

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
平成 29 年度 総括研究報告書

食品由来が疑われる有症事案に係る調査（食中毒調査）の迅速化・高度化に関する研究

研究代表者 大西 真 （国立感染症研究所細菌第一部・部長）
研究分担者 林 哲也 （九州大学・大学院医学研究院・教授）
研究分担者 大岡 唯祐 （鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科・微生物学・講師）
研究分担者 鈴木 匡弘 （藤田医科大学医学部微生物学講座・准教授）
研究分担者 砂川 富正 （国立感染症研究所感染症疫学センター・室長）

研究要旨

腸管出血性大腸菌の調査を高度化するためのツール開発を行なった。IS-printing (IS-P) 法はスクリーニング法として各地の地方衛生研究所等で広く使用されているが、現時点では O157 と O26 のみに適用可能である。O121 に関しては、参照ゲノムの解析から IS600 と IS629 を主要な IS として同定し、この 2 つを標的候補として決定した。さらに、ISMMapper を用いた本研究で取得した 83 株のゲノム情報を利用し、IS600 と IS629 を標的とする IS-P 法の有用性が示唆された。O103 に関しては、国内分離株 73 株のゲノム情報を取得し、30 株のゲノム情報を追加取得中である。参照ゲノムの解析では、IS629 が主要な IS であることが判明し、O103 ではこれを標的 IS とすることに決定した。O111 用の IS-P として、計 600 株の O111 株のドラフトゲノム情報を基に、O111 株間における IS629 挿入部位の多様性を検証し、利用可能であることを見出した。O111 IS-printing 法のプロトタイプを作成し、PCR 条件の至適化を検討した。

また、迅速・簡易な分子疫学解析法として利用されている PCR based ORF typing (POT) 法改良の検討も行った。データベースからダウンロードしたゲノムデータを比較、検討し、菌株識別に有効と期待された 35 個の ORF について O157 以外の 6 血清型の分離株を用いた調査を行った。6 個の ORF が既存の EHEC 用 POT 法の菌株識別能力向上に寄与することが判明した。

IS-P および POT 法よりも高精度な手法である、MLVA 法の改善も試みた。既存の MLVA 法の対象は EHEC O157, O26, O111 に限定されていたが、新規に解析遺伝子座を 26 箇所選定し既存法 (MLVA17 法) に追加することで (MLVA43 法)、O103, O121, O145, O165, O91 も解析可能となった。MLVA43 法で 2018 年分離株の解析を行い、情報提供を開始した。NESID データと MLVA データを突合せさせるプログラムの作成と評価、改善案の検討を行った。また、より迅速な集団発生・広域散発事例の探知を目的として、過去データから算出したベースラインとの比較により、特異な患者報告数の増加を機械的に探知するシステムの開発も試みた。2017 年のデータについて遡りて調べたところ、年間のアラート発出件数は 30 件であった。アラート検知のアルゴリズムを感度、特異度、即時性の観点から検証し、改良を検討することが今後の課題である。

A. 研究目的

食中毒調査においては、迅速な探知が原因食品を市場から取り除くことにつながるため、全国地方衛生研究所（地衛研）と国立感染症研究所は EHEC 分離株の分子型別が実施されてきた。各型別法には時間、労力、解像度、多施設間比較の面で長所、短所があるため、複数の方法を組み合わせることで目的に応じて使い分けている。スクリーニング法として IS-printing (IS-P) 法が開発され (Ooka et al. J Clin Microbiol 2009, Mainil et al. J

Appl Microbiol 2011)、解像度は低いが簡便・迅速・多施設間比較が容易な IS-P 法で一致した菌株は高解像度である PFGE 法で確認する手順が広がった。さらに、高解像度に多検体解析可能な MLVA 法 (Izumiya et al. Microbiol Immunol. 2010) が感染研と一部の地衛研で実施可能となり、IS-P 法と MLVA 法との組み合わせが最も迅速に結果が得られると考えられてきた。しかし、IS-P 法は O157 と O26 のみに、MLVA 法は O157, O26, O111 のみに可能であり、対象の拡大が望まれる。また、

