

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」

平成 27～29 年度報告書

九州地区における効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究
—IS 型別データベースの運用、EHEC 検出状況、精度管理 (ISPS、PFGE) 及び
ISPS エクストラバンド情報の集約 (平成 27～29 年度まとめ) —

研究代表者	泉谷秀昌	国立感染症研究所
研究分担者	世良暢之	福岡県保健環境研究所
研究協力者	阿部有利	福岡市保健環境研究所
	岩佐奈津美	福岡市保健環境研究所
	中村悦子	北九州市保健環境研究所
	有川衣美	北九州市保健環境研究所
	塘由香	佐賀県衛生薬業センター
	緒方美奈子	佐賀県衛生薬業センター
	川野みどり	長崎県環境保健研究センター
	小嶋裕子	長崎県環境保健研究センター
	高木由美香	長崎県環境保健研究センター
	江原裕子	長崎市保健環境試験所
	成松浩志	大分県衛生環境研究センター
	福島宏暢	熊本県保健環境科学研究所
	原田誠也	熊本県保健環境科学研究所
	小原敦美	熊本県保健環境科学研究所
	杉谷和加奈	熊本市環境総合センター
	矢坂多佳子	熊本市環境総合センター
	水流奈己	宮崎県衛生環境研究所
	穂積和佳	鹿児島県環境保健センター
	高良武俊	沖縄県衛生環境研究所
	濱崎光宏	福岡県保健環境研究所
	カール由起	福岡県保健環境研究所
	江藤良樹	福岡県保健環境研究所
	中山志幸	福岡県保健環境研究所
	重村洋明	福岡県保健環境研究所
	村上光一	福岡県保健環境研究所
	西田雅博	福岡県保健環境研究所
	前田詠里子	福岡県保健環境研究所
	岡元冬樹	福岡県保健環境研究所

要旨

九州地区では、1. IS-printing System (以下「ISPS」という。)による IS 型別データベースの運用、2. 腸管出血性大腸菌 (以下「EHEC」という。) 検出状況の解析、3. EHEC による集団発生事例の集約、4. 精度管理及び 5. ISPS で発生したエクストラバンド情報の集約の 5 項目について取り組んだ。

九州地区における腸管出血性大腸菌 0157 (以下「0157EHEC」という。) の IS 型別の登録数は平成 30 年 2 月 14 日現在で 1731 件 (平成 22 年度 312 件、平成 23 年度 229 件、平成 24 年度 229 件、平成 25 年度 224 件、平成 26 年度 206 件、平成 27 年度 204 件、平成 28 年度 199 件及び平成 29 年度 128 件) であり、毎年 200 件前後の登録で推移していたが、平成 29 年度は 0157EHEC の検出数が少なかったため減少した。九州地区で平成 27～29 年度に収集された EHEC は 1338 株であった。その内訳は、0157EHEC が 606 株、非 0157 EHEC が 700 株及び血清型別不能が 32 株であった。九州地区は非 0157EHEC の占める比率が 54.7% であり、本研究で 0157EHEC に加えて非 0157EHEC の情報収集にも積極的に取り組んでいる成果が現れているものと思われた。平成 27～29 年度の 3 年間の EHEC による集団発生事例は 33 事例であった。その内訳は、0157EHEC によるものが 15 事例で、非 0157EHEC によるものは 18 事例であった。集団発生事例は、保育所など、従来から多発している施設での事例が多い傾向は変わらなかった。精度管理は ISPS 及びパルスフィールド・ゲル電気泳動 (以下「PFGE」という。) について実施した。ISPS では、エクストラバンドがある菌株では誤判定も見られた。PFGE では泳動は概ね良好に行われていたが、一部、制限酵素処理が不十分な事例が認められた。また、平成 29 年度の精度管理において、菌株を輸送中又は保存中に変異したと考えられる事案が発生した。今後、精度管理に使用する菌株は、より慎重に選定する必要があると考えられた。

A. 研究目的

食中毒や感染症等の緊急事例発生時には、科学的根拠に基づいた感染源及び感染経路を解明し、原因究明や拡大防止等の行政対応をすることが求められる。科学的根拠としては、有症者、調理従事者及び推定原因食品等から分離された病原細菌について、分子疫学的手法を用いて関連性を鑑別することが最も一般的である。腸管出血性大腸菌の分子疫学解析法として汎用さ

れている PFGE 法は一般的な手法であり、全国の地方衛生研究所 (以下「地衛研」という。) で実施されている。九州地区では、従来からの PFGE 法と比較して操作が簡便で迅速性に優れ、デジタル結果が得られるといった特徴がある ISPS 法を用いてデータベースを構築し、菌株識別のためのデジタル情報の共有、流行菌株の探知及び監視等を目的に研究を実施している。本研究では、遺伝子型別法の信頼性を確保するため、

ISPS 及び PFGE の精度管理を実施した。ISPS のエクストラバンドについて、九州内の各地衛研からの情報を集約した。また、EHEC 検出状況及び EHEC による集団発生事例についても集約した。

B. 研究方法

IS 型別は、IS の分布に由来する 32 の増幅バンド (No. 1-01~1-16/2-01~2-16) 及び病原性関連遺伝子 (*stx*₁、*stx*₂、*eae* 及び EHEC-*hlyA*) の合計 36 種の遺伝子の検出の有無を 1 及び 0 の 2 進数で置き換えた後、10 進数に再変換した 11 桁の整数として数値化した。また、得られた 36 種類の遺伝子座のコードから BioNumerics Ver. 6.1 (Applied Maths) を用いて Minimum spanning tree (MST) 解析を行った。

EHEC 検出状況及び EHEC による集団発生事例の集約については、メールを利用したエクセルデータ等のやりとりにより実施した。

精度管理については、平成 27 年度及び平成 28 年度は 0157 4 株 (表 1.1~1.2)、平成 29 年度は ISPS 用に 0157EHEC を 3 株 (ISPS 用 5 から 7)、PFGE 用に 026EHEC を 4 株 (PFGE 用 1 から 4) 計 7 株を参加地衛研に配布した (表 1.3)。試験方法については、ISPS 及び PFGE 共に各地衛研が通常行っている方法にて行った。

C. 研究結果及び考察

1. IS 型別データベースの運用

ここでは平成 22 年 4 月から平成 30 年 2 月 14 日までの IS 型別の登録状況等について解析したものを報告する。

九州地区における 0157EHEC の IS 型別の

登録数は平成 30 年 2 月 14 日現在で 1731 件 (平成 22 年度 312 件、平成 23 年度 229 件、平成 24 年度 229 件、平成 25 年度 224 件、平成 26 年度 206 件、平成 27 年度 204 件、平成 28 年度 199 件及び平成 29 年度 128 件) であり、毎年 200 件前後の登録で推移していたが、平成 29 年度は例年と比較して少なかった (表 2)。

平成 22~29 年度に登録された 1731 件の 0157EHEC の IS 型別数は 311 型に分類された。最も多く登録されている 0157EHEC の IS 型別は「66324257743」で 164 株 (9.5%) が九州地区の全ての地衛研から登録された (表 3)。また、8 年間で 21 株以上登録された 0157EHEC の IS 型別数は 202 種類で、それに属する株は合計 847 株 (48.9%) であった。また、MST 解析の結果から、IS 型別の 0157EHEC が分離された地域による差は認められなかったが、分離された時期による偏りは確認された (図 1.1~1.2)。ISPS は操作が簡便で迅速性に優れた特徴を有する一方で、PFGE 型別が同一で IS 型別が異なる株等も報告されていることから、ISPS の精度管理等で解析能力の向上に努める必要がある。ISPS の実施は、人的及び予算的問題、PFGE 法の実施等を考慮し、効率的な運用という観点から、各地衛研において判断され、実施されていると考えられた。

2. 九州地区での EHEC 検出状況

九州地区の地衛研における EHEC の O 群血清型別の検出状況について解析した。

九州地区 12 地衛研にて平成 27 年 4 月から平成 30 年 2 月 14 日までに 1338 株の EHEC 菌株が収集された (表 4.1~4.3)。平成 27

年度は 0157EHEC が 223 株 (47.4%)、非 0157EHEC が 247 株 (52.6%)、0 群血清型別不能 EHEC が 12 株であった。平成 28 年度は 0157EHEC が 227 株 (48.2%)、非 0157EHEC が 244 株 (51.8%) 及び 0 群血清型別不能 EHEC が 8 株であった。平成 29 年度は 0157EHEC が 156 株 (39.3%)、非 0157EHEC が 241 株 (60.7%) そのうち 0 群血清型別不能 EHEC が 12 株であった。九州地区で収集される EHEC の 0 群血清型の内訳に大きな変化は無く、例年、0157EHEC、026EHEC、0111EHEC、0103EHEC 及び 0121EHEC などで全体の 9 割を占めている。九州地区は本研究で 0157EHEC に加えて非 0157EHEC の情報収集にも積極的に取り組んでいる成果が現れているものと思われた。

3. EHEC による集団発生事例数

平成 27 年度から平成 29 年度の 3 年間の EHEC による集団発生事例はそれぞれ 9、11、13 事例であった (表 5.1~5.3)。平成 27 年度は 0157EHEC によるものが 6 事例で、非 0157EHEC によるものは 3 事例、平成 28 年度は 0157EHEC によるものが 5 事例で、非 0157EHEC によるものは 6 事例、平成 29 年度は 0157EHEC によるものが 4 事例で、非 0157EHEC によるものは 9 事例であった。集団発生事例は、保育所など、従来から多発している施設での事例が多い傾向は変わらなかった。

4. 精度管理 (ISPS 及び PFGE)

PFGE 法による遺伝子解析は、病原細菌の疫学調査に必要な標準的な手段である。その一方で、迅速性に優れず、画像による情報共有は①解析に手間がかかる、②解析を実施す

