

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～29年度 総合研究報告書 (分担報告)
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

研究分担者	中嶋 洋	岡山県環境保健センター
	河合 央博	〃
研究協力者	竹内 功二	鳥取県衛生環境研究所
	佐倉 千尋	〃
	大友 麗	〃
	川上 優太	島根県保健環境科学研究所
	川瀬 遵	〃
	福間 藍子	〃
	酒井 智健	〃
	秋田 裕子	広島県立総合技術研究所保健環境センター
	増田 加奈子	〃
	平塚 貴大	〃
	千神 彩香	広島市衛生研究所
	青田 達明	〃
	田内 敦子	〃
	栗林 智早	〃
	坂本 綾	〃
	松室 信宏	〃
	石村 勝之	〃
	野村 泰晴	山口県環境保健センター
	尾羽根 紀子	〃
	亀山 光博	〃
	大塚 仁	〃
	石田 弘子	徳島県立保健製薬環境センター
	市原 ふみ	〃
	内田 順子	香川県環境保健研究センター
	福田 千恵美	〃
	岩下 陽子	〃
	安藤 友美	〃
	関 和美	〃
	仙波 敬子	愛媛県立衛生環境研究所
	園部 祥代	〃

阿部 祐樹	〃
金山 知代	高知県衛生研究所
高橋 富世	〃
高木 春佳	〃
戸梶 彰彦	〃
松本 道明	〃
狩屋 英明	岡山県環境保健センター
大畠 律子	〃
檀上 博子	〃
仲 敦史	〃
畑 ますみ	〃

研究要旨

食品由来感染症の分子疫学解析手法について、分子疫学解析結果を用いたデータベース構築や広域事例発生時の活用に向け、平成 27 年度から 29 年度に、中四国ブロックの地方衛生研究所を対象に、腸管出血性大腸菌 O157 株を用いて、IS-Printing System (IS-PS)、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE 法)、及び multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA 法) による精度管理を実施した。IS-PS では、多くの施設で良好な結果が得られたが、一部の施設で誤判定が見られた。これらはバンド位置の確認ミス (本来検出されるバンドとエクストラバンドの異同判定ミス) や低分子量側のバンドが薄くなりバンドの見落とし等が多かった。PFGE 法でも、多くの施設で良好な結果が得られたが、一部でスメアとなり解析不能となったところや、低分子量側のバンドが不明瞭となったところがあった。デンドログラム解析では、検査実施者によるバンド位置指定の差等により、施設間で類似度の順序が異なる傾向が見られた。IS-PS 及び PFGE 法は、鮮明で判別可能な泳動像が得られるように技術を習得・維持し、慎重な解析が必要であると思われた。また、MLVA 法では、毎年、一部の施設でリピート数が異なる遺伝子座が見られ、今後、その要因を解明するとともに、一層の精度向上の必要性を感じた。また、中四国地域の EHEC 感染事例について分子疫学解析結果等疫学情報を収集して解析を行った。複数の県で同一の分子疫学解析結果となる菌株が毎年検出されたが、疫学情報が少なくそれらの事例間の疫学的な関連性は、ほとんどが不明であった。有意義に活用できるデータベースを構築するには、精度の高い分子疫学解析結果だけでなく、有益な疫学情報をいかに取り込むか検討することも今後の課題と思われる。

A. 研究目的

食品由来感染症の広域事例が発生した場合、事例間の関連性を明らかにするためには、事例由来株の分子疫学解析結果を共有

し、比較・解析することが有用である。そこで、事例由来株の分子疫学解析結果等情報を共有して相互に利用可能にし、広域事例の探知さらには感染源の究明、感染拡大

防止に役立つデータベースを構築し、効率的かつ効果的に当該情報を共有するシステムの開発を目指している。広域事例発生時にデータベースや分子疫学解析結果を活用するには、検査技術や解析精度の維持・向上が不可欠かつ重要である。このため、中四国ブロックの地方衛生研究所を対象に、腸管出血性大腸菌 O157 株を用いた IS-printing System (以下、IS-PS と言う)、パルスフィールドゲル電気泳動法(以下、PFGE 法と言う)、さらに multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (以下、MLVA 法と言う)の精度管理を実施するとともに、中四国ブロック内での EHEC 発生事例について分子疫学解析結果等疫学情報を収集し、関連性などの解析を行い、データベース構築や広域事例の対応に向けた検討を行った。

B. 研究方法

平成 27 年度から平成 29 年度に、岡山県環境保健センターから年度ごとに EHEC O157 菌株 5 株を参加施設に配布し、IS-PS、PFGE 法及び MLVA 法による精度管理を実施した。また、中四国地域で発生した EHEC 感染事例について、患者等由来株の IS-PS や MLVA 法による解析結果を菌株情報とともに収集し、比較・解析した。

IS-PS は、IS-printing System

(Version2 : TOYOBO 製)を用いて、取扱説明書に従って実施した。本法の各プライマーにより増幅される産物は、プライマーセット (1st set 及び 2nd set primer) 毎に高分子量側から 3 つごとに区切り、迅速同定キット (Api) の同定コード化にあって、各区分の増幅バンドについて順番に「1」「2」「4」の数字を当てた。それぞれの産物が増幅された場合、その数字を

区分毎に足してコード化 (以下、IS コードと言う) し、解析を行った。PFGE 法は、感染研ニュープロトコール (詳細は平成 18 年度の本報告書に準じた) に従って実施し、画像解析ソフト (BioNumerics) を使用して泳動像の解析を行った。MLVA 法は、実施可能な一部の施設で、それぞれの施設のプロトコールにより実施した。また、MLVA 型別は、すべての施設が菌株を国立感染症研究所に送付して、実施した。