近年、新規簡易迅速型別法 (PCR-based ORF typing, POT 法) が開発され、様々な病原細菌に応用されてきた。

本研究では IS-P 法 (0111, 0103, 0121)、EHEC-POT 法については不足するゲノム情報の取得とシステムの開発を H30 年度までに実施し、H31 年度には地方衛生研究所で試行する。MLVA 法に関しては、0103, 0121, 0145 解析用システムを H29 年度に開発し、H30 年度は試行、H31 年度には実用化する。また、わが国では分子型別法データと疫学情報との統合が困難となっているため、分子型別法の結果と疫学情報を効率良く簡便に統合するシステムも合わせて開発することを目的とした。

本総括研究報告書では、分担研究の概要と代表者が主として進める MLVA 法の対象拡大について記載する。分担研究の詳細は各分担報告書に詳述されている。

B. 研究方法

分担研究の研究手法の詳細は各分担報告書に詳述されている。

MLVA 法の検証: MLVA 法の対象を広げるための新規プライマーセット (MLVA43) を利用して、EHEC 0103, 0121, 0145, 0165, 091 計 854 株を解析し、解像度 Simpson's 多様性指数 (SDI) を求めた。また、H30 年分離株について解析を行い、解像度を検証した。

C. 研究結果

(1) MLVA43 法の解像度の検証

EHEC 0103 (n=337), 0121 (n=278), 0145 (n=129), 0165 (n=20), 091 (n=90) を用いて MLVA43 の解像度を検証した。EHEC 0103 (n=337) は 118 種類の型に、0121 (n=278) は 94 種類の型に、0145 (n=129) は 51 種類の型に、0165 (n=20) は 20 種類の型に、091 (n=90) は 72 種類の型が存在した (表 1)。それぞれの多様性指数 (SDI) は 0.962, 0.964, 0.931, 1 および 0.994 であり、菌株の異同を明らかにするためには十分な性能を持っていることを示した。

MLVA43 法は、EHEC 0157, 026, 0111 の解析のために開発された MLVA17 法に 26 箇所を解析部位を追加したものである。MLVA17 法で利用している 17 箇所の解析部位のうち、EHEC 0103, 0121, 0145, 0165, 091 の型別に貢献していない、つまり解析株全体が単一の結果を示す部位を検討した。表 1 に示すアレル数が 1 となる (SDI は 0 となる) 部位は 0103 で 6 箇所、0121 で 8 箇所、0145 で 11 箇所、0165 で 3 箇所、091 で 8 箇所であった。追加した 26 部位の中では、0103 で 10 箇所、0121 で

16 箇所、0145 で 11 箇所、0165 で 19 箇所、091 で 13 箇所であった。全解析部位のうち、型別に有効な部位は 0103 で 27 箇所、0121 で 19 箇所、0145 で 26 箇所、0165 で 10 箇所、091 で 22 箇所であった。

(2) MLVA43 法を用いた 2018 年分離株の解析
2018 年に国立感染症研究所に分子型別解析依頼があった、腸管出血性大腸菌 2517 株のうち、0103, 0121, 0145, 0165, 091 が 251 株存在した (0103 株 = 126 株、0121 株 = 148 株、0145 株 = 46 株、0165 株 = 4 株、091 株 = 27 株)。MLVA43 法により、各血清群の菌株に対する多様性指数は EHEC 0103 = 0.794, 0121 = 0.904, 0145 = 0.905, 0165 = 0.750, 091 = 0.955 であった (表 2)。

感染研に MLVA43 依頼があった EHEC 菌株の分離日から感染研受領までの日数を図 1 に示した。迅速な解析が可能な MLVA 法であるが、感染研が菌株を受領するまでの日数が 4 週間以内の株は半数にみえない (43.7%)。一方で、EHEC 0157/026/0111 用の解析手法である MLVA17 法を実施する地方衛生研究所 (計 13 機関) が増加してきた。2018 年より MLVA データに基づいた MLVA 型名の付与は感染研で実施し、地方自治体、厚労省と共有されるようになった。2018 年は 0157/026/0111、計 342 株のデータの名付けが感染研で成されたが、分離日からデータ受領までの日数が 4 週間以内であったものが 8 割を超えた (82.7%)。特に 2 週間以内に MLVA データを受付し MLVA 型が共有された菌株数が約 4 割であった。