る担当者によって解析結果が異なるなどの難点がある。腸管出血性大腸菌 0157 の遺伝子型別には IS629 によるゲノム構造多型を利用した、遺伝子型別手法である ISPS が広く用いられている。この手法は、①迅速であること、②数値化が容易であることが最大の利点であり、九州ブロックでは、この利点を生かし、平成 22 年より共有データベースを用いたリアルタイムな情報共有を実施している。ISPS 遺伝子型別結果の共有においては、各施設において正確に数値化されていることが、データの信頼性を確保する上で非常に重要となる。そこで九州ブロックでは、検査技術の向上・維持と正確な数値化を行うためのトレーニングを目的とし、12 地衛研を対象に精度管理を実施している。ISPS では、標的領域に起きた挿入、または、欠失が原因で現れる「明瞭なエクストラバンド」が観察されることが知られている。これらのエクストラバンドを正しく判定できることが重要である。

ISPS の精度管理として、平成 27 年度はエクストラバンドを含む 4 株を配布し実施した。エクストラバンドのない A~C については全施設で正しく判定された。しかし、2 つのエクストラバンドを含む D については、4 地衛研で誤判定がみられた (図 2.1~2.4)。ゲル下部のエクストラバンド (1-14~1-15 間) については、1-15 のバンドと重なるため、注意深く判定を行う必要がある。平成 28 年度も平成 27 年度と同様に 4 株を配布し精度管理を実施した。エクストラバンドのない A については全施設で正しく判定された。しかし、エクストラバンドを含む B、C 及び D については、3 地衛研で誤判定がみられた (図 2.5)。平成 29 年度は 3 株を配布し精度管理を実施した。一部の地衛研において、検体

の取り違え及び誤判定が認められた（表 6.1～図 6.3）が、概ね良好であった。

平成 27 年度の PFGE の精度管理は、10 地衛研が参加して実施した。泳動は概ね良好に行われていたが（図 3.1～図 3.5）、10 地衛研の各担当者が判定したバンド数が全て一致した地衛研はなかった（表 7）。平成 28 年度は 11 地衛研が参加した。平成 27 年度と同様に泳動は概ね良好に行われていたが（図 4.1～図 4.4）、11 地衛研の各担当者が判定したバンド数がすべて一致した地衛研はなかった。ほとんどの地衛研が正解目安と 0～3 本相違であった（表 8）。平成 29 年度は 11 地衛研が参加した。4 株を配布し、そのうちの 1 株に対する関連性を PFGE により明らかにするように問題を作成した（図 5）。PFGE の写真を見ると一部制限酵素による消化が不十分と考えられる地衛研があったが、概ね電気泳動像は鮮明で手技自体は良好に行われていると考えられた（図 6.1～6.11）。参加した 11 地衛研全てにおいて、関連性に対する回答は全て一致した（表 9）。平成 29 年度の精度管理において、ISPS 及び PFGE 両方で一部の地衛研において、菌株の輸送中又は各地衛研での保存中に変異が生じたと考えられる事例が認められた（図 7.1～図 7.3）。各地衛研に配布した菌株の保存状況と検査実施日に特に差は認められなかった（表 10）。

5. ISPS エクストラバンド情報の集約

ISPS のエクストラバンド情報は、九州地区 6 地衛研から得られた。代表的な ISPS のエクストラバンドの写真を図 8.1 から 8.4 に示す。ISPS のエクストラバンドは、

6 か所報告された（表 11）。報告された 6 か所のうち、1-02 と 1-03 の間、1-14 と 1-15 の間及び 1-12 と 1-13 の間の 3 か所のエクストラバンドは、誤判定する可能性があるため注意が必要である。

D. 結論

九州地区における 0157EHEC の IS 型別の登録数は毎年 200 件前後の登録で推移していたが、平成 29 年度は 128 件と少なかった。この原因は 0157 の検出数が例年と比較して少なかったためと考えられる。平成 22～29 年度に登録された 1731 株の 0157EHEC の IS 型別数は 311 型に分類され、8 年間で 21 株以上登録された 0157EHEC の IS 型別は 202 型でそれに属する株は合計 847 株（48.9%）であった。最も多く登録されている 0157EHEC の IS 型別は「66324257743」で 164 株（9.5%）が 12 地衛研から登録された。

九州地区で平成 27～29 年度に収集された EHEC は 1338 株であった。その内訳は、0157EHEC が 606 株、非 0157 EHEC が 700 株及び血清型別不能が 32 株であった。九州地区は非 0157EHEC の占める比率が 54.7%であり、本研究で 0157EHEC に加えて非 0157EHEC の情報収集にも積極的に取り組んでいる成果が現れているものと思われる。平成 27～29 年度の 3 年間の EHEC による集団発生事例は 33 事例であった。その内訳は、0157EHEC によるものが 15 事例で、非 0157EHEC によるものは 18 事例であった。集団発生事例は、保育所など、従来から多発している施設での事例が多い傾向は変わらなかった。

精度管理は ISPS 及び PFGE について実施

した。ISPS では、エクストラバンドがある菌株では誤判定も見られた。PFGE では、泳動は概ね良好に行われていたが、一部、制限酵素処理が不十分な事例が認められた。また、平成 29 年度の精度管理において、菌株を輸送中又は保存中に変異したと考えられる事案が発生した。精度管理に使用する菌株は、より慎重に選定する必要があると考えられた。

E. 研究発表

1. 誌上発表

- 1) 上野詩歩子、黒岩祥子、若松倫子、熊本サチ子、永岡貴美子、長岡章次、寺松孝二、畔野征子、梅崎みどり、吉田まり子、松尾美智代、濱崎光宏、中山志幸、世良暢之；保育所で発生した腸管出血性大腸菌 O26:H11 による集団感染事例-福岡県。病原微生物検出情報 2017, 38: 148-149.
- 2) 吉田弘、高橋雅輝、濱崎光宏、山下育孝、四宮博人、山下照夫、皆川洋子、岸本剛、調恒明；エンテロウイルス検査の信頼性確保について。病原微生物検出情報 2017, 38: 199-200.

2. 学会発表

- 1) Hiroaki Shigemura, Koichi Murakami, Tamie Noda, Mari Matsui, Satowa, Suzuki, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Nobuyuki Sera; Decrease in extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* from chicken meats in Japan. International Union of Microbiological Societies (IUMS 2017)、15th International Congress of

Bacteriology and Applied Microbiology (Singapore)

- 2) 濱崎光宏、市原祥子、中山志幸、世良暢之、吉田弘；環境水中の腸管系ウイルス量と感染症発生動向調査事業における患者報告数との関連について。第 76 回日本公衆衛生学会総会（2018 年 10 月、鹿児島県）
- 3) 吉田弘、滝澤剛則、小澤広規、高橋雅輝、筒井理華、中田恵子、濱崎光宏、世良暢之、堀田千恵美；環境サーベイランスによるポリオウイルス検出時の課題。第 76 回日本公衆衛生学会総会（2018 年 10 月、鹿児島県）
- 4) 江藤良樹、重村洋明、世良暢之；原因不明食中毒疑い事例の患者糞便からの多殻目粘液胞子虫遺伝子の検出状況について。第 38 回日本食品微生物学会学術総会（2017 年 10 月、徳島県）
- 5) カール由起、重村洋明、中山志幸、村上光一、世良暢之；肉用鶏、鶏肉及びヒトから分離した *Campylobacter jejuni* の薬剤耐性状況について 第 10 回日本カンピロバクター研究会総会（2017 年 11 月、宮崎県）
- 6) 濱崎光宏、中山志幸、世良暢之、上野詩歩子、梅崎みどり；保育所で発生した腸管出血性大腸菌 O26:H11 による集団感染事例-福岡県。第 91 回日本細菌学会総会（2018 年 3 月、福岡県）
- 7) 江藤良樹、濱崎光宏、世良暢之；福岡県で分離された稀な血清型の志賀毒素産生性大腸菌が保有する志賀毒素遺伝子の亜型について。第 91 回日本細菌学会総会（2018 年

3月，福岡県)
8) カール由起、重村洋明、中山志幸、
大石明、村上光一、世良暢之；福岡
県における鶏肉及びヒトから分離
した *Campylobacter jejuni* の薬剤

耐性状況について 第91回日本細菌学会総会（2018年3月，福岡県）

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1.1 精度管理に用いた腸管出血性大腸菌

試料名	菌株名	分離年	由来	血清型	志賀毒素遺伝子	IS型別
A	7E006	2007	保菌者	0157:H7	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	66324257743
B	7E032	2007	患者	0157:H7	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	66458474955
C	8E048	2008	患者	0157:H7	<i>stx</i> ₂	22081687690
D	13E079	2013	患者	0157:HNM	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	57733470538

表1.2 精度管理に用いた腸管出血性大腸菌

試料名	菌株名	分離年	由来	血清型	志賀毒素遺伝子	IS型別
菌株A	16E004	2016	保菌者	0157:H-	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	64427577418
菌株B	16E014	2016	患者	0157:H-	<i>stx</i> ₁	57733536074
菌株C	16E015	2016	保菌者	0157:H-	<i>stx</i> ₁	57733536074
菌株D	16E016	2016	保菌者	0157:H-	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	57733536074

表1.3 精度管理に用いた腸管出血性大腸菌

試料名	菌株名	分離年	由来	血清型	志賀毒素遺伝子	MLVA型 (感染研)
PFGE用1	16EC038	2016	保菌者	026:H11	<i>stx</i> ₁	16m2154
PFGE用2	16EC038	2016	保菌者	026:H11	<i>stx</i> ₁	16m2154
PFGE用3	16EC034	2016	患者	026:H11	<i>stx</i> ₁	16m2159
PFGE用4	16EC084	2016	保菌者	026:H11	<i>stx</i> ₁	13m2015
ISPS用5	16EC026	2016	患者	0157:H7	<i>stx</i> ₂	16m0446
ISPS用6	16EC087	2016	患者	0157:H7	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	16m0447
ISPS用7	16EC093	2016	保菌者	0157:H7	<i>stx</i> ₁ + <i>stx</i> ₂	17m0001