精度管理は、IS-PS は、IS コード及び泳動像を、PFGE 法は、泳動像と解析ソフトを使用して作成したデンドログラムを回収し、解析した。また、MLVA 法は各遺伝子座のリピート数を比較解析した。

C. 研究結果

1. 精度管理

(1) 平成 27 年度の結果

IS-PS の精度管理は、10 施設が参加して実施した。多くの施設の結果は一致したが、3 施設 ((A)、(G)、(H)) では IS コードの一部が他の施設と異なった (表 1)。泳動像は、1st 及び 2nd set primer の低分子量のバンドが薄い施設と、低分子量のバンド領域が濃くはっきりしていた施設に分かれ、泳動像がややスメアになった施設もあった (図 1)。PFGE 法の精度管理は、9 施設が参加して実施した。ほとんどの施設が良好な PFGE 泳動像を示したが、施設 (A) は菌株 No1878 のみスメアとなり、解析不能であった (図 2)。デンドログラム解析の結果は、菌株 No1872 が No1878、1884、1882 に類似度の高い a タイプと、No1873 に類似度の高い b タイプに分かれた (図 3)。MLVA 法の精度管理は 4 施設が参加して実施した (3 施設は 17 遺伝子座を、1 施設は

9 遺伝子座についてリポート数を解析)。菌株 No1873、1878、1884 は各施設の結果が一致していたが、菌株 No1872 は O157-9 が施設 (I) で、菌株 No1882 は O157-17、O157-36、O157-19、O157-37 が施設 (F) で他の施設と結果が異なった (表 2)。

(2) 平成 28 年度の結果

IS-PS の精度管理は、10 施設が参加して実施した。多くの施設の解析結果は一致していたが、3 施設 ((E)、(H)、(J)) ではいずれも 1st set primer の増幅産物について、IS コードの一部が他の施設と異なった (表 3)。

PFGE 法の精度管理は、9 施設が参加して実施し、ほとんどの施設が良好な泳動像を示した (図 4)。デンドログラム解析を実施した 8 施設の結果では、類似度の順序のパターンは 2 グループに分かれた (表 4)。

菌株 No1950 と 1951 は疫学的に関連のある株であり、7 施設の解析結果が類似度 100% で一致したが、1 施設は 98% であった。MLVA 法の精度管理は、4 施設が参加して実施した (3 施設は 17 遺伝子座を、1 施設は 9 遺伝子座についてリポート数を解析)。2 施設 ((D)、(E)) の解析結果は一致していたが、施設 (F) は 2 つの、施設 (I) では 4 つの遺伝子座について解析結果の異なる菌株があった (表 5)。これら以外の遺伝子座の解析結果は、各施設とも一致していた。

(3) 平成 29 年度の結果

IS-PS の精度管理は、10 施設が参加して実施した。泳動像はいずれの施設もバンドが認識でき、概ね良好であった。IS コードは多くの施設が一致したが、3 施設 ((A)、(H)、(J)) では 1st set primer の IS コードが他施設とは異なった (表 6)。これは、1st set primer の菌株 B の「1-06」、菌株 E の「1-10」、さらに「*hlyA*」の判定に違いが

見られたことによるものであった。PFGE 法の精度管理は、9 施設が参加して実施した。泳動像は、鮮明さ (解像度) 等の影響もあるが、一部の施設で、54.7Kb (マーカーの上から 15 本目のバンド) 付近より下側の低分子量側のバンドが不明瞭であったが、その他の施設は概ね良好であった (図 5)。目視によりバンドパターンを比較したところ (54.7Kb 以上のバンドで比較)、若干異なる菌株 B、D があったが、1 バンド違いの差異であった。他の菌株ではすべての施設で同一のバンドパターンを示した。また、デンドログラム解析を実施した 8 施設の結果では、類似度の順序は、各施設さまざまに 6 パターンとなった (表 7)。MLVA 法は 4 施設で実施した (3 施設は 17 遺伝子座を、1 施設は 9 遺伝子座についてリポート数を解析)。菌株 C の「O157-34」では施設 (D) が、そして菌株 C 及び E の「O157-9」では施設 (I) が他施設とは異なるリポート数となった (表 8)。その他の遺伝子座では、リポート数は一致した。

2. 中四国地域の EHEC 感染事例発生状況と解析結果

(1) 平成 27 年度の結果

患者等由来 EHEC O157 株 111 株の疫学情報を収集し解析した。(表 9) その結果、7 種類の IS コードの株が複数の県から分離された。同一 IS コード株のうち、集団事例、家族内事例等の疫学的に関連のある事例においては、同一の MLVA 型あるいは MLVA complex を示した。散发事例においても同一の IS コードでかつ MLVA 型が一致する株があったが、これらについては疫学的な関連は不明であった。

(2) 平成 28 年度の結果

患者等由来 EHEC 288 株の疫学情報を

収集し解析した。EHEC O26 株については、同一の MLVA 型及び MLVA complex の株が、複数県で 1 種類分離された (表 10)。EHEC O157 株については、7 種類の IS コードの株が複数の県から分離された (表 11)。このうち、同一 IS コード株で、疫学的な関連性が確認された事例においては、同一の MLVA 型あるいは MLVA complex を示したが、集発関連株の一部の株では、1st set primer による IS コードの一部や MLVA 型が他の関連株と異なっていた。散発事例においても同一の IS コードでかつ MLVA 型が一致する株があったが、これらについては疫学的な関連は不明であった。