(3) EHEC 0103 の MLVA 法の改善法の検討

EHEC 0103 に関しては、本研究で開発した MLVA43 法の解析では、十分に機能しない可能性が考えられた。これは EHEC 0103 は 0103:H2, 0103:H8, 0103:H25, 0103:H11 が混在する血清群であることが一因である (図 2)。現状では 0103:H2 が主に分離される血清型であることから、0103:H2 の集団事例が疑われる場合には、より詳細に解析する必要性が生じる可能性が考えられた。そこで、4 つの解析部位を 0103:H2 解析用に見出し、必要に応じて使用する準備を整えた。4 部位を追加解析することで、MLVA43 では分離できない (同一の MLVA 型になる) 菌株が分離されることが示された (図 3)。

林による分担研究では 0121 および 0103 解析用の IS-P (IS-P_0121, IS-P_0103) の開発が進められた。IS-P_0121 と IS-P_0103 は 15 部位を標的とする 1 チューブのマルチプレックス PCR のシステムとすることを決定し、この方針に基づいて両 IS-P の開発作業を進めた。IS-P_0121 の開発では、最も解像度の高い標的部位を効率的に選抜できる解

析パイプラインを構築し、これを用いて標的部位の決定、PCR用プライマーの作成、PCR条件の最適化を行った。また標的となる15領域をプラスミドにクローニングすることによって陽性コントロールを作成した。IS-P_O103の開発に関しては、昨年取得したO103菌株のゲノム情報を使った高精度系統解析から、O103には複数の亜系統が存在することや参照ゲノムとしての使用予定であった株がマイナー亜系統に属することが判明した。そのため、この問題への対応として、比較的主要な3つの亜系統から1株ずつを選択し、完全長配列を新たに取得した。その解析から、IS629が標的ISとして問題がないことといずれの株も参照ゲノムとして利用できることが確認できた。

大岡による分担研究ではO111解析用のIS-Pの開発として、

- 1) IS-P_O111法プロトタイプによる菌株識別解像度の検証IS629挿入部位の網羅的抽出
- 2) 非特異増幅プライマーの同定
- 3) 菌株識別解像度の低いIS629挿入部位の抽出
- 4) 菌株識別解像度向上に向けた新規IS629挿入部位の検討

が行われた。これらの検討から、IS-P_O111の検出系が整備された。

鈴木による分担研究ではnon-O157の腸管出血性大腸菌(EHEC)の迅速・簡易な分子疫学解析法としてPCR based ORF typing (POT)法改良の検討を行った。データベースからダウンロードしたゲノムデータを比較、検討し、菌株識別に有効と期待された81個のORFから既存のEHEC用POT法の菌株識別能力向上に寄与する9個のORFを特定することに成功した。改良型POT法では、特にO26およびO111におけるSimpson's indexは0.98以上と実用上十分な菌株識別能力に到達したほか、O103やO145についても同一の検出系でタイピング可能となった。

砂川による分担研究では、

- 1) NESIDデータとMLVAデータの連携
- 2) NESIDデータを用いた集団発生・広域散发事例の早期探知
- 3) 実際の事例への対応について

が行われた。早期探知として現状の検出システムではアラートは2018年の1年間で16回検知された。その内訳は、O26・VT1(6)、O157・VT1VT2(4)、O157・VT2(4)、O103・VT1(1)、O121・VT1(1)であった(括弧内は検知回数)。また、実際の事例対応では、記述疫学に加え、患者の所有していた購

入食料品に関する電子情報等から喫食と発症の関連について解析疫学を実施し、特定の野菜について関連の可能性を見出した。遡り調査の結果は特定の産地の可能性を示唆するものであった。産地の可能性を示唆された自治体の農業関連組織を訪問し、当該野菜の栽培・収穫・流通等に関する情報を収集した。肥料の使用方法等を含め、野菜そのものが汚染された可能性は極めて低いものの、井戸水等の使用については情報がなかった。また、流通時のコールドチェーンや意図しない長期保存の問題等が残った。

D. 考察

IS-P_O121・IS-P_O103に関しては、15部位を標的とする1チューブのマルチプレックスPCRを作成することに決定した。2チューブを用いてさらに多数の標的部位を解析する系を作成することも可能であり、解像度の向上もある程度期待できるが、現場での作業の煩雑性やコストだけでなく、プライマーやコントロールの安定的な供給という面を考慮すると、妥当な判断ではあると考えている。