表2 九州地区地衛研におけるIS型別登録数

地衛研	IS型別登録数								合計
	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	平成26年度	平成27年度	平成28年度	平成29年度	
1	112	48	61	26	28	46	29	26	376
2	50	53	44	24	32	42	35	23	303
3	30	15	12	15	38	46	10	11	177
4	12	12	17	52	28	15	40	16	192
5	23	18	11	28	26	10	25	17	158
6	6	5	4	8	2	7	2	2	36
7	13	16	24	18	11	14	31	14	141
8	16	10	5	30	25	0	0	7	93
9	5	3	7	2	4	5	3	1	30
10	20	17	16	4	3	4	5	1	70
11	19	25	21	15	8	15	16	9	128
12	6	7	7	2	1	0	3	1	27
合計	312	229	229	224	206	204	199	128	1731

表3 九州地区での登録数が多いIS型別（年度別、地衛研別）

順位	10進数によるIS型別	登録数												合計								
		登録年度								登録地衛研												
		22	23	24	25	26	27	28	29	1	2	3	4		5	6	7	8	9	10	11	12
1	66324257743	22	32	4	11	33	50	9	3	27	18	61	7	12	1	16	6	2	5	8	1	164
2	57733536074	3	15	23	8	16	10	27	12	22	24	4	17	18	12	9	2	1	4	1		114
3	30671622280	33	11	1	7	11	2	2	3	31	7	4		11	3	2		1	6	5		70
4	56643812046	31	14	3	13	3				19	17	7	3	6	2	8			1	1		64
5	66457435083	6	2	9	10	1	5	9	11	11	9	4	3	2	1	10		1	4	8		53
6	30653010185	9	4	4	14	6	3	2	4	7	5	4	4	8		2	8		5	2	1	46
7	57733470538		2	12	1	16	5	4	1	12	5		18	3		1		1		1		41
8	22081687688	12			2	16			10	15	9	9		3				2	1	1		40
9	27384601163	26	3		7					8	1	4		8	6		2	3	2	2		36
10	66324192207	3	7	7		3	10	3	2	12	9	3	2	1		4			4			35

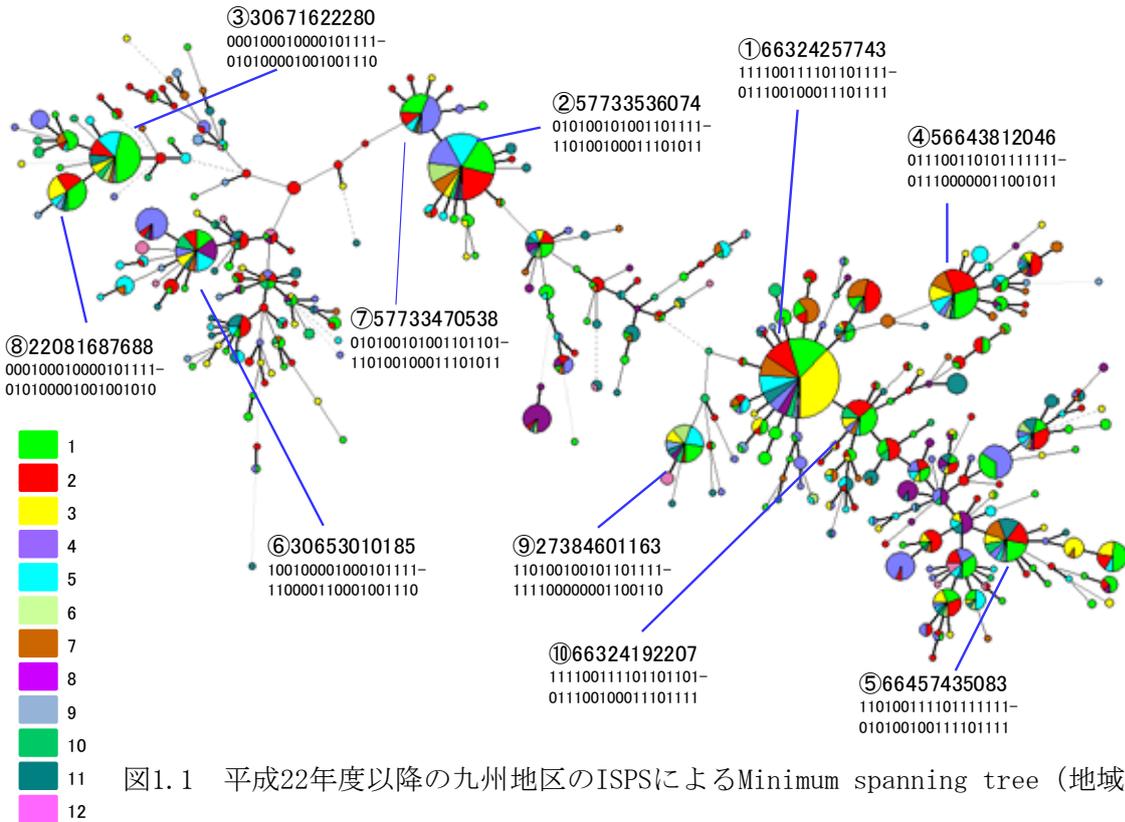


図1.1 平成22年度以降の九州地区のISPSによるMinimum spanning tree（地域別）

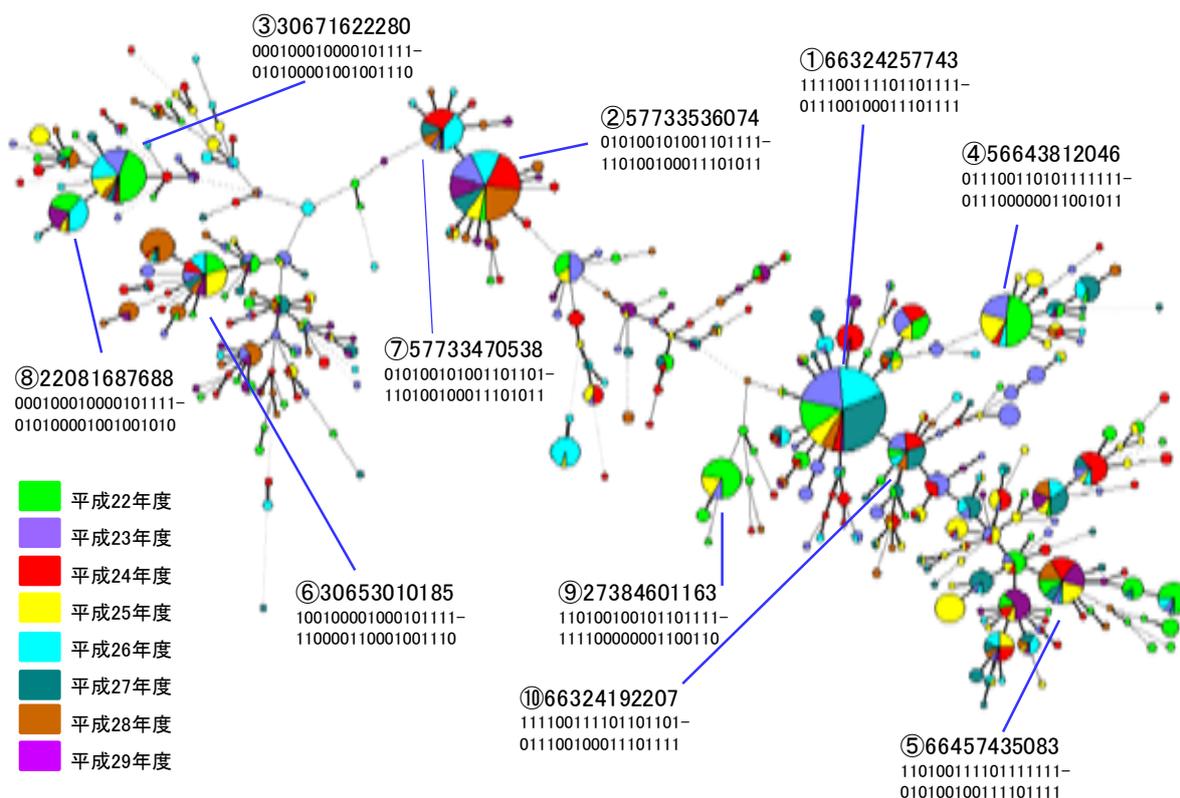


図1.2 平成22年度以降の九州地区のISPSによるMinimum spanning tree (年度別)

表4.1 平成27年度に九州地区地衛研で収集された腸管出血性大腸菌株数の集計

地衛研	O血清型別の分離菌株数															計					
	0157	026	0111	0103	0121	091	0145	0183	0115	0136	055	0128abc	0152	04	06		05	0119	0169	0142	OUT
1	46	4		1		4	4		1											4	64
2	39	7		1	1		1			1					1					3	54
3	46	5	2	2			1										1				57
4	25	11	2													2		1		1	42
5	10	6	10	10	1					1										1	39
6	7	4																			11
7	14	1	3			2														1	21
8	8	20		1																	29
9	6																				6
10	8	5	2	71	0	3	0	0	3												92
11	14	10	6			2			1					1					1	2	37
12	0	3	0	0	12	0	4						1								20
合計	223	76	25	86	14	11	10	0	5	1	1	0	1	1	1	2	1			12	470

表4.2 平成28年度に九州地区地衛研で収集された腸管出血性大腸菌株数の集計

地衛研	O血清型別の分離菌株数																計	
	0157	026	0111	0103	0121	091	0145	0183	0115	0128abc	0152	04	05	0119	0165	01		OUT
1	29	57	3			2							1				1	93
2	33	7	1	2	4	3		1			2	1	1	1			1	57
3	10	1		2											1		1	15
4	72	15		3					2				1					93
5	25	40	9	2	3	1				1							1	82
6	2																	2
7	31	16	1	3	1												1	53
8	4	11		2	1				1	2							1	22
9	3	2						3										8
10	1	2														1		4
11	14	10	4	3													2	33
12	3	3						3										9
合計	227	164	18	17	9	6	6	1	3	3	2	1	3	1	1	1	8	471

