	3	2	3	13	9	18	-2	-2	1	-2	9	-2	1	3	
13-38	-2	10	2	3	2	4	5	22	10	-2	-2	1	-2	10	-2	1	3	

*太字はsingle locus variantを示す

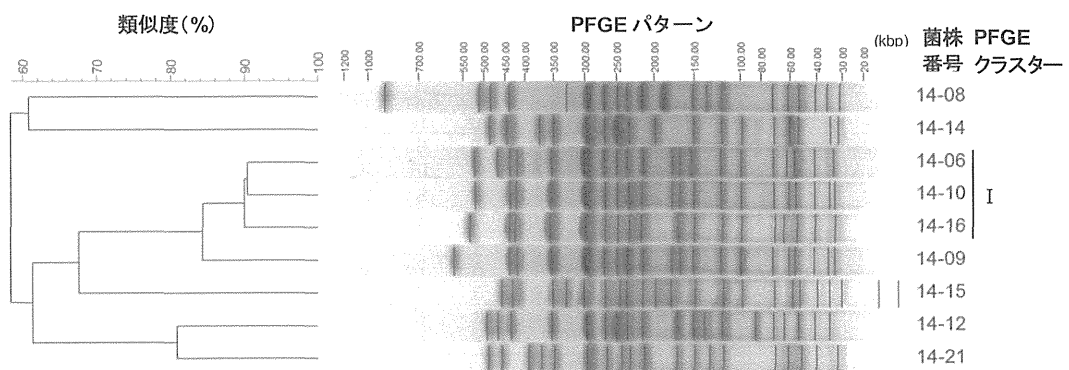


図1 EHEC O157 の PFGE クラスタ

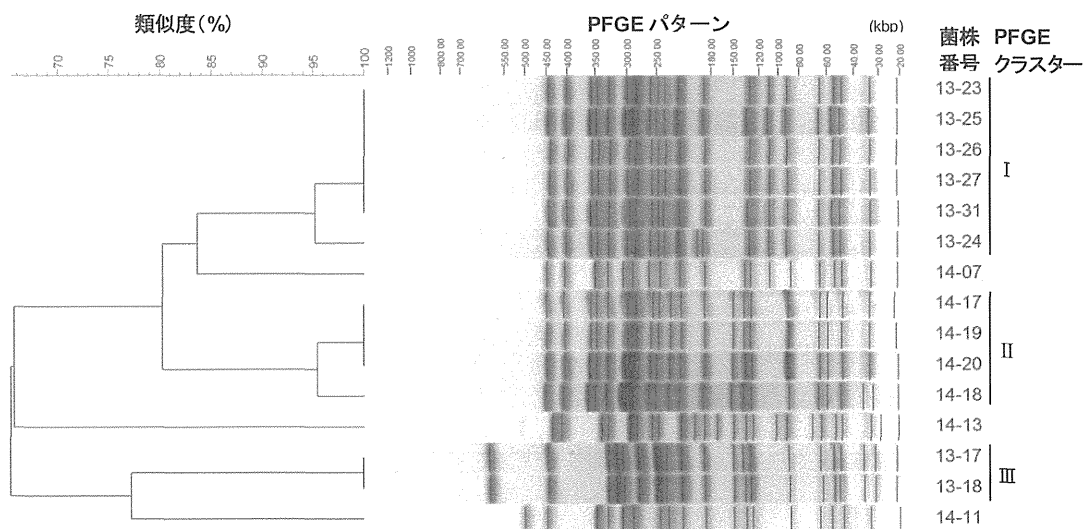


図2 EHEC O26 の PFGE クラスタ

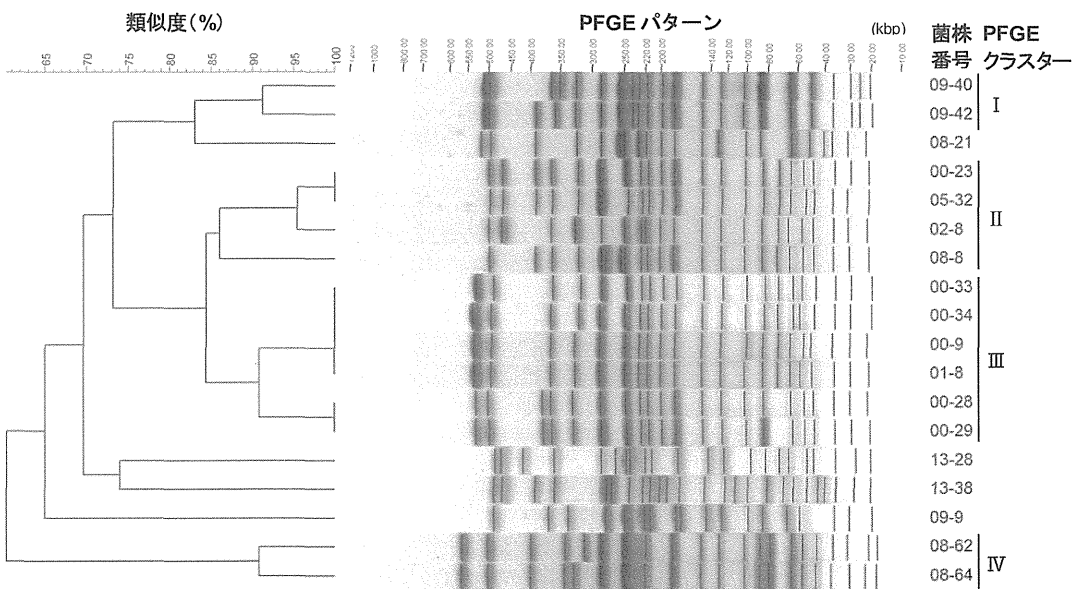


図3 EHEC O111 の PFGE クラスタ

VT1 産生腸管出血性大腸菌 O26:H11 株の分子疫学的解析

研究協力者 広島市衛生研究所

田内 敦子 千神 彩香 築地 裕美 児玉 実 石村 勝之

研究要旨

2008 年から 2014 年までに広島市内で分離された VT1 産生腸管出血性大腸菌 O26:H11 51 株について、分子疫学的解析法であるパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) および Multi-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) を実施し、その解析結果を比較したところ、同数のクラスターを形成したことから両解析法の型別能が同等であることが確認された。また PFGE で同一クラスターを形成した菌株は MLVA でも結果がほぼ一致しており、同時期に発生した散発事例間や集団事例内の菌株を迅速に比較する手段として、MLVA は有用である。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (EHEC) O26 の Multi-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) を検討し、型別能についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) との比較を行った。

B. 研究方法

1. 材料

2008 年から 2014 年までに広島市内で分離された VT1 産生 EHEC O26:H11 51 株を用いた。

2. 方法

(1) PFGE

制限酵素 *Xba*I を用い、国立感染症研究所 (感染研) で示された方法に準拠して行った。Fingerprinting II (Bio-Rad) を用いて解析を行い、Dice 法 (最適化:0.0%、トレランス:1.0%) による相似係数を算出し、平均距離法 (UPGMA) により系統樹を作成した。

(2) MLVA

フラグメント解析は 3500 Genetic

Analyzer (Applied Biosystems 社) および Gene Mapper (Applied Biosystems 社) を用い、7 カ所の VNTR 領域について解析を行った^{1),2)}。Fragment size marker は GeneScan™ 600 LIZ® Size Standard, Ver. 2.0 (Applied Biosystems 社) を使用した。また一部の検体について、上記シーケンサーを使用して PCR 産物のシーケンス解析を行い、繰り返し回数 (RN) を確認した。プライマーと蛍光標識については表 1 のように設定した。