IS-P_O121の開発に関しては、最も解像度の高い標的部位を効率的に選抜できる解析パイプラインを構築できた。これを用いて15箇所の標的部位を決定し、PCR用primerの作成とPCR条件の最適化を行うことができた。また、IS-P_O157などの場合と異なり、特定の株を陽性コントロールとして使用することができないことが判明したが、これに対する対応として、標的となる15領域をプラスミドにクローニングし、そのDNA混合液の陽性コントロールとして配布することとした。PCRの陽性コントロールとしては問題がないと考えている。なお、標的部位の選択において、プラスミド及び同じプロフェージからは一箇所のみを選択するという工夫を行ったが、これにより、IS-P_O157においてみられたプラスミドやプロフェージの脱落による影響を少なくできると思われる。

IS-P_O103の開発においては、O103には複数の亜系統が存在することと参照ゲノムとしての使用予定であった株がマイナーな亜系統に属することが判明した。この予想外の結果への対応として、比較的主要な3つの亜系統から1株ずつを選択し、完全長配列を新たに取得したが、各株の主要ISはIS629であったことから、IS-P_O103の標的ISをIS629とすることに問題がないと言える。また、これら3株はいずれも参照ゲノムとして利用できる。このような状況から、IS-P_O103の開発作業は当初の予定より遅れているが、79株におけるIS629挿入部位の再検索を終え、IS-P標

的部位の決定を行っているところである。しかし、O121 の解析で開発したパイプラインを用いることができ、PCR 条件の検討に関しても一部は IS-P_O121 のものと重なるため、比較的早期に最終的な標的部位を決定して、プライマー及び陽性コントロールの作成ができると考えている。

重症合併症を併発する EHEC 食中毒では、集団感染事例を迅速に検出し、原因や感染経路を特定することが重要であるが、原因や感染経路等が判明しないケースも多い。本研究で IS-P_O103 や IS-P_O121 が開発できれば、他の分子疫学解析手法や疫学情報と効果的に統合することによって、国内で相当数の患者発生があるにもかかわらず迅速型別手法が開発されていない O103 EHEC と O121 EHEC による食中毒調査の迅速化、高度化、効率化が可能となる。結果として、より多くのケースで原因を明らかにすることで、より適切な食品の取り扱い方法の提案、問題点の抽出が可能となり、より安全な食品の提供にもつながる。さらに、本分担研究の成果や開発戦略（特にゲノム情報基盤や IS 解析のパイプライン）は、他の EHEC や腸管病原菌に対する対策や効率的調査法の開発にも応用できるため、食品安全性確保の推進という観点からも大きな波及効果が期待される。

IS-P_O111 に関しては、本年度の解析により、O111 IS-P 法プロトタイプに関して、菌株識別解像度の検証と不具合のあるプライマー（標的部位）の同定が完了した。現在、200 株のドラフトゲノム情報から得た新規 IS629 挿入部位について、菌株識別解像度向上のためのプライマー入れ換えを進め、最終セットの構築を進めている段階にある。来年度は、最終プライマーセットで標的となった各領域に対するプライマーを設計し、PCR 増幅・プラスミドヘクローニングして、濃度調整等を行い、PCR 時のコントロール DNA とする。また、最終セットおよびコントロール DNA を協力機関に試用版として配布し、個々の機関で同様の結果を得られるかを検討し、PCR 機器の違いなどにより不具合が見られた場合には、プライマーおよび PCR を再度至適化し、共通の結果が得られるように検討する。また、今後、分離頻度の高い系統に関して菌株識別解像能が得られていない場合には、その系統の株を複数株新たに選定し、ドラフトゲノム配列情報を用いた追加解析を行って、標的部位を抽出することも想定しておく必要がある。

POT 法に関しては、今年度の成果では non-O157 の EHEC 保存株が少なかったため、分離株による検討

が十分とはいえないが、ゲノムデータを用いた性能評価では特に ORF 選択に利用可能であった分離株数が多い血清型で性能向上が見られた。特に、O26 および O111 については十分実用域に達していると考えられた。各血清型の分離株によるスクリーニングを追加し、検出 ORF セットの調整を行うことでさらなる菌株識別能力向上の可能性もある。一方、O121 については ORF 保有パターンの多様性が乏しく、POT 法によるタイピングは困難と考えられる。また、O91 は Simpson's index の数値は高くなったが、EHEC-POT 法の対象菌群から外れている可能性がある。