表4.3 平成29年度に九州地区地衛研で収集された腸管出血性大腸菌株数の集計

地衛研	O血清型別の分離菌株数																計	
	0157	026	0111	0103	0121	091	0115	0145	0165	05	06	076	0119	086a	0125	OUT		
1	26	18	1	4		4	3								1	1	58	
2	21	24		21	3	3	3	1		1							1	78
3	11	1			1													13
4	46	8							1									55
5	17	17	1	2	6		1										3	47
6	2	1																3
7	14	1	24		1			1					1				1	43
8	7	11		3							1	1					1	24
9	1	1			2												1	5
10	1	2							1								1	5
11	9	20	14	2					1					1			3	50
12	1	15																16
合計	156	119	40	32	13	7	7	2	3	1	1	1	1	1	1	1	12	397

表5.1 平成27年度に九州地区地衛研で確認されたEHEC集団発生事例数

地衛研	事例No.	血清型	毒素型	発生場所
1	1	0157	stx_1+stx_2	家庭内
	2	0157	stx_1+stx_2	飲食店
2	1	0157:H(-)	stx_1+stx_2	老人ホーム
7	1	0157	stx_1+stx_2	飲食店
8	1	026:H11	stx_1	保育園
	2	0157:H7	stx_1+stx_2	家庭内
	3	0157:H7	stx_2	家庭内
10	1	0103:H2	stx_1	保育園
12	1	0121:H19	stx_2	保育園

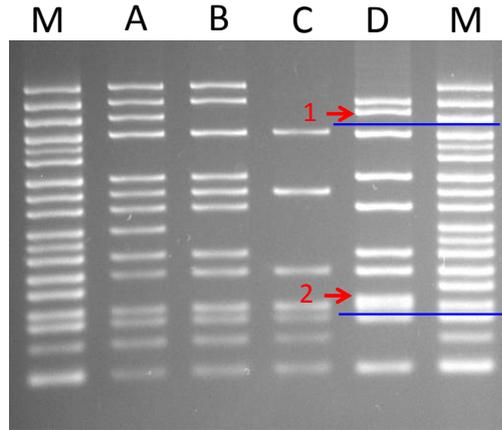
表5.2 平成28年度に九州地区地衛研で確認されたEHEC集団発生事例

地衛研	0血清型別のEHEC集団発生事例数			
	0157	(発生場所)	026	(発生場所)
1			1	保育所
2	1	保育所		
	1	学童保育所		
4	1	保育所	1	保育所
5			2	保育所
7	1	幼稚園及び家庭	2	保育所及び家庭
	1	保育所		
合計	5		6	

表5.3 平成29年度に九州地区地衛研で確認されたEHEC集団発生事例数

地衛研No.	事例No.	血清型	毒素型	発生場所
1	1	026:H11	stx_1	保育所
2	1	0103:H2	stx_1	保育所
	2	026:H11	stx_1	保育所
	3	0157:H7	stx_2	不明
4	1	026:H11	stx_1	保育園
	2	0157:H7	stx_2	児童福祉施設
7	1	0111:H-	stx_1	保育園及び家庭
8	1	026:H11	stx_1	家庭内
	2	026:H11	stx_1	介護老人施設
	3	0157:H-	stx_1+stx_2	有料老人ホーム
	4	0103:H2	stx_1	家庭内
	5	0157:H7	stx_2	保育園
12	1	026:HUT	stx_1	家庭内

- 菌株A
 - 正解 12/12地衛研
- 菌株B
 - 正解 12/12地衛研
- 菌株C
 - 正解 12/12地衛研
- 菌株D



(2本のエクストラバンド有り)

- 正解 8/12地衛研
- 2番のバンドで誤答 4地衛研

図2.1 平成27年度ISPS精度管理の結果

エクストラバンドと本物のバンドが綺麗に分離できた例 (正答)

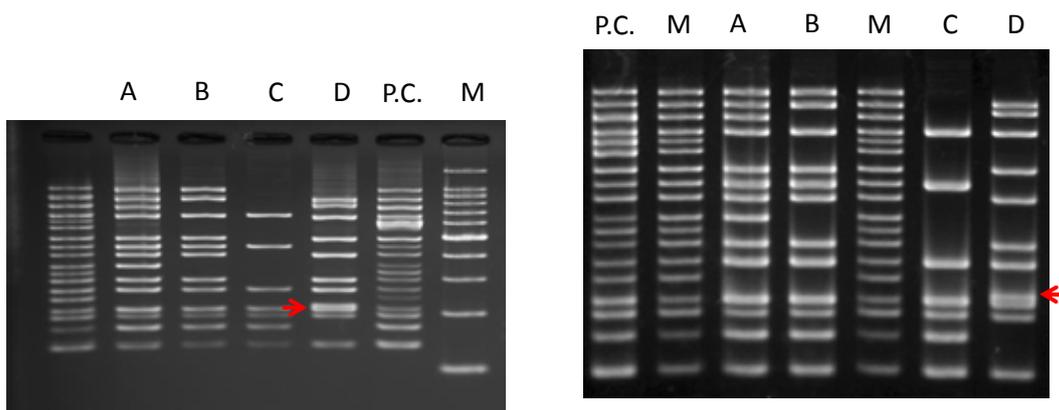


図2.2 平成27年度ISPS精度管理の結果

エクストラバンドと本物のバンドが綺麗に分離できなかった例（誤答）

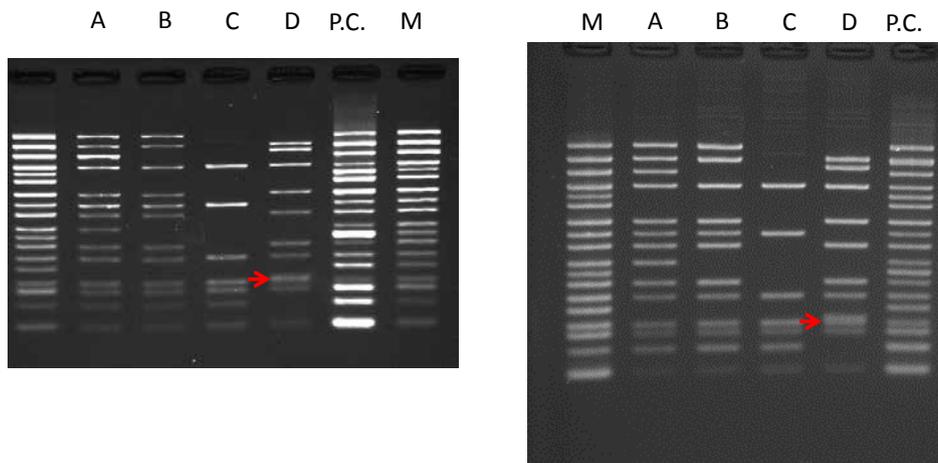


図2.3 平成27年度ISPS精度管理の結果

エクストラバンドと本物のバンドが綺麗に分離できなかった例（誤答）

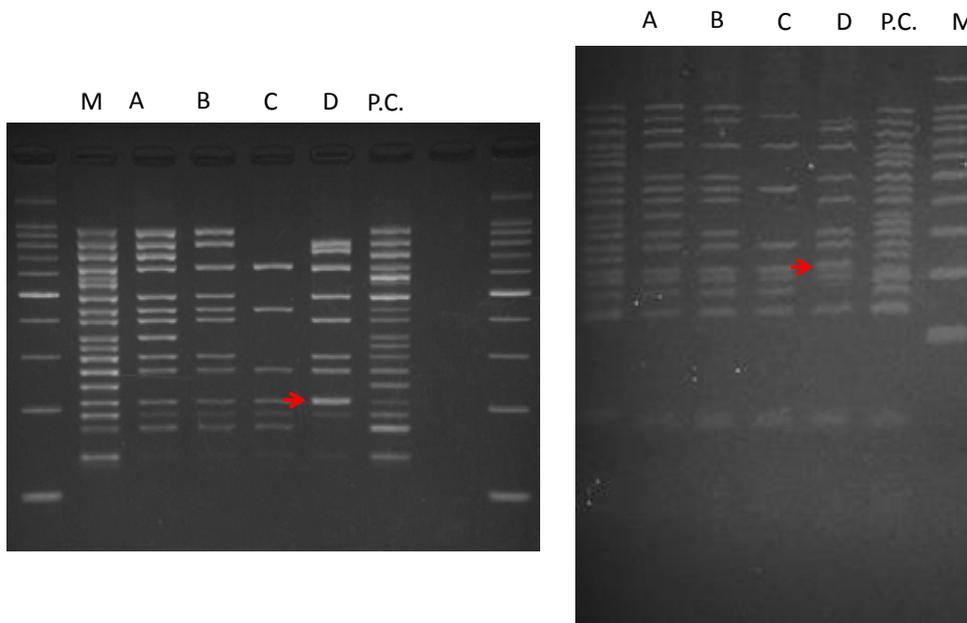


図2.4 平成27年度ISPS精度管理の結果

- 菌株A
 - 正解 12/12地衛研
- 菌株B、C、D
 - (1本のエクストラバンド有り)
 - 正解 9/12地衛研

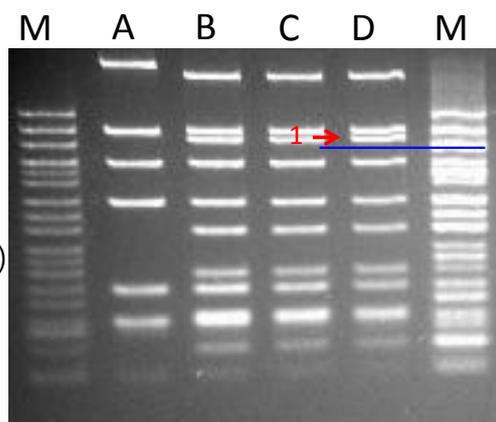


図2.5 平成28年度ISPSの結果

表6.1 菌株ISPS用5に対する各地衛研のISPS結果（平成29年度）

地衛研	set-1												set-2																					
1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
2	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
3	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
4	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
5	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
6	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
7	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
8	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
9	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
10	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
11	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
12	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0

