

平成 29 年度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

「食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」

研究分担報告書

研究代表者	泉谷秀昌	国立感染症研究所	細菌第一部
研究分担者	伊豫田 淳	国立感染症研究所	細菌第一部
研究協力者	李 謙一	国立感染症研究所	細菌第一部
研究協力者	大西 真	国立感染症研究所	細菌第一部
研究協力者		地方衛生研究所	

研究要旨 BioNumerics(BN) server によるオンラインシステムのデータベースの継続的な運用を行った。2017 年に分離された EHEC について MLVA および PFGE 解析を行い、その遺伝子型別に基づいて分離株の動向について調べた。EHEC 0157 1581 株、026 686 株、0111 122 株について MLVA 法を用いて解析し、それぞれ、581、243、49 のタイプが同定された。このうち、2 株以上検出された型は 0157 で 201 (35%)、026 で 92 (38%)、0111 で 16 (33%) であった。本年は上記 3 血清群のほか 0103、0121、0145、0165、091 の 5 血清群 303 株を解析し 132 のタイプが同定された。解析した EHEC 株のうち、5 地研以上で検出された MLVA コМПレックスもしくはタイプに含まれる株は 714 株であった。当該コンプレックスは 0157 11 種類、026 2 種類、0121 2 種類であり、コンプレックスに含まれない広域タイプは 0157 で 7 種類、0103、0121、0145 で各 1 種類であった。PFGE は 313 株を解析し、0146、0115 などにおいて一部集団事例を含むクラスターが観察された。複数の地研で同一の MLVA 型を示す株、もしくはコンプレックスに含まれる株が検出された場合には関係機関、もしくは研究分担者を介して情報を提供し注意喚起を行った。広域株には集団事例に関連するものも含まれたが、一方で疫学的な関連性が不明の株もあり、今後も引き続き病原体情報の迅速な提供、共有について検討の必要があると考えられた。

A. 研究目的

細菌性食品由来感染症への対応においては、患者から分離された菌株の解析から得られる病原体情報に基づいた菌株同士の類縁性の比較、さらに食品等の推定原因材料からの分離菌株の病原体情報との比較、そして得られた情報の迅速な共有化が重要で

ある。

こうした病原体情報という科学的エビデンスに基づく事例対応および感染症対策に資するため、病原体情報に関する解析手法並びに情報共有化システムの構築が本研究の目的である。

本研究では特に EHEC 感染症の中でも発

生頻度の高い主要 3 血清群 (0157, 026, 0111) を対象に、multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)法を用いて解析し、類縁菌株の情報取得、複数の機関で検出される所謂広域株の解析、及び情報共有について検討を行った。本年はさらに血清群 0103、0121、0145、0165、091 (追加 5 血清群) についても MLVA 法を実施した。

## B. 研究方法

平成 29 年に感染研に送付された腸管出血性大腸菌に対して PFGE 解析および MLVA を行った。解析結果のデータベース化を BioNumerics (Applied Maths 社)により行った。結果については、電子メールにより菌株送付機関に還元した。広域事例が疑われる場合には、必要に応じて、電子メールにより全国 6 ブロックの研究分担者を介して各地方衛生研究所への配信および／もしくは、食中毒調査支援システム (NESFD)において情報共有を行った。

MLVA については Izumiya ら (2008)に記載の遺伝子座を用いて、PFGE については Pulsenet International に準拠した方法で解析した。追加 5 血清群については上記 MLVA 法に 23 遺伝子座を追加した方法で実施した。

## C. 研究結果

平成 26 年度より EHEC3 大血清群 (0157、026 及び 0111) については MLVA を実施し、その一部について PFGE 解析を実施している。(なお、本結果は平成 29 年分離株で平成 30 年 2 月 23 日におけるものである。)

### 1. PFGE

313 株を解析した。MLVA を実施した 8 血清群については、0157 23 株、026 7 株、0103 91 株、0121 19 株、0145 12 株、0165 2 株、091 14 株であった。上記以外の血清群 145 株のうち、菌株数が多かった血清群は 0146 21 株、0115 17 株であった。BN サーバーに結果を登録しクラスター解析を行った。0146 については 7-8 月にかけて中四国ブロックにおいてクラスターが見られた。0115 については 8 月に発生した集団事例株が含まれていた。