高解像度解析法の開発に開発は完了し、H29 および H30 年分離株について実際に使用した。また、MLVA の積極利用（地方衛生研究所）のため（平成 30 年 6 月 29 日付け事務連絡）、地方衛生研究所で得た MLVA データ（O157/O26/O111）を感染研で名付け等を実施するためのツール作りを行い、H30 年 7 月より実際に運用し、厚労省へのデータ提供を実施した。図 1 に示す通り、菌株の分子型別情報が速やかに共有される有効な手法であると考えられた。

MLVA43 法の利用にあたって注意する必要がある点を以下に示す。

1) EHEC O165 に関しては分離株が増加した際には十分な解像度を示さない可能性があることに注意が必要である。

2) 分離頻度が低い血清群に対する MLVA43 法の解析結果の解釈として、同一菌株を原因とする集団事例が発生した場合には多様性指数が低下することを念頭におく必要がある。一見、解像度の低下が MLVA43 法の技術的な限界であるように見えることもあるが、2018 年の EHEC O121 の同一型は実際、広域食中毒事例と施設内集団事例であったことから、MLVA43 法の利用価値があることを示唆した。

3) 一方で、MLVA43 法でも十分な解析が出来ない場合もある。O103 に関しては、O103:H2 の詳細解析が可能な改良版を作成した。MLVA43 法を基本に、個別必要性に応じて改良が比較的容易にできることを理解しておくことが重要である。

最終年度は MLVA（O157/O26/O111）に関する精度管理の考え方を整理すること、また動物由来株の MLVA データの取得を開始することが更なるデータ蓄積に貢献に繋がる。

NESID データを用いた広域散発事例の早期探知ではいくつか問題点が抽出された。感度・迅速性重視の閾値を内部関係者向けの注意喚起用に用い、これとは別に、本アラート用の閾値を設定するこ

とを検討する必要がある。これにより、内部関係者は迅速に探知してデータの解析とモニタリングをすることができ、外部向け本アラートにおいては、偽陽性の低減が期待できる。表2は、本アラートの閾値を+2SD以上もしくは二週連続で+1SD以上とした場合の、本アラートの検知回数である。2019年は、この新たな基準を用いて広域散发事例疑いの自動探知とアラート発出を試みる。

また、実際の事例探知において広域の可能性の高い事例を探知する試みは有効に機能したと考えられた。ただし、従来通りの制約、すなわち、疫学的な分析結果では原因として断定するには至らず、自治体による初動時点での関連する可能性のある食材を如何に迅速に確保出来るかということが必要であることが分かった。さらに、食材（特に野菜）が汚染されるプロセスを知り、原因究明と対応改善につなげるためには、野菜の衛生管理指針の理解に基づく中長期的な連携関係の構築が必要であると考えられる。

E. 結論

分子型別法の開発が3つの手法においてほぼ計画通り進められた。また、発生動向調査に基づいたアラート発出および調査を支援するNESIDデータとMLVAデータの連携の2点についてシステム・ツール開発のプロトタイプの開発が進んだ。最終年度では、型別法の検証をさらに進めると同時に、発生動向調査に基づいたアラート発出とその検証を厚生労働省と連携して運用を試みる。

【参考文献】

IASR Vol. 37 p. 161-162 「牛生肉・牛生レバー規制強化後の牛生肉および牛生レバーを原因とする腸管出血性大腸菌 O157 発生状況」
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/2016/08/438d03t01.gif>

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

大西 真、反復配列多型解析 - Multilocus Variable-Number Tandem Repeat 法、食品衛生研究 2019: 69, 7-15.