表6.2 菌株ISPS用6に対する各地衛研のISPS結果（平成29年度）

地衛研	set-1												set-2																							
1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
2	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
3	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	
4	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
5	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
6	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
7	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
8	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
9	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
10	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
11	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
12	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1

表6.3 菌株ISPS用7に対する各地衛研のISPS結果（平成29年度）

地衛研	set-1														set-2																					
1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
2	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
3	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	
4	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
5	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
6	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
7	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
8	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
9	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
10	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
11	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
12	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0

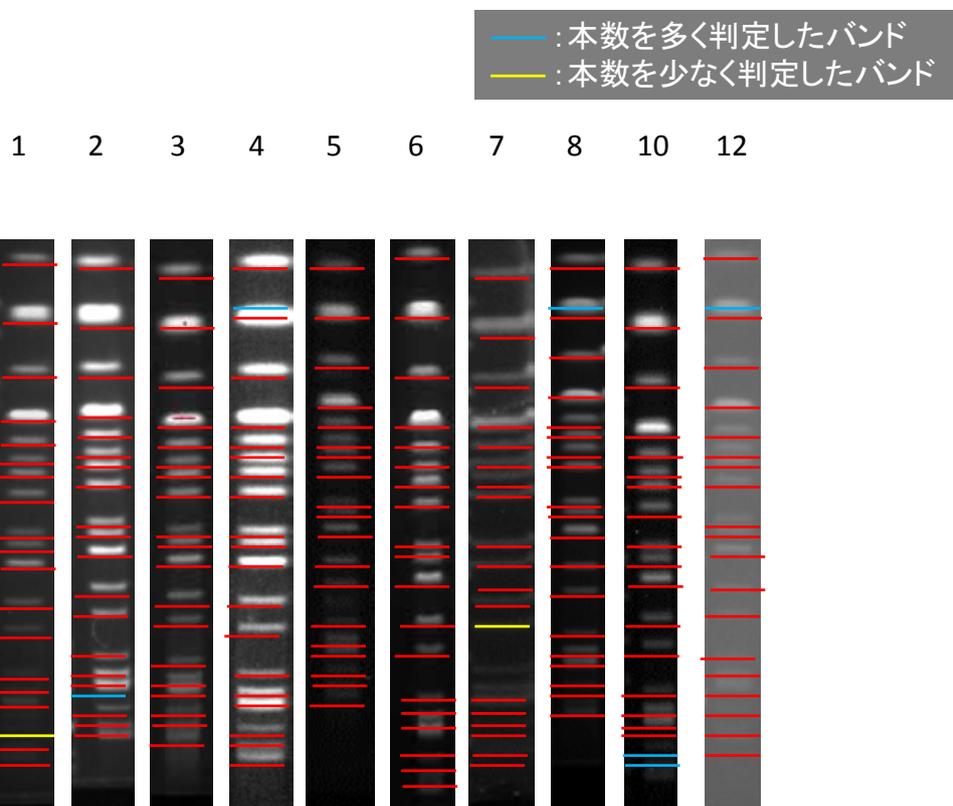


図3.1 平成27年度PFGE精度管理の結果（菌株A）

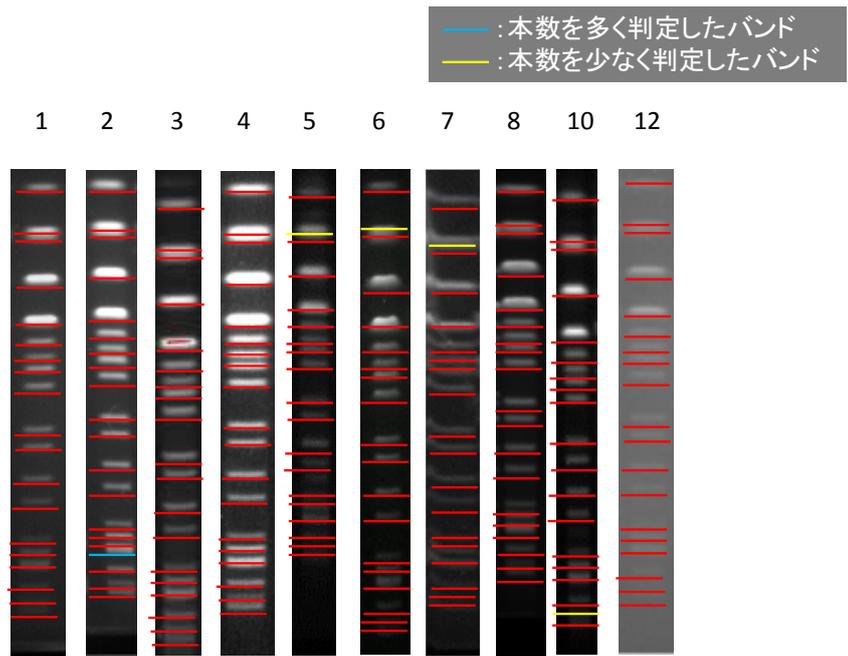


図3.2 平成27年度PFGE精度管理の結果（菌株B）

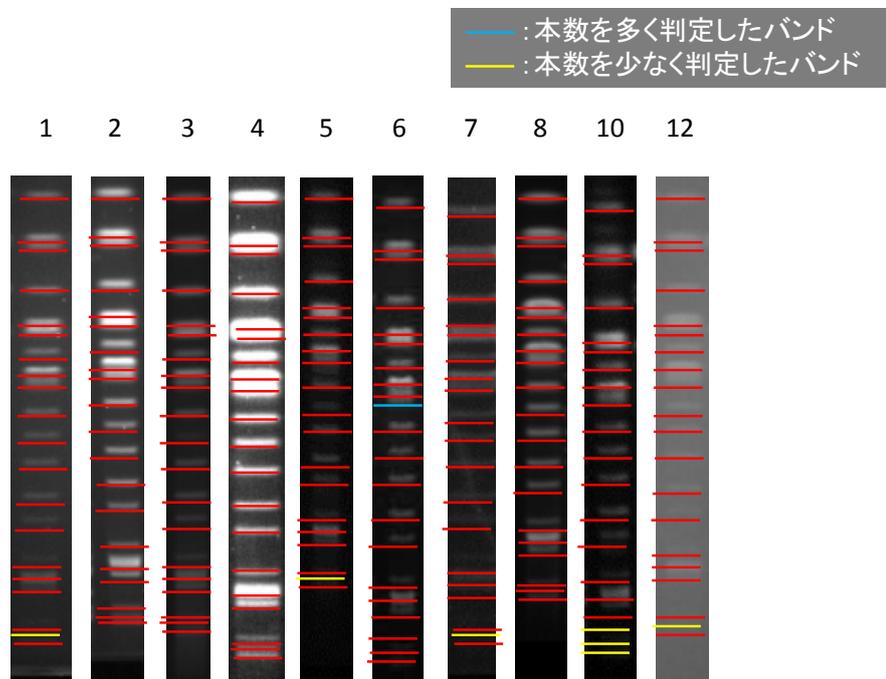


図3.3 平成27年度PFGE精度管理の結果（菌株C）

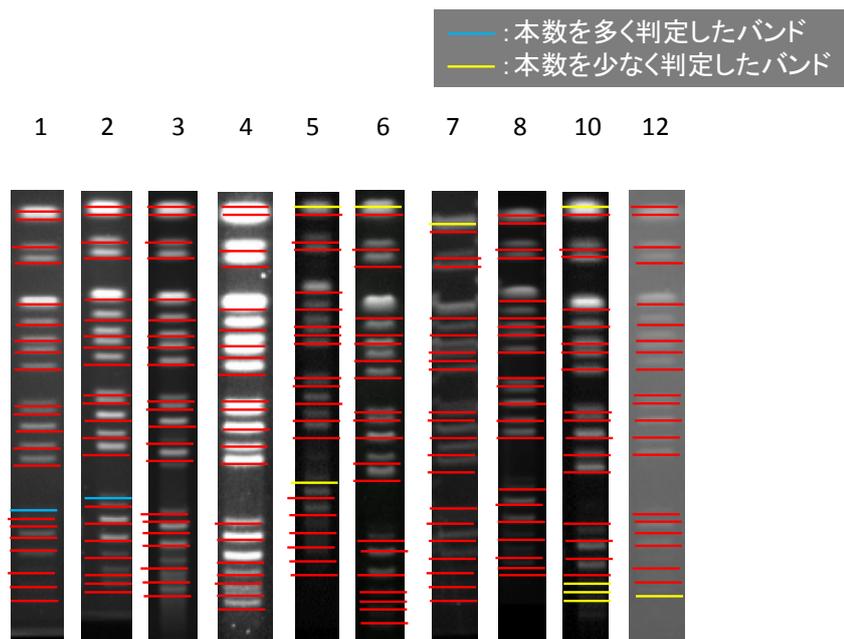


図3.4 平成27年度PFGE精度管理の結果（菌株D）

表7 平成27年度PFGE精度管理の結果（バンド数）（ ）は正解目安

地衛研	菌株				正解数 (0～3本相違)
	A (19)	B (19)	C (20)	D (21)	
1	18	19	19	22	4/4
2	20	20	20	22	4/4
3	19	20	20	21	4/4
4	20	19	20	21	4/4
5	19	18	19	19	4/4
6	19	18	21	20	4/4
7	18	18	19	20	4/4
8	20	19	20	21	4/4
10	17	18	17	17	3/4
12	20	19	19	20	4/4