(3) 平成 29 年度の結果

患者等由来 EHEC 184 株の分子疫学解析結果等疫学情報を収集し解析した。その結果、複数の県で同一の MLVA 型あるいは MLVA complex となる株が検出され、O26 株では 1 種類、O157 株では 4 種類検出されたが、事例間での疫学的な関連については不明であった (表 12)。また、O157 株の IS-PS では、複数の県で同一の IS コードとなった菌株が、6 種類検出された (表 13)。同一 IS コードとなったグループのうち 1 つのグループ (グループ③) は、すべて同一の MLVA complex となったが、その他のグループでは、異なる MLVA 型あるいは MLVA complex が含まれた。同一 IS コードとなった事例間でも、疫学的な関連については不明であった。

D 考 察

平成 27 年度～29 年度に、IS-PS、PFGE 法及び MLVA 法による EHEC O157 株を用いた精度管理を実施した。その結果、多くの施設で解析結果は良好であったが、一

部の施設では他施設と異なった結果となり、解析技術の習熟や精度の維持・向上の必要があると思われた。IS-PS では、低分子量側のバンドが薄くなりバンドを見落とす、増幅産物のバンド位置の確認ミス (本来検出されるバンドとエクストラバンドの異同判定ミス) が多く、コード化のミスによる誤判定も見られた。これらを改善するためには、適切な濃度のテンプレートを調整し、本来明確に出現するバンドが薄くなることを防ぐ、泳動距離の長いゲルを使用し、バンドの間隔を延ばすことでバンド位置を正確に確認する等工夫が必要と考えられた。また、IS-PS は、増幅の弱いバンドの判定が検査実施者によって異なる場合があるため、IS コードの情報だけで比較するのではなく、泳動像と併せたバンドの有無の確認が必要と思われた。PFGE 法では、どの施設もおおむね良好な泳動像を示したが、一部でスメアとなり解析不能となったところや、低分子量側のバンドが不明瞭となったところがあった。また、デンドログラム解析では、検査実施者によりバンド位置の指定の差等により、施設間で類似度の順序が異なる傾向が見られた。PFGE 法はバンド位置の指定が異なることで解析結果に影響する。このため、サンプル菌液の濃度調整、制限酵素による消化反応、さらには染色等を確実に行って、鮮明で判別可能な泳動像が得られる技術を習得・維持し、加えて慎重な解析が必要であると思われた。MLVA 法は、中四国ブロックでは現在 4 施設が実施しており、この 4 施設が精度管理に参加した。その結果、いずれの年度でも一部の施設でリピート数が異なる遺伝子座が見られたが、その要因は不明であった。MLVA 法は、各遺伝子座のリピート数を基に型別する方法であるため、今後、特に多施設の

MLVA法の結果を集約したデータベースを構築するには、この要因を解明し、精度を向上させる必要があると思われる。MLVA法は、分離能が高くかつ短時間で結果が出る等の利点があり、また、平成29年度から、国立感染症研究所においてはO157、O26、O111に加えて、O91、O103、O121、O145、O165の血清群についても解析を実施しており、多くの血清群について解析が可能となった。今後ますますMLVA法の利用度が高くなることが予想され、MLVA法の導入を検討する施設も増加することが考えられるため、このような施設に対する精度向上のための技術的支援が重要である。いずれの分子疫学解析法においても、精度管理を実施することで、いくつかの問題点・改善点が明らかとなった。今後も解析技術等の維持や解析精度の向上、さらには最適な解析条件の提示等に向け、精度管理を実施する必要があると考える。

中四国地域のEHEC感染事例について分子疫学解析結果等疫学情報を収集して解析を行った。その結果、複数の県で同一の分子疫学解析結果となる菌株が毎年検出されたが、同一の分子疫学解析結果となった事例間の疫学的な関連性は、ほとんどが不明であった。疫学的な事例解析には、分子疫学解析結果に加えて、詳細な疫学情報の収集とそれに基づく解析が必要である。そのため、広域事例発生の迅速な探知、感染源の究明や感染拡大防止対策の事例対応に活用できるデータベースの構築が重要である。今後は、精度の高い分子疫学解析による結果と有益な疫学情報をいかに取り込むかを検討する必要があると思われた。

E 結論

1. 平成27年度～平成29年度に、IS-PS、

PFGE法及びMLVA法の精度管理を実施した。いずれの方法においても、概ね良好な結果が得られたが、一部の施設では結果が異なり、解析技術の習熟や精度の維持・向上の必要があると思われた。

2. 精度管理の実施により、精度向上に関する問題点・改善点がいくつか明らかとなった。今後も引き続き精度管理を実施し、問題点・改善点の洗い出しが必要と考えられた。

3. 広域事例発生の迅速な探知、感染源の究明や感染拡大防止対策の構築等、事例への対応に活用できるデータベースを構築するには、精度の高い分子疫学解析による結果だけでなく、有益な疫学情報をいかに取り込むか検討することも今後の課題と思われた。