2. 学会発表

大西真:国内の患者由来腸管出血性大腸菌の特性、72回日本細菌学会東北支部総会、2018年8月、仙台市

泉谷秀昌、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真、腸管出血性大腸菌分離株の分子疫学解析状況について、2018年、第22回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2018年11月8-9日、東京

泉谷秀昌、腸管出血性大腸菌の分子疫学、日本防菌防黴学会第45回年次大会、2018年11月東京
大岡唯祐、李謙一、桂啓介、伊豫田淳、藺牟田直子、林哲也、大西真、西順一郎:腸管出血性大腸菌O111用IS-printing systemの開発、第22回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2018年11月8-9日、東京

谷口愛樹、中村佳司、西田 留梨子、伊豫田淳、大西真、大岡唯祐、小椋義俊、林哲也:腸管出血性大腸菌O121用IS-printing systemの開発を見据えたO121に分布するISの網羅的探索と国内分離株における分布状況の調査、腸管出血性大腸菌研究会、2018年11月8~9日、東京

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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 |
| 3. その他 | なし |

表1 MLVA43 法の各解析部位の評価

| MLVA 型 | O103 (n=337) | | O121 (n=278) | | O145 (n=129) | | O165 (n=20) | | O91 (n=90) | |
|-------------------------|--------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|-------------|-------|------------|-------|
| | # allele | SID | # allele | SID | # allele | SID | # allele | SID | # allele | SID |
| MLVA 型 | 118 | 0.962 | 94 | 0.964 | 51 | 0.931 | 20 | 1.000 | 72 | 0.994 |
| MLVA17 で用いている解析部位 | | | | | | | | | | |
| EH111-11T | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| EH111-14BB | 2 | 0.187 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.126 |
| EH111-8O | 6 | 0.198 | 2 | 0.014 | 2 | 0.016 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| EH157-12N | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.016 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| EH26-7D | 3 | 0.289 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| EHC-1Q | 13 | 0.803 | 9 | 0.747 | 5 | 0.537 | 1 | 0 | 18 | 0.921 |
| EHC-2C | 15 | 0.420 | 7 | 0.550 | 2 | 0.016 | 1 | 0 | 4 | 0.066 |
| EHC-5S | 16 | 0.540 | 5 | 0.124 | 2 | 0.016 | 5 | 0.679 | 12 | 0.474 |
| EHC-6U | 14 | 0.687 | 12 | 0.215 | 8 | 0.321 | 8 | 0.879 | 15 | 0.732 |
| O157-3W | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| O157-34Y | 3 | 0.254 | 1 | 0 | 2 | 0.016 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| O157-9M | 13 | 0.374 | 2 | 0.007 | 8 | 0.399 | 1 | 0 | 2 | 0.044 |
| O157-25J | 1 | 0 | 2 | 0.007 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| O157-17Z | 1 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0.265 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| O157-19L | 2 | 0.128 | 1 | 0 | 2 | 0.016 | 1 | 0 | 3 | 0.168 |
| O157-36AA | 1 | 0.000 | 2 | 0.007 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.106 |
| O157-37V | 15 | 0.467 | 10 | 0.208 | 8 | 0.264 | 6 | 0.632 | 8 | 0.647 |
| MLVA43 で追加された 26 箇所解析部位 | | | | | | | | | | |
| Q1701 | 5 | 0.446 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.022 |
| Q1702 | 2 | 0.172 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.022 |
| Q1705 | 3 | 0.475 | 3 | 0.231 | 4 | 0.105 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1708 | 1 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0.120 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1710 | 1 | 0 | 1 | 0 | 8 | 0.635 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1712 | 2 | 0.294 | 1 | 0 | 2 | 0.016 | 3 | 0.279 | 2 | 0.106 |
| Q1716 | 2 | 0.191 | 2 | 0.014 | 1 | 0 | 4 | 0.553 | 1 | 0 |
| Q1724 | 7 | 0.449 | 2 | 0.007 | 2 | 0.016 | 1 | 0 | 2 | 0.044 |
| Q1725 | 5 | 0.216 | 6 | 0.517 | 7 | 0.759 | 6 | 0.705 | 7 | 0.190 |
| Q1727 | 3 | 0.181 | 2 | 0.083 | 4 | 0.046 | 1 | 0 | 3 | 0.242 |
| Q1730 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 7 | 0.387 |
| Q1731 | 3 | 0.267 | 2 | 0.007 | 2 | 0.031 | 1 | 0 | 6 | 0.537 |
| Q1704 | 6 | 0.223 | 6 | 0.345 | 2 | 0.075 | 2 | 0.100 | 5 | 0.473 |
| Q1711 | 1 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0.216 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1714 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0.353 | 1 | 0 |
| Q1715 | 1 | 0 | 2 | 0.007 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1717 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.016 | 4 | 0.642 | 2 | 0.022 |
| Q1718 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.131 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1720 | 3 | 0.193 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |

| | | | | | | | | | | |
|-------|----|-------|----|-------|---|-------|---|-------|---|-------|
| Q1721 | 5 | 0.259 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.100 | 1 | 0 |
| Q1722 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1723 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1726 | 2 | 0.012 | 10 | 0.794 | 1 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0.129 |
| Q1728 | 11 | 0.131 | 1 | 0 | 3 | 0.031 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Q1729 | 6 | 0.399 | 1 | 0 | 3 | 0.031 | 1 | 0 | 2 | 0.086 |