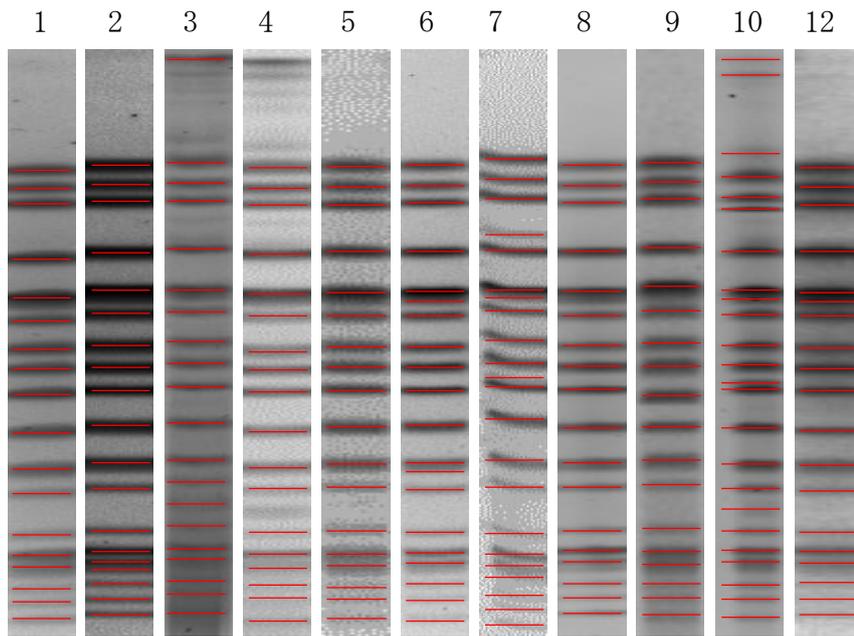


図4.1 平成28年度PFGE精度管理の結果（菌株A）

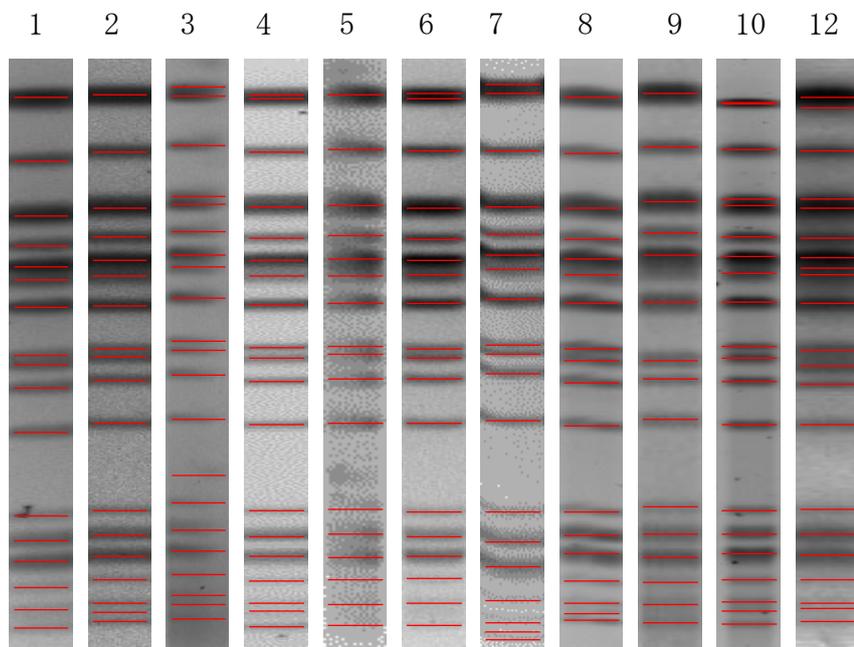


図4.2 平成28年度PFGE精度管理PFGEの結果（菌株B）

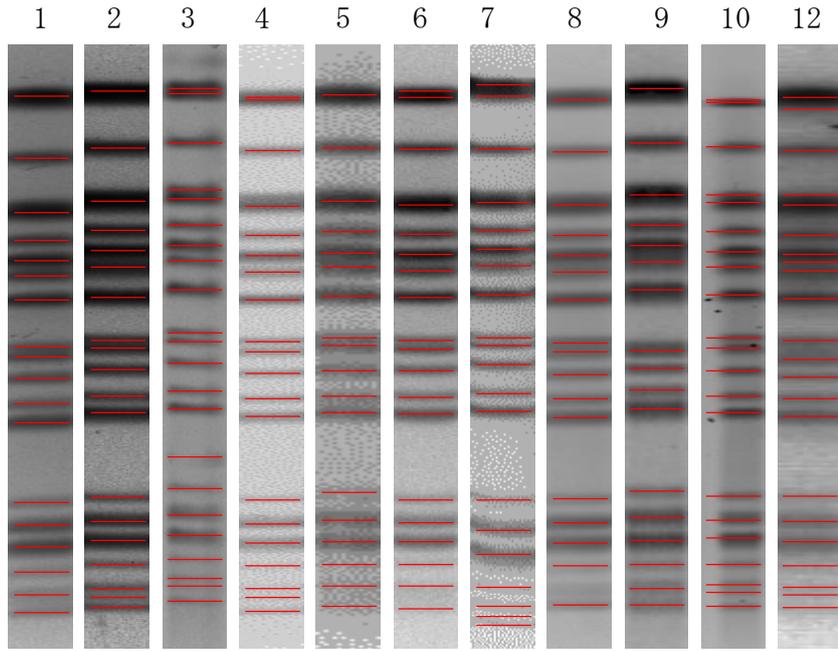


図4.3 平成28年度PFGE精度管理PFGEの結果（菌株C）

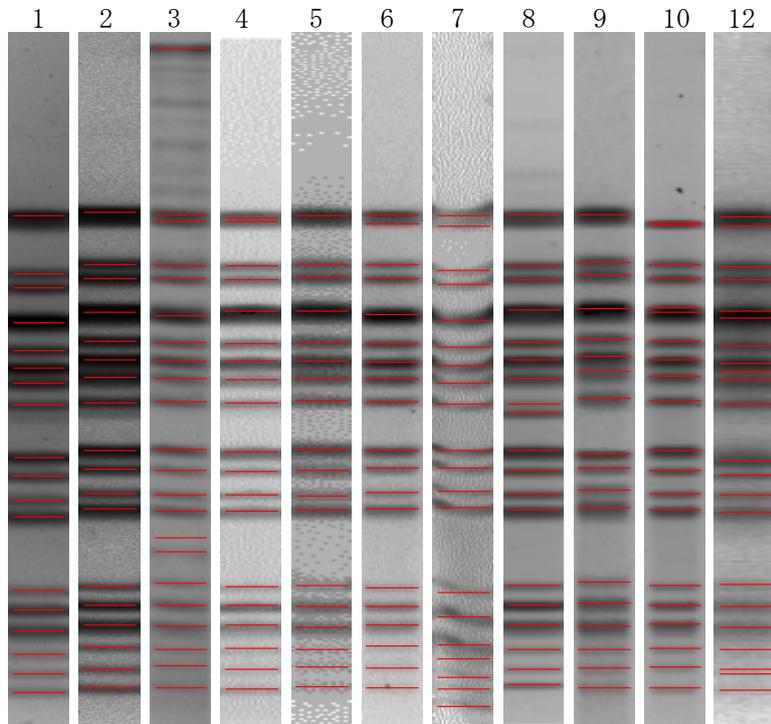


図4.4 平成28年度PFGE精度管理PFGEの結果（菌株D）

表8 平成28年度PFGE精度管理の結果（バンド数）

地衛研	菌株			
	菌株A	菌株B	菌株C	菌株D
1	18	17	18	18
2	19	18	19	18
3	20	21	22	22
4	18	19	20	19
5	18	17	18	18
6	20	18	19	19
7	22	19	20	20
8	18	18	17	19
9	18	15	17	18
10	24	20	21	20
12	19	21	22	22

事例

管内の施設で O26 : H11 を原因とする集団感染事例が発生した。また、同一地域において、当該施設と関連がないと考えられる患者からも O26 : H11 が検出されている。これらの事例において検出された O26 : H11 の関連性を PFGE により明らかにして頂きたい。

回答

該当するものを○で囲んでください。PFGE 用 1 と比較して異なるバンドの本数を記載してください。

問 1 PFGE 用 1 と PFGE 用 2 は（一致・密接に関係・関係する可能性がある・不一致）
その理由：PFGE 用 1 と PFGE 用 2 は PFGE に於いて 本のバンドが異なる。

問 2 PFGE 用 1 と PFGE 用 3 は（一致・密接に関係・関係する可能性がある・不一致）
その理由：PFGE 用 1 と PFGE 用 3 は PFGE に於いて 本のバンドが異なる。

問 3 PFGE 用 1 と PFGE 用 4 は（一致・密接に関係・関係する可能性がある・不一致）
その理由：PFGE 用 1 と PFGE 用 4 は PFGE に於いて 本のバンドが異なる。