F. 研究発表

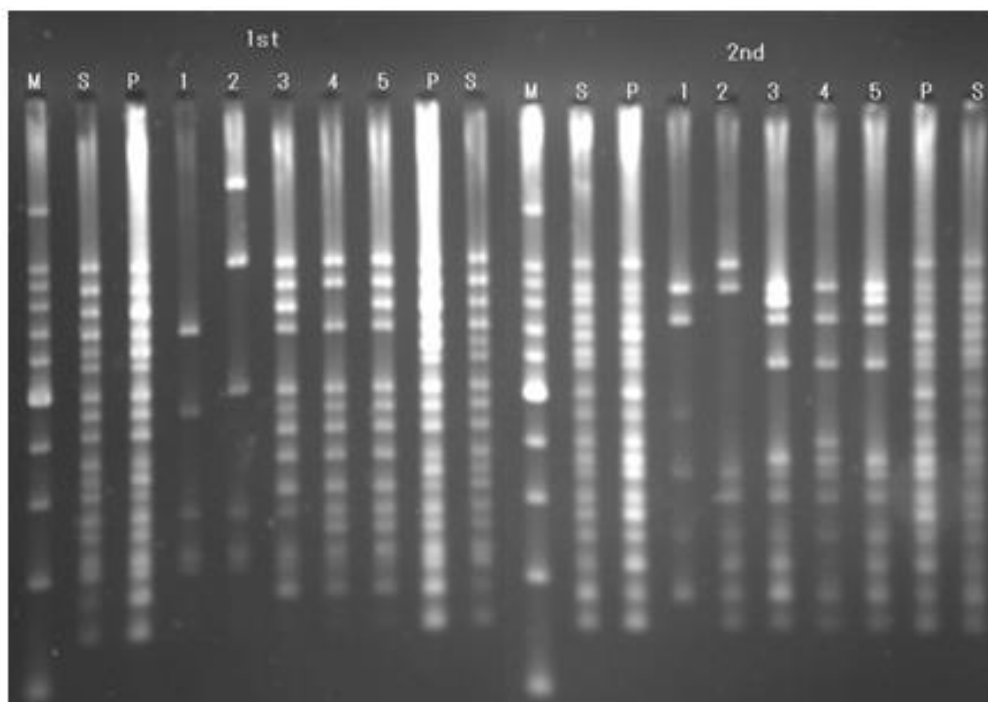
なし。

表1 EHEC O157株のIS-PSによる精度管理結果（平成27年度）

施設	1872		1873		1878		1882		1884	
(A)	012055	210442	101055	300457	717553	611617	317573	211756	717572	611617
(B)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657
(C)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657
(D)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657
(E)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657
(F)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657
(G)	012055	210442	101055	300457	717577	611657	317577	211756	717577	611657
(H)	012051	214442	101051	300457	777553	611657	317573	211756	717573	611657
(I)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657
(J)	012055	214442	101055	300457	717557	611657	317577	211756	717577	611657

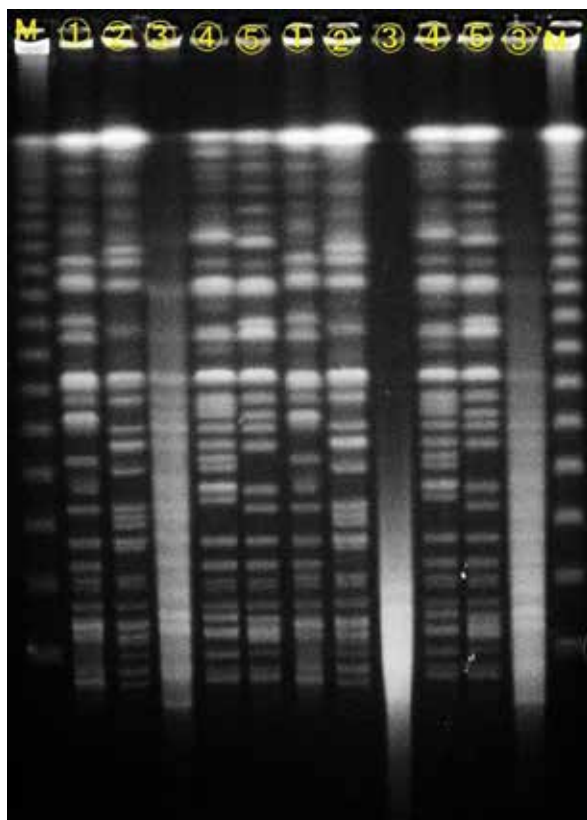
図1 IS-PSの泳動像の一例（平成27年度）

施設 (H)



M	Marker
S	Standard DNA
P	Template Mix
No.1	1872
No.2	1873
No.3	1878
No.4	1882
No.5	1884

図2 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果の一例（平成27年度）
施設（A）



- | | | |
|---|-----------|---------|
| ① | STEC 1872 | O157:H7 |
| ② | STEC 1873 | O157:H- |
| ③ | STEC 1878 | O157:H7 |
| ④ | STEC 1882 | O157:H7 |
| ⑤ | STEC 1884 | O157:H7 |
| M | マーカー | |

図3 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果 デンドログラム解析（平成27年度）

(aタイプ) 6施設



(bタイプ) 2施設



表2 EHEC O157株のMLVA法による精度管理結果(平成27年度)

施設	菌株No	各領域のレポート数																
		EHC-1	EHC-2	O157-9	EHC-5	O157-3	O157-25	EHI11-8	EHI57-12	EHI11-14	EHI11-11	O157-17	O157-36	O157-19	EHC-6	O157-37	EHC-7	O157-10
1872	D	9	12	6	-2	-2	4	1	4	-2	2	5	6	7	-2	5	-2	-2
	E	7*		-2	4	4					5	6	7		5		5	-2
	F	9	12	6	-2	4	4	1	4	-2	2	5	6	7	-2	5	-2	
	I	9	12	6	-2	4	4	1	4	-2	2	5	6	7	-2	5	-2	
1873	D	9	9	5	11	6	5	1	3	-2	2	5	4	10	-2	2	-2	
	E	7*		11	6	5					5	4	10		2		14	
	F	9	9	5	11	-2	5	1	3	-2	2	5	4	10	-2	2	-2	
	I	9	9	5	11	-2	5	1	3	-2	2	5	4	10	-2	2	-2	
1878	D	12	7	4	10	-2	15	1	4	-2	2	6	5	6	11	7	-2	
	E	10*		10	15	5					6	5	6		7		29	
	F	12	7	4	10	-2	15	1	4	-2	2	6	5	6	11	7	-2	
	I	12	7	4	10	-2	15	1	4	-2	2	6	5	6	11	7	-2	
1882	D	12	7	4	7	10	10	1	4	-2	2	6	6	6	-2	7	-2	
	E	10*		7	10	5					6	6	6		7		32	
	F	12	7	4	7	10	10	1	4	-2	2	-2	3	-2	5	-2		
	I	12	7	4	7	10	10	1	4	-2	2	6	6	6	-2	7	-2	
1884	D	12	5	4	13	-2	10	6	4	-2	2	8	3	6	10	5	-2	
	E	10*		13	10	6					8	3	6		5		24	
	F	12	5	4	13	-2	10	6	4	-2	2	8	3	6	10	5	-2	
	I	12	5	4	13	-2	10	6	4	-2	2	8	3	6	10	5	-2	