表2 2018年分離株を用いた MLVA43 法の解像度の評価

| | 0157 | 026 | 0111 | 0103 | 0121 | 0145 | 0165 | 091 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| 菌株数 | 1509 | 576 | 81 | 126 | 148 | 46 | 4 | 27 |
| SDI | 0.993 | 0.976 | 0.965 | 0.794 | 0.904 | 0.905 | 0.75 | 0.955 |

MLVA43 法は 0157, 026, 0111 も解析可能であるため、感染研では 0103, 0121, 0145, 0165, 091 を含む 8 つの血清群は共通の MLVA43 法で解析をしている。

図1 分離日から感染研受領日の日数の分布

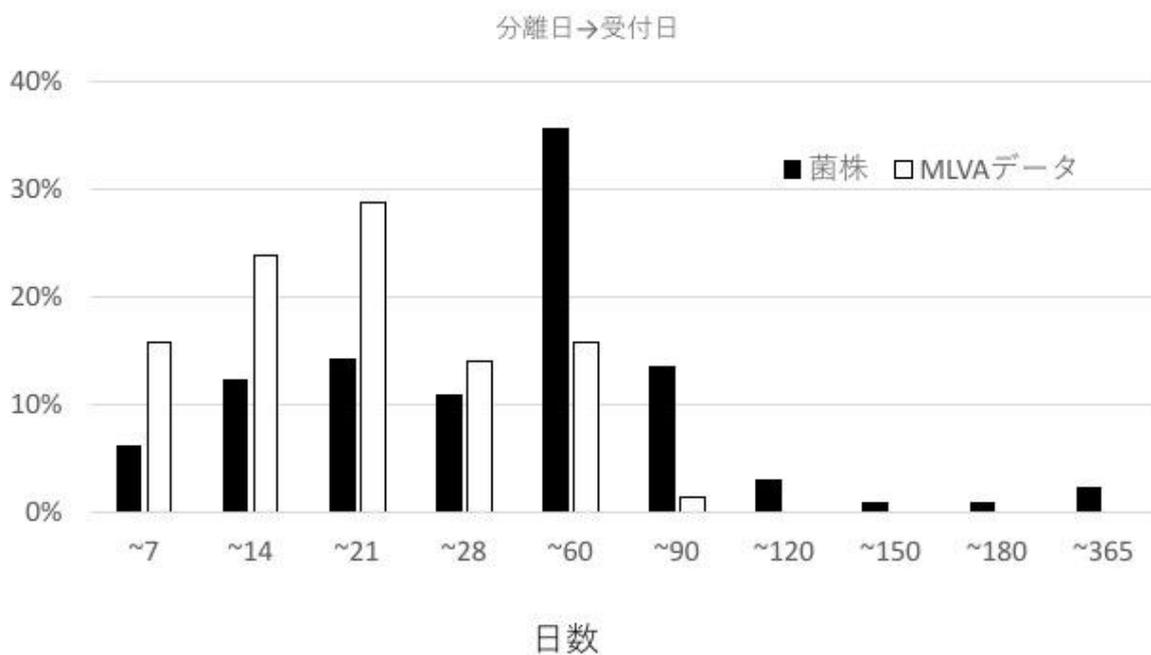
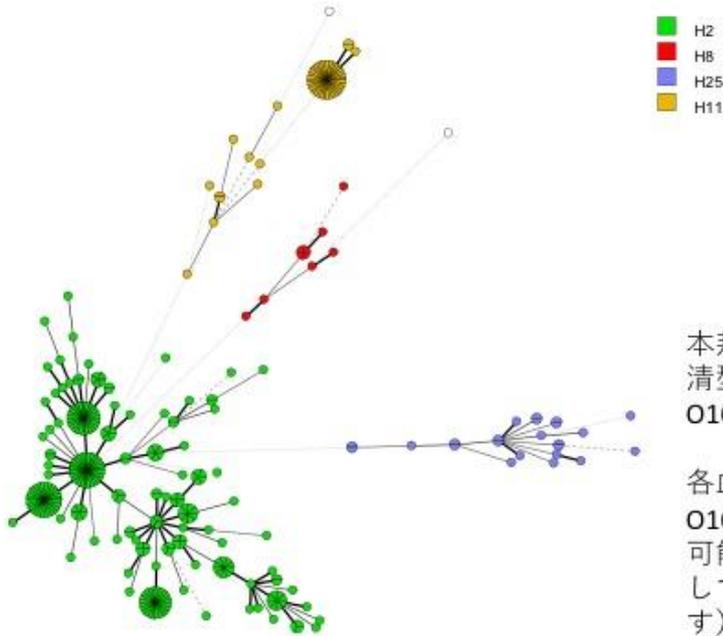