### 2. MLVA

EHEC 0157 1581 株、026 686 株、0111 122 株を MLVA で解析した。それぞれ、581、243、49 のタイプが同定された。このうち、2 株以上検出された型は 0157 で 201 (35%)、026 で 92 (38%)、0111 で 16 (33%) であった。追加 5 血清群 305 株を解析し、132 のタイプが同定された。

### 3. 広域株の解析

MLVA では、得られた型から関連が疑われるタイプ同士をコンプレックスとして包括している。平成 29 年分離、解析した EHEC 株のうち、5 地研以上で検出された MLVA コンプレックスもしくはタイプに含まれる株は 714 株であった。このうちコンプレックスは 15 種類 (0157 が 11 種類、026 が 2 種類、0121 が 2 種類) であり、コンプレックスに含まれない広域タイプとしては 10 種類 (0157 で 7 種類、0103、0121、0145 でそれぞれ 1 種類) であった (表 1 および表 2)。

このうち、関与した機関数の多い上位 5 種類のコンプレックス 17c013、17c201、17c027、17c044、17c050 の検出状況ならびに MLVA 型に基づく minimum spanning tree は図 1 に示すとおりである。このうち、

17c013 は 8 月に発生した複数の集団事例関連株を含んでいた。

#### 4. 広域株に関する情報提供

複数地研で共通の MLVA タイプもしくはコンプレックスが検出された場合には、検出菌株リストおよび MLVA 型間の関係を示す minimum spanning tree (MST) をまとめ、関係機関に還元した。必要に応じて NESFD に掲示版を利用して情報共有を行った。広域株については IS-printing system および PFGE 解析に関する病原体情報をブロック代表研究分担者より収集し、全国 6 ブロックの研究分担者を介した各ブロックの地研への情報提供を行った (図 2)。平成 29 年度は NESFD 掲示版に掲載した「お知らせ」についても回覧し、情報共有を行った。

#### D. 考察

平成 26 年度から稼働し始めた EHEC 主要 3 血清群、並びに本年度から導入した追加 5 血清群の MLVA の結果から、集団事例、家族内事例における病原体情報の一致もしくは類似が認められ、本法の事例解析の有用性が示された。

2 株以上検出された MLVA タイプは全タイプの 35% であった。これは菌株数にして解析株の 76% に達する。これらは病原体情報から、互いに何らかの関連性を有していることを示唆している。

MLVA の結果は広域株の探知にもつながった。5 地研以上から検出された MLVA コンプレックス/タイプは 24 種類であった。広域株には集団事例関連株も含まれた。各事例において病原体解析結果によって関連性が示され、事例の全体像の把握ならびに行政対応につながった。また、広域株には互いの

疫学的関連性が不明の菌株も含まれており、病原体情報の迅速な解析と還元および共有をより一層推し進める必要があると考えられる。

#### E. 結論

EHEC 感染症における MLVA 法を活用することで、より迅速に病原体情報が獲得され、その情報還元および共有が図られることが期待された。

現在 EHEC 感染症では MLVA 法、IS-PS 法、および PFGE 法が利用されている。今後も各解析法の長所を生かし、迅速な情報共有に結び付けて感染源の究明に努めることが肝要である。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1) 誌上発表

1. 泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、伊豫田淳、大西真：2016年に分離された腸管出血性大腸菌0157、026および0111株のMLVA法による解析。IASR、第38巻、100-101、2017年5月

2. 石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真：腸管出血性大腸菌non-0157/026/0111広域感染事例の分子疫学解析、2016年。IASR、第38巻、101-102、2017年5月

3. 李謙一、石原朋子、泉谷秀昌、伊豫田淳、大西真：全ゲノム配列解析を用いた腸管出血性大腸菌の分子疫学解析。化学療法の領域、第33巻第7号、1467-1471、2017年7月