*:ODCプライマー使用のため、2つずつ異なっている。

表3 EHEC O157株のIS-PSによる精度管理結果（平成28年度）

施設	1940		1945		1947		1950		1951	
(A)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(B)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(C)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(D)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(E)	317557	611657	211457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(F)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(G)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(H)	317556	611657	201457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(I)	317557	611657	001457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657
(J)	317557	611657	201457	610652	317575	211656	717557	611657	717557	611657

図4 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果の一例（平成28年度）
施設 (C)

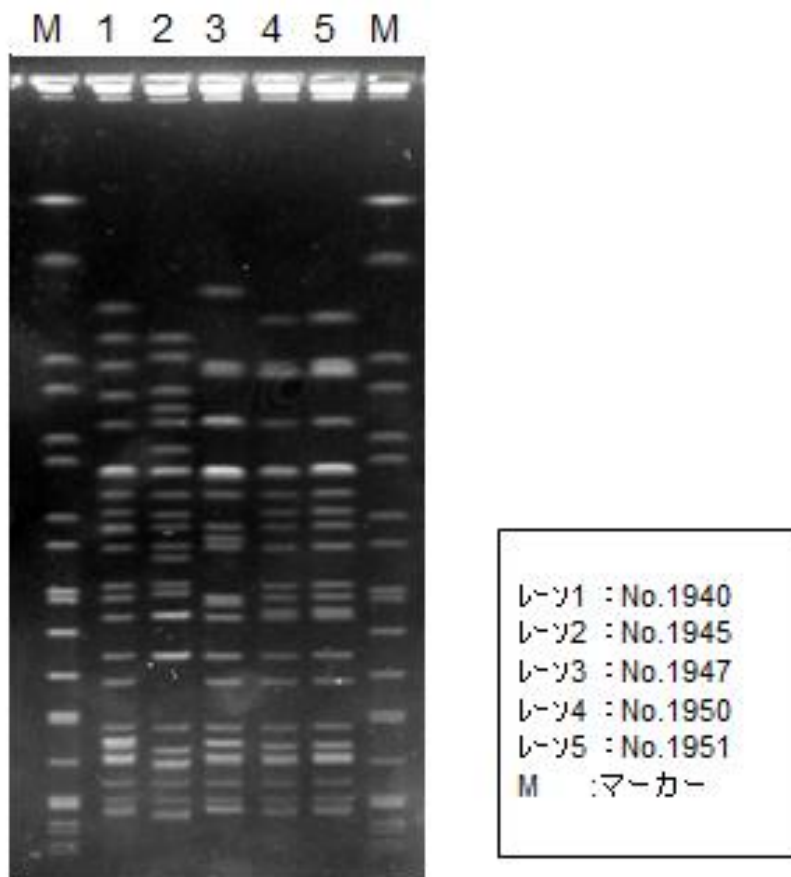


表4 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果 デンドログラム解析(平成28年度)

デンドログラム解析結果		施設数
65~100 (No.1945→1947→1940→1950, 1951)		6
67~100 (No.1947→1940 or 1945→1945 or 1940→1950, 1951)		2
解析せず		1
実施せず		1

表5 EHEC O157株のMLVA法による精度管理結果(平成28年度)

施設	菌株No	#1								
		O157-34Y	EHC-1Q	EHC-2C	O157-9M	EHC-5S	O157-3W	O157-25J	EH111-8O	EH157-12N
(D)	1940	12	5	5	11	2	9	5	1	4
	1945	10	7	4	12	-2	7	3	1	7
	1947	12	6	4	8	-2	16	5	1	4
	1950	12	6	4	12	-2	8	8	1	4
	1951	12	6	4	12	-2	8	8	1	4
(E)	1940	10*			11		9	5		
	1945	8*			12		7	3		
	1947	10*			8		16	5		
	1950	10*			12		8	8		
	1951	10*			12		8	8		
(F)	1940	12	5	5	11	2&10	9	5	-2	4
	1945	10	7	4	12	-2	7	3	-2	7
	1947	12	6	4	8	-2	16	5	-2	4
	1950	12	6	4	12	-2	8	8	-2	4
	1951	12	6	4	12	-2	8	8	-2	4
(I)	1940	12	5	5	11	10	9	5	-2	4
	1945	10	7	4	12	-2	7	3	-2	7
	1947	12	6	4	8	-2	16	5	-2	4
	1950	-2	6	4	13	-2	8	8	-2	4
	1951	-2	6	4	12	-2	8	8	-2	4

