

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 31/令和元年度分担研究報告書

高度解析法の構築と近畿ブロックにおける情報共有体制の構築の検討

| | | |
|-------|---|--|
| 研究分担者 | 河合高生 | 地方独立行政法人大阪健康安全 基盤研究所 |
| 研究協力者 | 若林友騎、梅川奈央、高橋佑介 原田哲也、河原隆二、勢戸和子 河野智美 小仲兼次、武田直樹 渡辺正義 荻田堅一 濱夏樹、野本竜平 横田隼一郎、黒田久美子 村山隆太郎、平垣内雅規 福田弘美、岩崎直昭 佐伯美由紀 池端孝清 寺杣文男、中岡加陽子 | 地方独立行政法人大阪健康安全 基盤研究所 滋賀県衛生科学センター 京都府保健環境研究所 京都市衛生環境研究所 兵庫県立健康生活科学研究所 神戸市環境保健研究所 姫路市環境衛生研究所 尼崎市衛生研究所 堺市衛生研究所 奈良県保健研究センター 和歌山市衛生研究所 和歌山県環境衛生研究センター |

研究要旨

腸管出血性大腸菌（EHEC）の遺伝子型別法である反復配列多型解析法（Multiple-Locus Variable-number tandem-repeat Analysis ; MLVA）導入のため、昨年度の本研究班で開発した MLVA 新規解析法に改良を加えた。近畿ブロック内の研究協力地衛研 5 施設を対象に結果の信頼性確保のための精度管理を実施するとともに、MLVA の導入を検討している地衛研 5 施設を対象に MLVA の初期導入研修会を開催した。また、EHEC O157 について IS-printing System (IS) 法による遺伝子型別を実施し、近畿 IS データベースを活用して流行株の解析を行った。研究協力地衛研 5 施設とともに改良した MLVA 新規解析法を評価した結果、1 施設を除き、供試した 90%以上の菌株について 17 遺伝子座すべてのリピート数を正確に決定することができた。MLVA の精度管理については概ね良好な結果が得られたが、複数ピークが検出された際の記録法について周知と統一が必要と考えられた。MLVA 初期導入研修会は参加者から好評を得た一方で、今後の研修希望として、解析ソフトの使用方法に関する研修や、解析結果の行政への提供方法に関する情報交換会の開催を望む意見が寄せられた。近畿 IS データベースの登録施設数および登録株数は 2017 年度以降、年々減少し、今年度の登

録施設数はピーク時の 58%、登録株数は 31%であった。遺伝子型別法として IS 法に代わり MLVA が普及していることが主な原因と考えられ、IS データベースの今後の運用について再考が必要である。

A. 研究目的

食品由来感染症において原因菌の分子疫学解析は行政対応に重要なツールである。近畿ブロックの地方衛生研究所(地衛研)では、腸管出血性大腸菌 (EHEC) の遺伝子型別法として、IS-printing System (IS) 法およびパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法を共通の解析手法として使用している。近年、EHEC の遺伝子型別法を反復配列多型解析法 (Multiple-Locus Variable-number tandem-repeat Analysis; MLVA) に統一する旨が通知されたことを受け、地衛研において MLVA の導入が進められている。MLVA は、繰り返し配列を含む複数の遺伝子座から得られた PCR 産物について、それぞれの分子量に基づいて算出したリピート数を比較する方法である。MLVA の大きな利点の一つは、各実施施設で得られた結果を容易に比較できることにあるが、このためには各施設で正確にリピート数を決定できることが大前提となる。通常、各遺伝子座のリピート数を算出するには、実際に検査で使用する機器を用いて bin セットを構築することが必須となる。しかし、bin セットの構築には各遺伝子座について様々なリピート数を保有する多数の菌株を解析する必要があるため、これが MLVA 導入の際の障害の 1 つとなるケースが多い。

昨年度の本研究班では、24 株の参照株の解析結果から回帰分析を実施し、その分析結果に基づいてリピート数を決定する、新規の

リピート数決定法(新規解析法)を開発した。新規解析法は概ね良好な一致率でリピート数を決定できたが、以下に示す課題が明らかとなった。すなわち、(1) 回帰直線の予測区間に増幅産物ピークが入らないために、リピート数を決定できない遺伝子座が複数みられた。(2) 回帰直線の範囲外にピークが検出されたために、リピート数を決定できない遺伝子座があった。そこで、本年度の研究班では、これらの課題に対して、昨年度開発した新規開発法の改良を行い、リピート数決定率の向上を目指した。また、結果の信頼性確保を目的とする精度管理を実施するとともに、MLVA の導入を検討している地衛研を対象とした初期導入研修会を開催することで、近畿ブロックにおける MLVA 導入を推進した。さらに、近畿 IS データベースを活用した流行株の解析を行った。

B. 研究方法

1. 供試菌株

自作 bin セットの作成には、地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所(大安研)で保存している EHEC 24 株を使用した。MLVA の精度管理には、2017~2018 年に大阪府内で分離された EHEC 5 株を使用した。新規解析法の評価には各協力地衛研で収集された菌株を使用した。