図5 平成29年度PFGE精度管理の問題

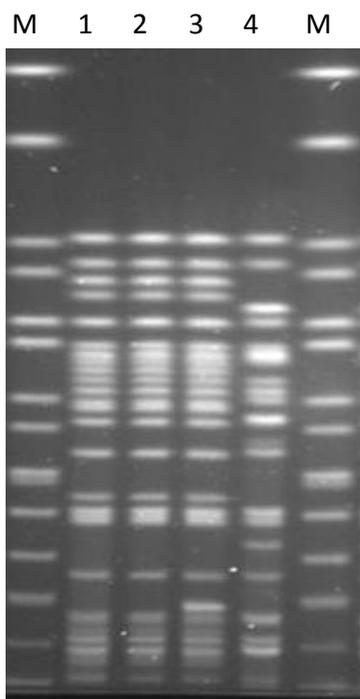


図6.1 地衛研1のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

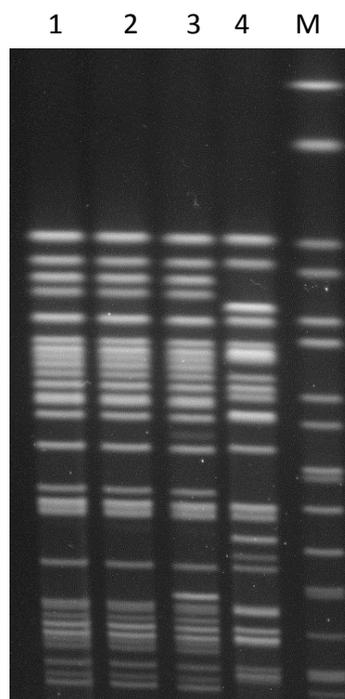


図6.2 地衛研2のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

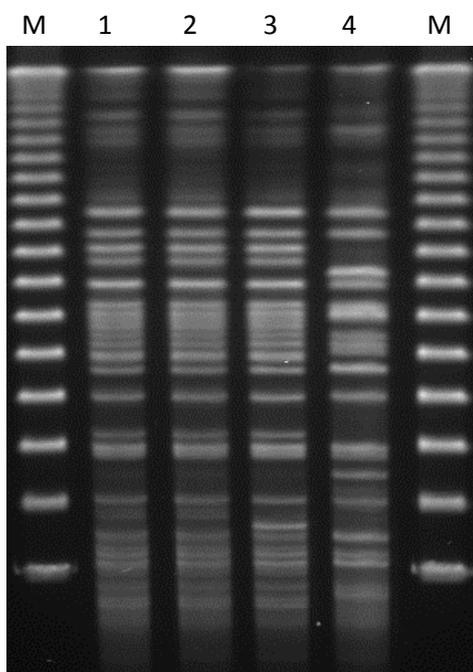


図6.3 地衛研3のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

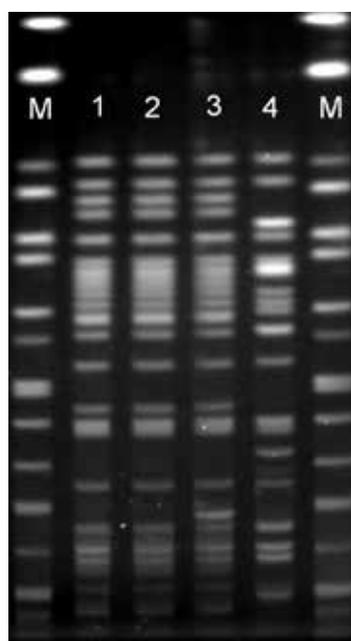


図6.4 地衛研4のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

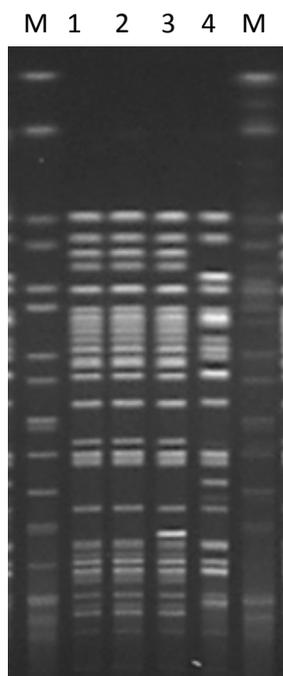


図6.5 地衛研5のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

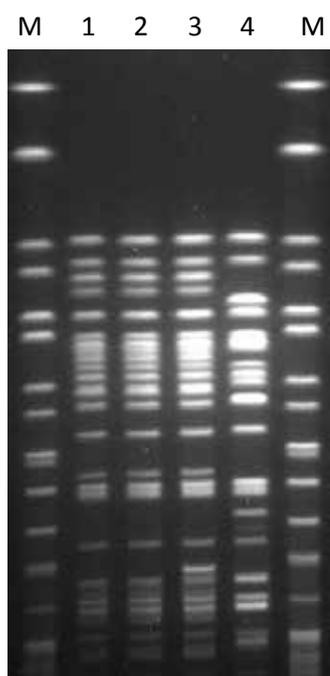


図6.6 地衛研6のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

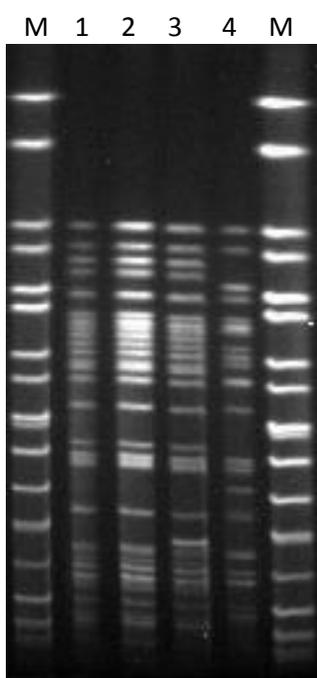


図6.7 地衛研7のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

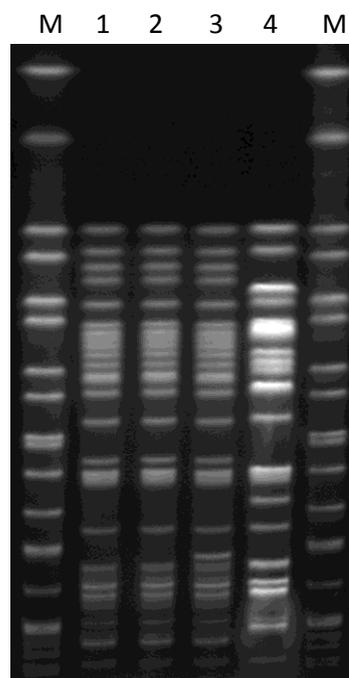


図6.8 地衛研8のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

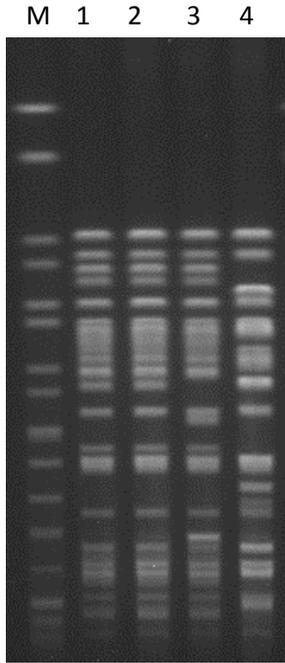


図6.9 地衛研9のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

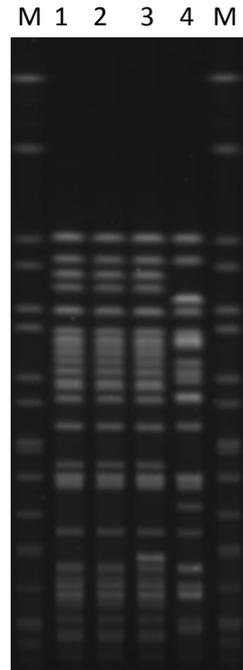


図6.10 地衛研10のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

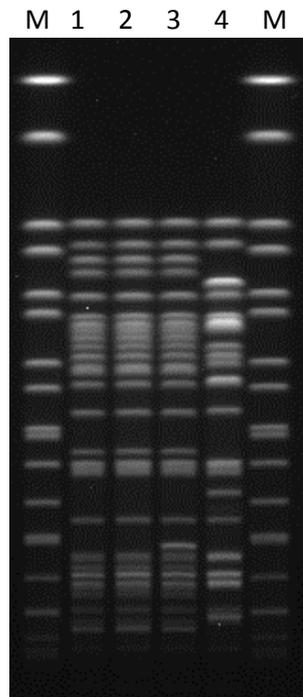


図6.11 地衛研12のPFGE電気泳動写真
(平成29年度)

表9 平成29年度PFGE精度管理結果

地衛研	問1		問2		問3	
	関連性	異なるバンド数	関連性	異なるバンド数	関連性	異なるバンド数
1	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	11本
2	一致	0本	密接に關係	2本	不一致	15本
3	一致	0本	密接に關係	3本	不一致	20本
4	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	11本
5	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	14本
6	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	15本
7	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	11本
8	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	13本
9	一致	0本	密接に關係	3本	不一致	11本
10	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	10本
12	一致	0本	密接に關係	1本	不一致	16本

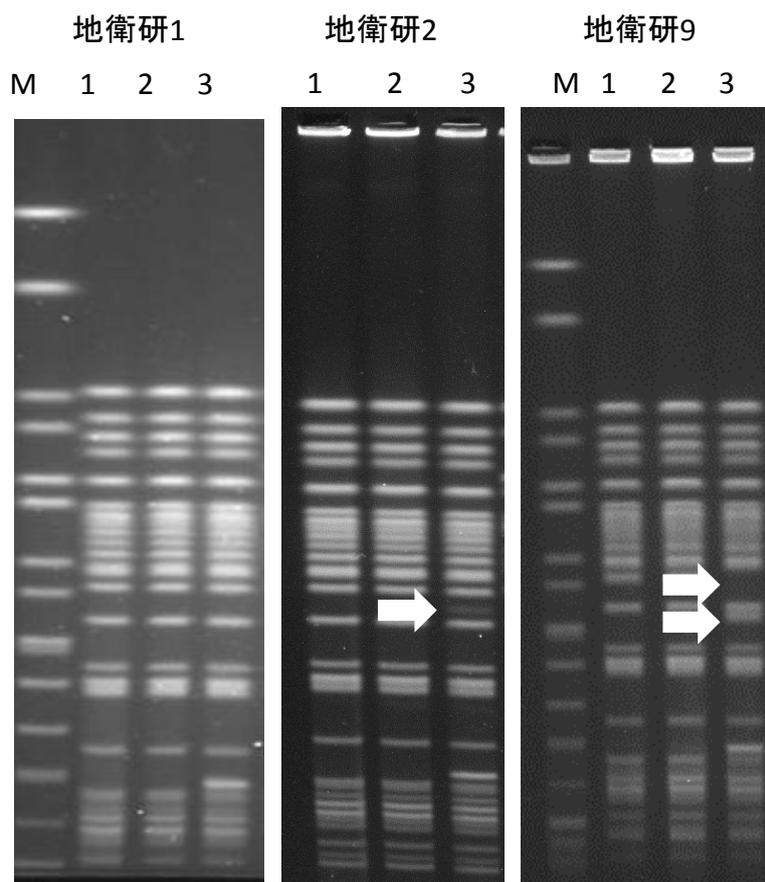


図7.1 変異した可能性があるPFGE写真
(平成29年度)