C. 研究結果

1. PFGE の解析結果

1 バンド違いで類似度 95%以上のクラスターを 1 とすると、PFGE では 24 のクラスターを形成した。

2. MLVA の解析結果

7 カ所の VNTR 領域全てで RN が一致するものを 1 とすると、MLVA においても 24 のクラスターを形成した。

3. PFGE と MLVA の結果の比較

PFGE でパターンが一致、あるいは同一クラスターを形成した菌株は、MLVA RN もほぼ一致していたが、菌株番号 10055～10058 は PFGE でパターンが一致したものの、MLVA では EHC-1 の RN が 1 違っていた。また反対に菌株番号 10011～10015 および 11008～11010 は、MLVA RN は全て一致していたが、PFGE では分離年ごとにクラスターを形成し、その間で 3～4 バンドの違いがみられた。

D. 考 察

当所では昨年度から EHEC O26 の MLVA を検討している。今回は 2008 年に遡り、2014 年までに本市で分離された 51 株の PFGE と MLVA の結果を比較した。すると、両解析法において同数のクラスターを形成したことから、O26 菌株の分子疫学解析において MLVA は PFGE と型別能が同等であることが確認され、感染研等が示す結果と一致した。

また PFGE で同一パターンあるいは同一クラスターを形成した菌株は、MLVA RN もほぼ一致しており、迅速に事例間の関連性を検討する上での MLVA の有用性が認められた。しかし中には PFGE ではパターンが一致しているものの MLVA で EHC-1 の RN が 1 違っている例もみられた。これらの菌株は、家族内感染およびその陰性確認で分離されたものであるため、MLVA RN が一部違っていても同一感染源であると推察されるが、このような 1 か所の VNTR 領域で違いがみられる菌株間の関連性を検討する場合は、疫学的情報がより一層重要である。

一方で MLVA RN は一致しているが、PFGE では異なるクラスターを形成した例があった。これらは 7 か所の VNTR 領域の内 4 か所でしか PCR 産物が得られず、また PFGE のクラスターは菌株分離年ごとに形成されていた。従って MLVA RN が一致していても分離時期が離れている場合や、増幅されている領域が少ない場合などは、注意が必要である。

フラグメント解析をする中で、オフセット値よりも低分子量側にピークが出たり、アレルを設定した箇所より数 bp ずれてピークを検出したものがあった。これらの PCR 産物をシークエンスしたところ、繰り返し配列は確認でき、オフセット領域が一部欠損しているために生じたずれであることが判明した。MLVA RN のみで結果を示すと表れてこないが、同じ RN でもオフセット領域のこのような違いが型別の一つの特徴となる場合があると考えられる。

E. 結論

1. 2008 から 2014 年までに広島市内で分離された EHEC O26 菌株の PFGE および MLVA による解析結果を比較したところ、同数のクラスターを形成したことから、両法の型別能は同等であることが確認された。

2. PFGE で同一クラスターを形成した菌株は MLVA RN もほぼ一致しており、同時期に発生した散发事例間や集団事例内の菌株を迅速に比較する手段として、MLVA は有用である。

3. オフセット領域に一部欠損がみられる菌株が認められた。