*CDCプライマー使用のため、2つずつ異なっている。

施設	菌株No	#2							
		EH111-14B	EH111-11	O157-17Z	O157-36A	O157-19L	EHC-6U	O157-37V	EH26-7D
(D)	1940	-2	2	7	9	6	6	6	-2
	1945	-2	2	3	-2	5	-2	8	-2
	1947	-2	2	7	7	5	-2	8	-2
	1950	-2	2	7	3	6	-2	6	-2
	1951	-2	2	7	3	6	-2	6	-2
(E)	1940			7	9	6		6	
	1945			3	-2	5		8	
	1947			7	7	5		8	
	1950			7	3	6		6	
	1951			7	3	6		6	
(F)	1940	-2	2	7	9	6	6	6	-2
	1945	-2	2	3	-2	5	-2	8	-2
	1947	-2	2	7	7	5	-2	8	-2
	1950	-2	2	7	3	6	-2	6	-2
	1951	-2	2	7	3	6	-2	6	-2
(I)	1940	-2	2	7	9	6	6	6	-2
	1945	-2	2	3	-2	5	-2	8	-2
	1947	-2	2	7	7	5	-2	8	-2
	1950	-2	2	7	3	6	-2	6	-2
	1951	-2	2	7	3	6	-2	6	-2

表6 EHEC O157株のIS-PSによる精度管理結果（平成29年度）

施設名	菌株A		菌株B		菌株C		菌株D		菌株E	
	1st primer code	2nd primer code	1st primer code	2nd primer code	1st primer code	2nd primer code	1st primer code	2nd primer code	1st primer code	2nd primer code
(A)	317573	611757	317173	611557	717575	631757	717573	611657	141043	302447
(B)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(C)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(D)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(E)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(F)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(G)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(H)	317577	611757	357177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(I)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141047	302447
(J)	317577	611757	317177	611557	717575	631757	717577	611657	141147	302447

図5 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果の一例（平成29年度）
施設（C）

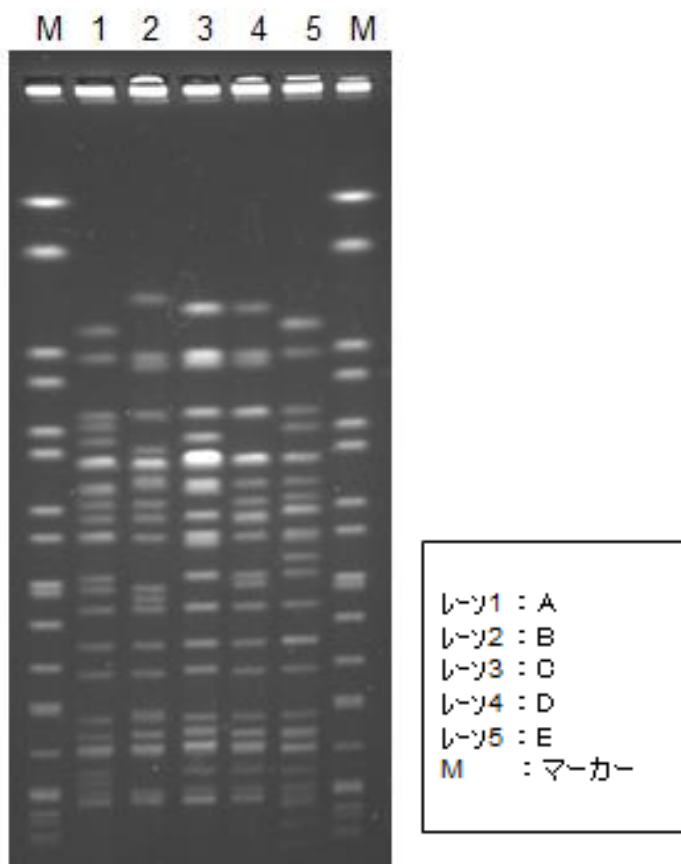


表7 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果 デンドログラム解析(平成29年度)

施設名	デンドログラム解析結果
(A)	デンドログラム解析せず
(B)	PFGE法実施せず
(C)	菌株C - 菌株D => 菌株A => 菌株E => 菌株B (90→66%)
(D)	菌株C - 菌株D => 菌株A => 菌株B => 菌株E (85→55%)
(E)	菌株A - 菌株E => 菌株D => 菌株C => 菌株B (88→74%)
(F)	菌株A - 菌株D => 菌株C => 菌株E => 菌株B (86→78%)
(G)	菌株C - 菌株D => 菌株A => 菌株B => 菌株E (90→63%)
(H)	菌株A - 菌株C => 菌株E <= 菌株B - 菌株D (85→77%)
(I)	菌株C - 菌株D => 菌株A - 菌株E => 菌株B (94.5→82%)
(J)	菌株C - 菌株D => 菌株A => 菌株E => 菌株B (83.3→69.0%)

-:左右の菌株でグループ形成、 =>:矢印の方向へ類似度が低くなる

表 8 EHEC O157 株の MLVA 法による精度管理結果(平成 29 年度)

菌株	施設	EH111-11	EH111-14	EH111-8	EH157-12	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	O157-10
		2	-2	1	4	-2	4	4	-2	-2	10	11	17	4	8	6	9	6	6
菌株A	(D)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	(E)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	10	9*	17	4	8	6	9	6	23
	(F)	2	-2	1	4	-2	4	4	-2	-2	10	11	17	4	8	6	9	6	6
菌株B	(D)	2	-2	1	4	-2	4	4	-2	12	14	11	12	3	6	6	13	7	7
	(E)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	14	9*	12	3	6	6	13	7	5
	(F)	2	-2	1	4	-2	4	4	-2	12	14	11	12	3	6	6	13	7	7
菌株C	(D)	2	-2	1	4	-2	5	4	13	-2	10	13	11	4	8	4	10	7	7
	(E)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	10	10*	11	4	8	4	10	7	26
	(F)	2	-2	1	4	-2	5	4	13	-2	10	12	11	4	8	4	10	7	7
菌株D	(D)	2	-2	1	4	-2	5	4	13	-2	10	12	12	4	8	4	10	7	7
	(E)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	12	11	13	7	7	5	3	7	26
	(F)	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	12	11	13	7	7	5	3	7	7
菌株E	(D)	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	12	11	13	7	7	5	3	7	7
	(E)	/	/	/	/	/	7	6	7	-2	-2	9	9	4	3	5	5	8	8
	(F)	2	-2	1	1	-2	7	6	7	-2	-2	9	9	4	3	5	5	8	31
菌株E	(D)	2	-2	1	1	-2	7	6	7	-2	-2	9	9	4	3	5	5	8	8
	(E)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-2	7*	9	4	3	5	5	8	8
	(F)	2	-2	1	1	-2	7	6	7	-2	-2	9	9	4	3	5	5	8	8