##### 2) 学会発表等

泉谷秀昌、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真：2016年における腸管出血性大腸菌

0157・026・0111 の分子疫学解析。第 38 回  
日本食品微生物学会学術総会、2017 年 10 月、  
徳島県徳島市。

泉谷秀昌：腸管出血性大腸菌の MLVA 解析に  
ついて。平成 29 年度 地域保健総合推進事  
業 腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会、  
2017 年 10 月、東京都。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

表 1. 2017 年広域コンプレックス検出状況（5 機関以上）

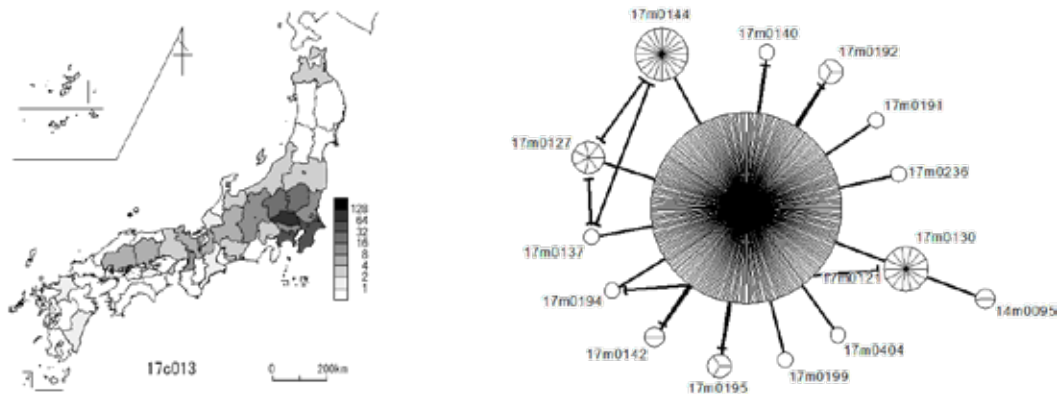
コンプレックス	株数	機関数	都道府県数	0 群	VT 型
17c013	313	36	25	0157	VT2
17c201	49	20	17	026	VT1
17c027	48	19	15	0157	VT1+VT2
17c049	47	5	4	0157	VT1+VT2
17c044	28	18	15	0157	VT1+VT2
17c028	24	7	6	0157	VT1+VT2
17c213	22	6	5	026	VT1
17c050	16	8	8	0157	VT1+VT2
17c025	15	6	6	0157	VT1+VT2
17c052	10	5	5	0157	VT1+VT2
17c503	9	5	4	0121	VT2
17c015	8	7	5	0157	VT1+VT2
17c008	7	5	3	0157	VT1+VT2
17c502	7	5	4	0121	VT2
17c021	5	5	4	0157	VT2

表 2. 2017 年広域 MLVA 型検出状況（5 機関以上、表 1 コンプレックスに含まれない型）

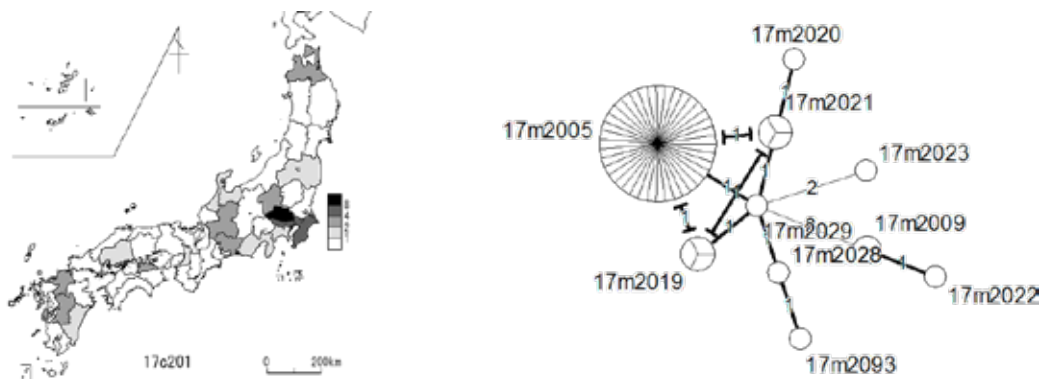
MLVA 型	株数	機関数	都道府県数	0 群	VT 型
13m0327	9	8	7	0157	VT2
17m0028	10	6	5	0157	VT2
17m0059	5	5	5	0157	VT1+VT2
17m0104	15	7	5	0157	VT1+VT2
17m0227	5	5	4	0157	VT1+VT2
17m0229	11	6	4	0157	VT1+VT2
17m0351	13	6	5	0157	VT1+VT2
16m4013	13	11	11	0103	VT1
17m5009	10	5	5	0121	VT2
16m6009	15	6	3	0145	VT2