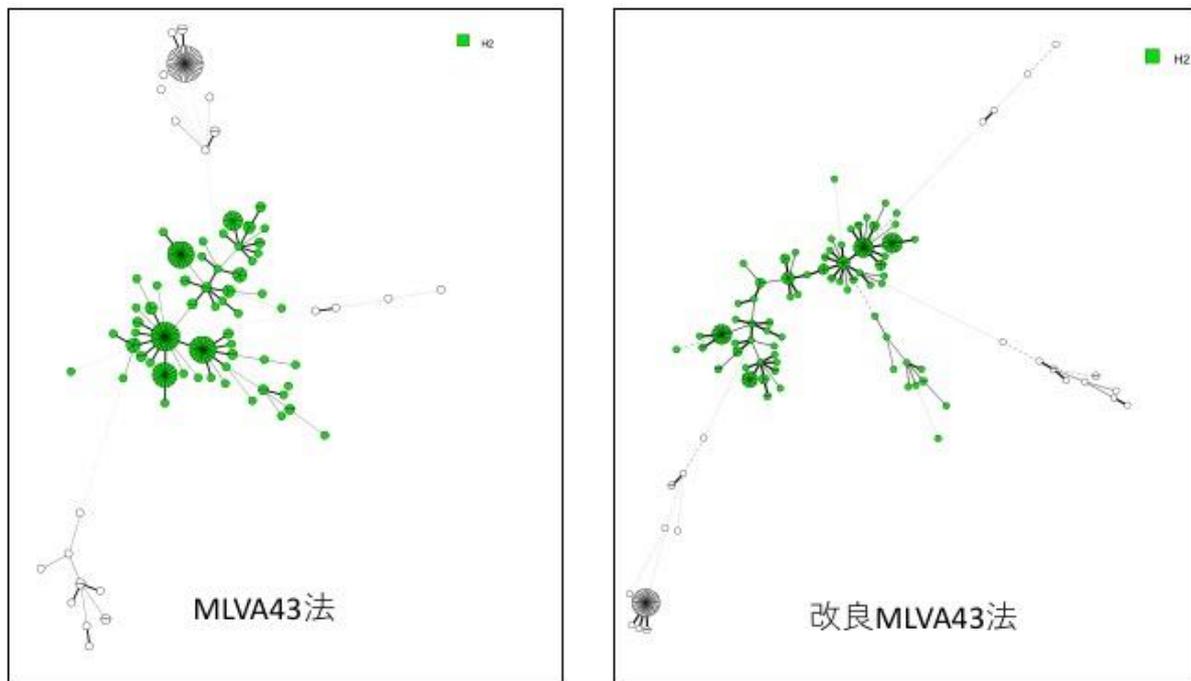
図2 血清群O103のEHECのMLVA型別



本邦で分離されるEHEC O103は4つの血清型が混在している（O103:H2, O103:H8, O103:H25, O103:H11）。

各血清型で見ると、特に分離株数が多いO103:H2に関して解像度が十分ではない可能性がある（大きな丸はサイズに比例して同一MLVA型の菌株を多いことを示す）

図3 血清群O103のEHECのMLVA型別の改良



色が付いている丸がO103:H2菌株のMLVA型を示す。MLVA43法では同一型となる菌株も、改良MLVA43法（4部位追加）でさらに詳細な解析が可能となった。