*:CDCプライマー使用のため、2ずつ異なっている。

表9 中四国地域で同一 IS コードの EHEC O157 株が複数の県から分離された事例（平成 27 年度）

血清型	毒素型	IS-printing systemコード		MLVA型	MLVA complex	菌株番号	発生日	備考	
		1st primer set	2nd primer set						
O157:H7	1.2	317577	211757	15m0167		1900			
				13m0114		EH150012			
		317577	211756	13m0625	15c020	1882, 1912, 1914			1912,1914は家族
						EH150011			
		307557	211457	15m0034	15c011	EH15-02			
						2, 3			15Y05-15Y11の接触者
		717557	611657	15m0099	15c011	15Y05-15Y11			家族と親戚(集発)
						1926			
		717557	611657	15m0142	15c011	1878			
						14m0512		4-6	
		717577	611657	15m0140	15c032	1886, 1889-1899			施設関連
						1884		7-8月	
	1885, 1887, 1888							家族	
	15m0138								
	14m0387				SE15001-15004		4月	家族	
	2	012057	214442	15m0201	15c041	SE15014他			施設(集発)、家族、散発
						14			
						15Y24		8-9月	
						SE15055			
15m0203						SE15018			SE15014等関連施設(集発)
						SE15043			
						15m0204			
						15m0270			
114057	303443	15m0270			1918				
					15m0242		15Y12		
		15m0098			EH15-2				

表10 複数県で発生した EHEC O26 の同一 MLVA 型、MLVAcomplex 株による事例（平成 28 年度）

県名	菌株No	発生日	O血清群	H型	VT型	MLVA型	MLVA complex	備考(疫学的関連など)
B	SE16003	4	26	11	1	13m2040	16c204	患者家族
	SE16004	4	26	11	1	13m2040	16c204	
	SE16005	4	26	11	1	13m2040	16c204	
	SE16006	4	26	11	1	13m2040	16c204	
D	EH16-07	7	26	11	1	13m2040	16c204	

表 1 1 複数県で発生した EHEC O157 の同一 IS コード株による事例 (平成 28 年度)

No	県名	菌株No	発生日	O血清群	H型	VT型	ISコード(1st)	ISコード(2nd)	MLVA型	MLVA complex	備考(疫学的関連など)
①	C	1945	8	157	7	2	001457	610652	16m0110	16c027	沖縄サトウキビジュース集発関連株
	B	SE16009	8	157	7	2	001457	610652	16m0110	16c027	沖縄サトウキビジュース集発関連株(No9の家族)
		SE16010	8	157	7	2	001457	610652	16m0110	16c027	
		SE16011	8	157	7	2	001457	610652	16m0110	16c027	
		SE16012	8	157	7	2	001457	610652	16m0110	16c027	
D	EH16-12	8	157	7	2	201457	610652	16m0110	16c027	沖縄サトウキビジュース集発関連株(16-11の家族)	
	EH16-11	8	157	7	2	201457	610652	16m0384	16c027		
②	D	EH16-08	7	157	7	2	305457	211642	14m0056	16c021	
	E	16027	11	157	7	2	305457	211642	15m0278	16c059	
	H	EH16-12	7	157	7	2	305457	211642	16m0142	16c025	
	J	162085	6	157	7	2	305457	211642	16m0321	16c025	
③	I	4	9	157	7	1.2	317577	211756	13m0625	16c026	
	C	1984	11	157	7	1.2	317577	211756	16m0093	16c070	
		1975	10	157	7	1.2	317577	211756	16m0094	16c026	
④	D	EH16-16	8	157	7	1.2	317577	211757	15m0434	16c036	
	E	16008	7	157	7	1.2	317577	211757	15m0434	16c036	
		16012	8	157	7	1.2	317577	211757	15m0434	16c036	
	F	16Y04	7	157	7	1.2	317577	211757	15m0434	16c036	16Y04の家族
		16Y05	7	157	7	1.2	317577	211757	15m0434	16c036	
		16Y07	7	157	7	1.2	317577	211757	15m0434	16c036	
	C	1970	10	157	7	1.2	317577	211757	16m0389		
1988		10	157	7	1.2	317577	211757	16m0389			
1978	10	157	7	1.2	317577	211757	16m0389				
⑤	C	1949	8	157	7	1.2	717557	611657	13m0694	16c010	
	F	16Y08	7	157	7	1.2	717557	611657	15m0099	16c010	
		16Y09	7	157	7	1.2	717557	611657	15m0099	16c010	
		1934	4	157	7	1.2	717557	611657	16m0079	16c078	
	E	16011	8	157	7	1.2	717557	611657	16m0134		
		C	1950	8	157	7	1.2	717557	611657	16m0228	16c010
	1951		8	157	7	1.2	717557	611657	16m0228	16c010	
	1963		8	157	7	1.2	717557	611657	16m0228	16c010	
	EH16-14		8	157	7	1.2	717557	611657	16m0228	16c010	
	D	EH16-17	8	157	7	1.2	717557	611657	16m0228	16c010	
	G	12	9	157	7	1.2	717557	611657	16m0261		
	C	1958	9	157	7	1.2	717557	611657	16m0317	16c010	
		1968	9	157	7	1.2	717557	611657	16m0319		
	C	1979	9	157	7	1.2	717557	611657	16m0419	16c078	
D	EH16-27	9	157	7	1.2	717557	611657	16m0419	16c078	推定感染地域:C	
⑥	C	1936	5	157	7	1.2	717577	611657	16m0080		
	J	162086	7	157	7	1.2	717577	611657	16m0089	16c055	患者No162086の家族
		162087	7	157	7	1.2	717577	611657	16m0089	16c055	
		162088	7	157	7	1.2	717577	611657	16m0089	16c055	
	H	EH16-13	8	157	7	1.2	717577	611657	16m0132		
C	1966	9	157	7	1.2	717577	611657	16m0132			
⑦	E	16004	6	157	-	1	317175	611755	16m0131		
	C	1980	10	157	-	1	317175	611755	16m0390		
		1987	10	157	-	1	317175	611755	16m0390		