2. MLVA の実施

腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブック

(O157、O26、O111 編 第一版 2017 年 11 月 編 地研協議会 保健情報疫学部会 マニュアル作成ワーキンググループ編) を参照し、表 1 の装置および解析ソフトを用いて MLVA を実施した。

3. 回帰分析に基づく bin セットの作成

MLVA の新規解析法の評価を担う当所(大安研)ならびに近畿ブロックの地衛研 5 施設においては、参照株 24 株の DNA を用いて MLVA を実施し、保有するキャピラリー式シーケンサーで泳動した際の増幅産物サイズを測定した。参照株のリポート数を説明変数、各施設で泳動した時の増幅産物サイズを目的変数として、表計算ソフト Excel を用いて単回帰分析を実施した。得られた回帰分析結果について、回帰直線と回帰係数の有意性の検定を行い、危険率は 5% として評価した。

回帰直線から得られた各リポート数に応じて予測される PCR 増幅産物サイズを bin の中央値とし、bin のオフセット値を ±1.5 bp として bin セットを作成した。

4. 自作 bin セットの評価

施設毎に作成した bin セットを自施設の解析ソフト (GeneMapper) にインポートし、自作 bin セットとして解析に使用した。また、国立感染症研究所 (感染研) から分与された bin セットを同様にインポートし、感染研 bin セットとして解析に使用した。各施設で分離された EHEC O157、O26、O111 について、MLVA を実施し、自作 bin セットおよび感染研 bin セットを用いてリポート数を決定した。リポート数の決定は表 2 の基準に従って実施した。

併せて感染研に菌株を送付し、MLVA の実

施を依頼した。感染研での解析結果を当該菌株の標準リポート数とし、施設毎に自作 bin セットあるいは感染研 bin セットを用いて解析したリポート数との一致率を比較した。

5. MLVA の精度管理

精度管理の対象とした 5 施設に 5 株の精度管理株から抽出した DNA を送付した。精度管理株のリポート数を表 3 に示した。判定表に遺伝子座毎のリポート数を記入し、提出を求めた。

6. MLVA 初期導入研修の実施

MLVA 導入を予定している近畿ブロックの地衛研 5 施設を対象として、MLVA 初期導入研修会を開催した。参加施設には事前に MLVA の準備状況に関するアンケートの回答を求めた。また、MLVA 解析ソフト Gene Mapper を用いた解析マニュアルを作成し、参加者に配布した。

7. 近畿 IS データベース

施設毎に EHEC O157 を収集して IS 法を実施し、その結果を施設内データベースに登録した。更新された施設内データベースは、レファレンス用データとして大安研に送付し、大安研ではこのデータをもとにレファレンス・データベースを更新して、最新版を研究協力者に電子メールで送信した。

(倫理面への配慮)

本研究で取り扱う菌株および感染者情報は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づく調査によって得られたもので、個人情報情報は研究参加施設において匿名化し、厳格に管理保存する。

C. 研究結果

1. 新規解析法の改良

2018 年度に大安研において解析した EHEC O157 65 株のデータを用いて、回帰分析から推定した理論値と、実測値とのずれ幅を算出した (図 1)。遺伝子座 EH111-14 と EH26-7 については、対象とした 65 株すべてで増幅産物が得られなかったため、実測値とのずれ幅を算出することができなかった。すべての遺伝子座を対象とした時、理論値とのずれ幅の中央値が -0.119 bp、75 パーセンタイルの値が $+0.00895$ bp、25 パーセンタイルの値が -0.296 bp であったが、遺伝子座ごとの理論値からのずれ幅のばらつきには差が見られ、特に遺伝子座 EH157-12 と O157-9 はばらつきが大きい傾向にあった。正方向に理論値と最も離れた遺伝子座は EH157-12 で、最大 $+0.491$ bp のずれが見られた。一方、負方向に理論値と最も離れた遺伝子座は O157-9 で、最大 -1.49 bp のずれが見られた。この結果から、bin のオフセット値を理論値の ± 1.5 bp とすることで、回帰直線から外れたピークについても、リピート数を決定できると考えられた。

遺伝子座 O157-34 および遺伝子座 O157-19 は、リピート数が 1 である時の増幅産物サイズをサンガーシーケンス法で決定すると、リピート数が 2 以上を示した時と比べ、プライマーオフセット値がそれぞれ 6 塩基および 3 塩基小さくまたは大きくなった。これまでの解析で、これらの遺伝子座でリピート数が 1 となる菌株のすべてが EHEC O26 あるいは O111 であることが判明しており、プライマーオフセット値のずれは、各血清群におけるオフセット配列の違いが原因と考

えられた。このことから、遺伝子座 O157-34 と遺伝子座 O157-19 については、リピート数 1 のデータを除外して回帰分析を実施することにより、回帰直線の精度を高めることができると考えられた。