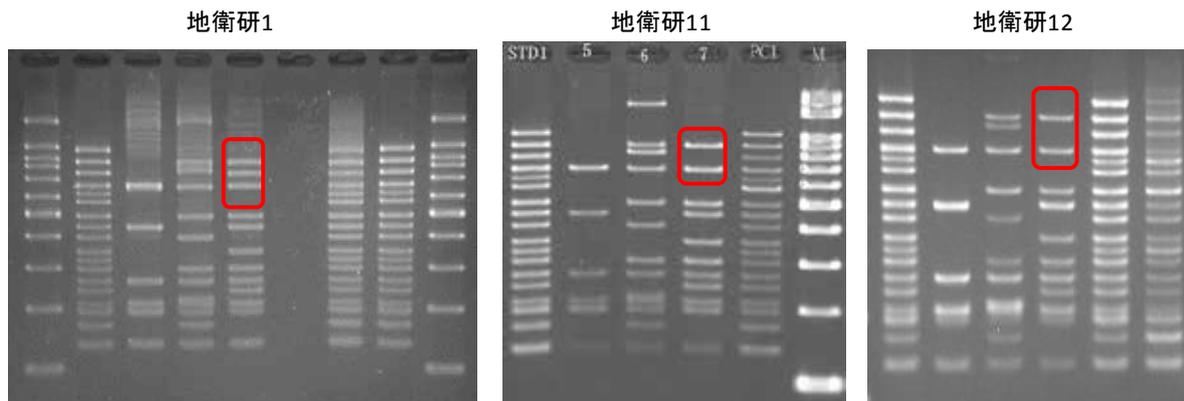


図7.2 *stx*ファージが脱落したと考えられる事例のSet1のISPS写真

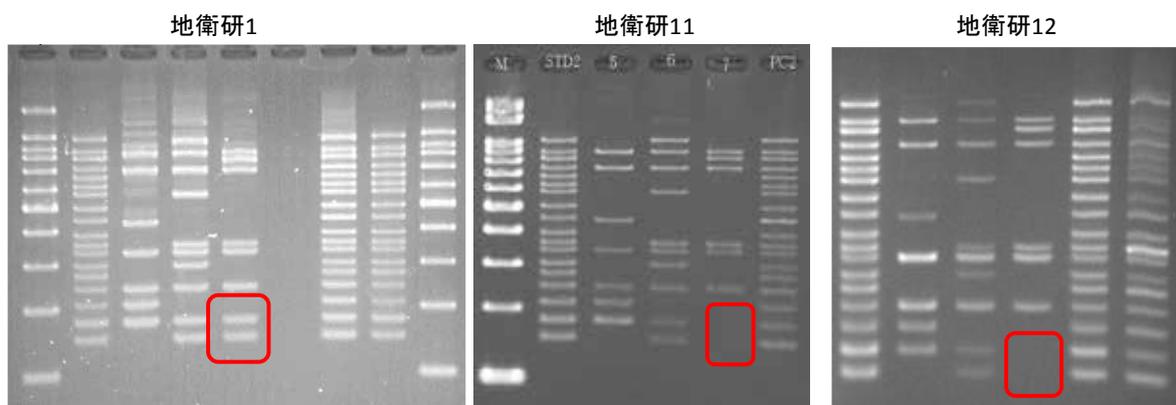


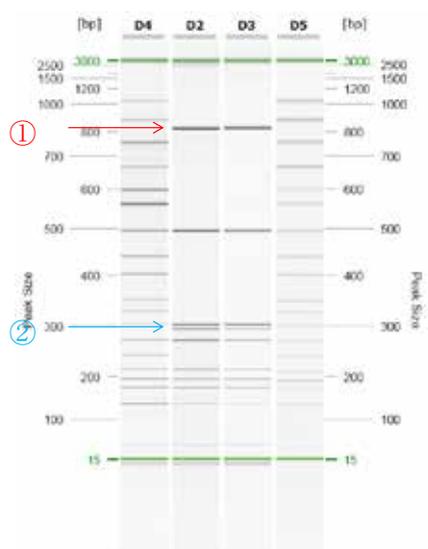
図7.3 *stx*ファージが脱落したと考えられる事例のSet2のISPS写真

表10 精度管理菌株の保存状況と精度管理検査実施日

地衛研	菌株到着日	保存状態	保存温度	検査開始日	
				PFGE	ISPS
1	10月23日	そのまま保存	20℃	12月7日	12月19日
2	10月25日	そのまま保存	20℃	11月13日	10月31日
3	10月24日	そのまま保存	20℃	11月6日	11月27日
4	10月24日	そのまま保存	20℃	11月17日	11月13日
5	10月24日	そのまま保存	20℃	11月27日	12月4日
6	10月24日	そのまま保存	室温	10月30日	10月25日
7	10月24日	そのまま保存	20℃	12月4日	11月27日
8	10月24日	そのまま保存	室温	10月30	10月25日
9	10月24日	そのまま保存	20℃	11月24日	11月13日
10	10月25日	そのまま保存	4℃	12月13日	11月21日
11	不明	そのまま保存	20℃	実施なし	12月18日
12	10月30日	そのまま保存	室温 (10/30~12/13まで 23~26℃)	12月13日	11月29日

菌株調整日：10月16日
 使用培地：カジトン培地
 菌株発送日：10月23日

- 泳動像



- 方法

- 使用機器：QIAxcel
- 泳動条件
 - QIAxcel DNA High Resolution Kit
 - method OM2100

- 結果

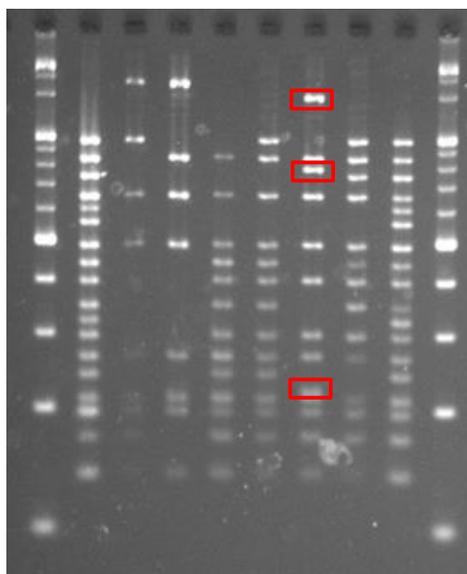
- エキストラバンドの位置
 - ①1-02と1-03の間
 - ②1-12のバンドの下
- 型名（感染研DB）
 - MLVA Type 16m0169
 - MLVA Comp 16c027
- 判定表（次ページに従って1/0標記）
 - Set1: 000000100001101111
 - Set2: 011100000011101010

- 備考（コメント・注意点等）

同じMLVA Compで1000 bp以上のエキストラバンドがある株や②がない株も存在する。

図8.1 ISPSのエキストラバンド情報

- 泳動像



- 方法

- 使用機器：Mupid-exu
- 泳動条件
 - ゲル濃度：3%
 - 電圧：100V
 - 泳動時間：99分
 - 泳動温度：室温（26度前後）

- 結果

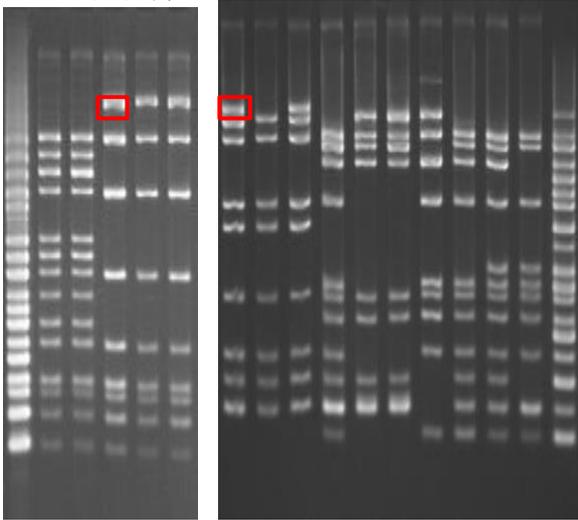
- エキストラバンドの位置
 - 1-01の上
 - 1-02と03の間
 - 1-14と15の間
- 判定表
 - Set1: 010100101001101111
 - Set2: 110100100011101011

- 菌株情報

2016年・20160610

図8.2 ISPSのエキストラバンド情報

- 泳動像



- 方法

- 使用機器：Mupid
- 泳動条件
 - 3%アガロースゲル
 - 100v
 - 65分
 - 泳動温度

- 結果

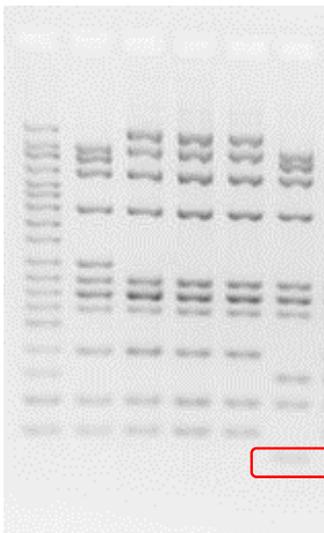
- エキストラバンドの位置
 - 1-01の上
 - 2-01の上
- 型名 e590
- 判定表
 - Set1:100100001000101111
 - Set2: 110000110001001110

- 菌株情報

- 平成21年分離 21-7

図8.3 ISPSのエキストラバンド情報

- 泳動像



- 方法

使用機器：Mupid-2plus

泳動条件：

ゲル濃度：3%

泳動条件：50V, 40分+100V, 65分

- 結果

エキストラバンドの位置

2-stx1の下

判定表

1st : 111100111101111101

2nd : 011100100011100110

- 菌株情報

分離年：2016年、NPH-STEC-1216

図8.4 ISPSのエキストラバンド情報

表11 IS-printingエクストラバンドの出現位置と報告数

エクストラバンドの位置	報告株数	報告地衛研数
1-02と1-03の間	10	5
1-14と1-15の間	5	3
1-12と1-13の間	1	1
1-01の上	20	3
2-01の上	1	1
2-stx ₁ の下	1	1