 : IS コード、MLVA 型、MLVA complex が一致

表12 複数県で発生した EHEC の同一 MLVA 型あるいは MLVAcomplex 株による事例
(平成 29 年度)

グループ	県名	菌株No	発生日	O血清群	H型	Stx型	MLVA型	MLVA complex	備考(疫学的関連など)
I	c	17006	4	26	11	1	17m2006	17c201	
	f	EHI7-8	6	26	11	1	17m2006	17c201	EHI7-8の家族
		EHI7-9	7	26	11	1	17m2006	17c201	
II	b	2027	8	157	7	2	17m0130	17c013	
	f	EHI7-13	8	157	7	2	17m0130	17c013	
	b	2017	8	157	7	2	17m0144	17c013	2026の家族
		2026	8	157	7	2	17m0144	17c013	
	b	2023	8	157	7	2	17m0121	17c013	2023の家族
		2033	8	157	7	2	17m0121	17c013	
	c	EHI7-12	8	157	7	2	17m0121	17c013	
	c	EHI7-13	8	157	7	2	17m0121	17c013	EHI7-13の家族等(家族及びいとこ)
		EHI7-14	8	157	7	2	17m0121	17c013	
		EHI7-15	8	157	7	2	17m0121	17c013	
		EHI7-16	8	157	7	2	17m0121	17c013	
EHI7-17		8	157	7	2	17m0121	17c013		
	EHI7-18	8	157	7	2	17m0121	17c013		
III	b	2035	8	157	7	1, 2	17m0129	17c044	2035の家族
		2038	8	157	7	1, 2	17m0129	17c044	
	b	2032	8	157	7	1, 2	17m0129	17c044	
	c	17013	8	157	7	1, 2	17m0129	17c044	
	e	9	9	157	7	1, 2	17m0340	17c044	
IV	b	2022	8	157	7	1, 2	17m0210	17c027	
	b	2043	8	157	7	1, 2	17m0210	17c027	
	b	2046	8	157	7	1, 2	17m0210	17c027	
	d	17108	8	157	7	1, 2	17m0143	17c027	
	h	他24	9	157	7	1, 2	17m0143	17c027	

表 1 3 複数県で発生した EHEC O157 の同一 IS コード株による事例 (平成 29 年度)

グループ	県名	菌株No	発生月	O血清群	H型	Stx型	IS-PS		MLVA型	MLVA complex	備考(疫学的関連など)
							1st primer code	2nd primer code			
①	b	2027	8	157	7	2	205457	211242	17m0130	17c013	
	f	EHI7-13	8	157	7	2	205457	211242	17m0130	17c013	
	b	2017	8	157	7	2	205457	211242	17m0144	17c013	2026の家族
		2026	8	157	7	2	205457	211242	17m0144	17c013	
	b	2023	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	2023の家族
		2033	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	
	c	EHI7-12	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	
	c	EHI7-13	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	EHI7-13の家族等 (家族及びいとこ)
		EHI7-14	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	
		EHI7-15	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	
		EHI7-16	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	
		EHI7-17	8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013	
EHI7-18		8	157	7	2	205457	211242	17m0121	17c013		
b	2049	10	157	7	2	205457	211242	17m0438	17c056	2049の家族	
	2050	10	157	7	2	205457	211242	17m0438	17c056		
	2052	10	157	7	2	205457	211242	17m0439	17c056		
②	d	17Y02	6	157	7	1, 2	317477	611756	17m0070		
	b	2028	8	157	7	1, 2	317477	611756	17m0227		
③	b	2035	8	157	7	1, 2	317557	211757	17m0129	17c044	2035の家族
		2038	8	157	7	1, 2	317557	211757	17m0129	17c044	
	b	2032	8	157	7	1, 2	317557	211757	17m0129	17c044	
e	9	9	157	7	1, 2	317557	211757	17m0340	17c044		
④	b	1994	5	157	7	1, 2	317577	211756	17m0017		
	c	EHI7-11	8	157	7	1, 2	317577	211756	16m0374		
⑤	b	2022	8	157	7	1, 2	317577	211757	17m0210	17c027	
	b	2043	8	157	7	1, 2	317577	211757	17m0210	17c027	
	d	17Y08	8	157	7	1, 2	317577	211757	17m0143	17c027	
	h	他24	9	157	7	1, 2	317577	211757	17m0143	17c027	
	f	EHI7-17	8	157	7	1, 2	317577	211757	16m0085		
⑥	b	2000	6	157	7	1, 2	717557	611657	17m0078	17c008	2000の家族
		2001	6	157	7	1, 2	717557	611657	17m0079	17c008	
	b	2004	6	157	7	1, 2	717557	611657	17m0186		
	d	17Y20	10	157	7	1, 2	717557	611657	14m0028		