図1. 広域コンプレックス株の分布状況（左：塗りつぶしの濃さで表示）ならびにその MST（右）

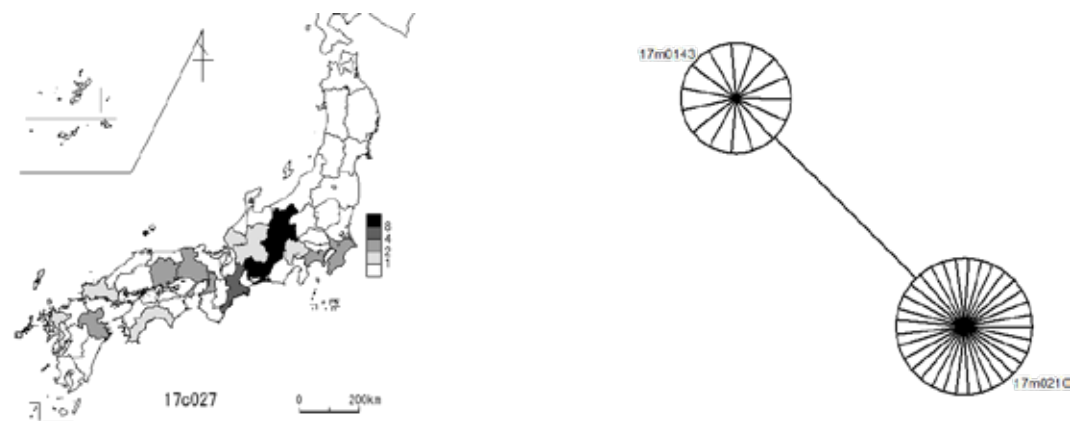
a) 17c013



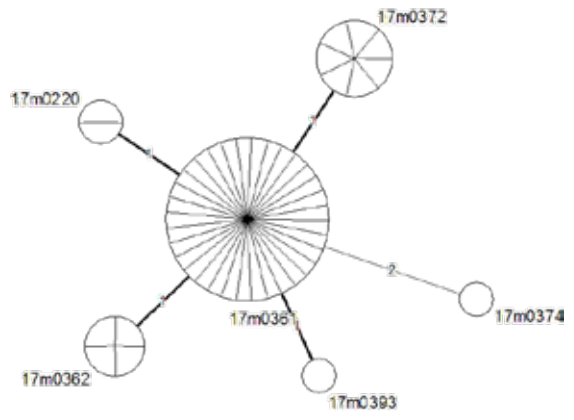
b) 17c201



c) 17c027



d) 17c049



e) 17c044

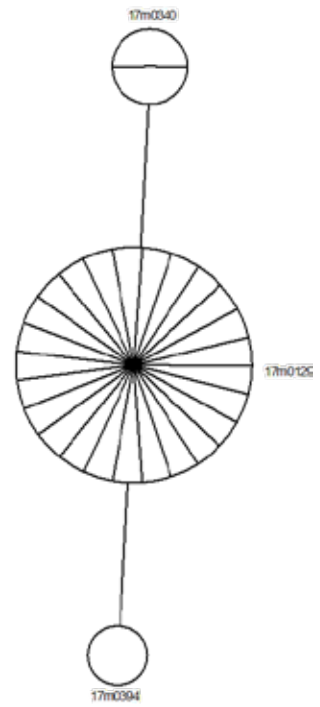


図 2. 広域株パルスネット回覧例 (左上：検出状況、MST、左下：PFGE 情報、右上：MLVA、IS-PS 情報、右下：ブロック別検出状況)