また、回帰分析に使用する菌株を再検討し、表 4 に示した 24 株を参照株として選定した。その結果、遺伝子座 EHC-1、EHC-2、EHC-5、EHC-6、および O157-9 において、自作 bin セットでリピート数を決定できる最大値が、昨年度と比較し、それぞれ 21 から 22 へ、23 から 28 へ、19 から 20 へ、20 から 33 へ、および 19 から 21 へ拡張した。さらに、遺伝子座 O157-37 においては、自作 bin セットでリピート数を決定できる最小値が 5 から 3 に拡張した。

以上のことから、改良法では、再検討した参照株 24 株の増幅産物サイズから回帰分析を実施し、回帰直線から得られた各リピート数に応じて予測される PCR 増幅産物サイズを bin の中央値、bin のオフセット値を ± 1.5 bp として bin セットを作成することとした。この時、遺伝子座 O157-34 および遺伝子座 O157-19 については、リピート数がそれぞれ 1 となる 4 株 (2019-6, -13, -14, -22) および 10 株 (2019-6, -7, -8, -13, -14, -15, -16, -22, -23, -24) のデータを除いて回帰分析を実施した。遺伝子座 O157-34 および遺伝子座 O157-19 のリピート数が 1 の bin は、上述の 4 株および 10 株の増幅産物サイズの平均値 ± 1.5 bp として作成することとした。

2. 改良自作 bin セットおよび感染研 bin セットの評価

当所と研究協力地衛研 5 施設において、改良した自作 bin セットおよび感染研 bin セットを使用して解析を実施した。各 bin セットを用いて決定したリピート数と感染研の解析結果が一致した菌株の割合を表 5 に示した。施設 No. 2 を除く 5 施設すべてにおいて、自作 bin セットを用いることで、供試した菌株の 90%以上について 17 遺伝子座すべてのリピート数を決定できた。また、各 bin セットを用いてリピート数を決定あるいは推定した菌株の割合を表 6 に示した。

施設 No. 1 では、21 株中 19 株 (90%) で、決定した 17 遺伝子座すべてのリピート数が感染研の解析結果と一致した。同施設は昨年度、自作 bin を使用した解析では 1 株もリピート数を決定できなかったことから、今年度の改良 bin セットによって決定率が大幅に向上することがわかった。リピート数を決定できなかった 2 株は、感染研の解析結果では遺伝子座 O157-34 のリピート数がそれぞれ 9 と 12 と判定されたが、施設 No. 1 では増幅なしと判定されたため、自作 bin セットと感染研 bin セットの両方でリピート数を決定できなかった。

施設 No. 2 では、22 株中 12 株 (64%) について 17 遺伝子座すべてのリピート数を決定できた。施設 No. 1 と同様に、同施設においても昨年度は 1 株もリピート数を決定できなかったことから、改良 bin セットによって決定率が向上することがわかった。リピート数を決定できなかった遺伝子座のうち、EH111-11 および EHC-6 は近傍の bin からリピート数を推定できた。遺伝子座 EHC-2 でリピート数を決定できなかった 3 株中 2 株

は、近傍の bin からリピート数を推定できたが、残り 1 株は回帰直線の範囲外にピークが検出されたため、リピート数の決定も推定もできなかった。遺伝子座 157-37 のリピート数を決定できなかった 3 株については、感染研の解析結果ではすべてリピート数が 1 と判定されたが、施設 No. 2 においてはすべて増幅なしと判定されたため、自作 bin セットならびに感染研 bin セットでリピート数を決定できなかった。

施設 No. 3 では、10 株中 9 株 (90%) で、17 遺伝子座すべてのリピート数を決定できた。同施設の昨年度のリピート数決定率は 38%であり、この施設においても改良 bin セットがリピート数決定率を向上させる結果となった。遺伝子座 EH157-12 のリピート数を決定できなかった 1 株については、近傍の bin からリピート数を推定できた。

施設 No. 4 および No. 5 では、それぞれ 4 株および 8 株を解析し、全株のリピート数を自作 bin セットを使用して決定できた。施設 No. 4 の昨年度の決定率は、25%であった (施設 No. 5 は昨年度のデータなし)。

施設 No. 6 では、51 株中 48 株 (94%) について自作 bin セットを使用してリピート数を決定できた。昨年度のリピート数決定率は 81%であり、決定率の向上が認められた。リピート数を決定できなかった 3 株中 1 株は、遺伝子座 EHC-6 においてピークが bin から外れたものの、近傍の bin からリピート数を推定できた。残り 2 株については、自施設での解析結果でダブルピークが認められ、ピーク高の低いリピート数が感染研の結果と一致した。

一方、感染研 bin セットを用いて解析したところ、6 施設すべてにおいてリピート数を決定できた菌株の割合は、86%以下であった。リピート数を決定できなかった菌株のほとんどは、近傍の bin からリピート数を推定することができたため、施設 No. 1～No. 4 においては、増幅なしと判定した施設 No. 1 の遺伝子座 O157-34、および施設 No. 2 の遺伝子座 O157-37 を除き、供試した全株のリピート数を感染研 bin セットを用いて決定または推定できた。一方、施設 No. 5 および施設 No. 6 においては、感染研 bin セットを用いてリピート数を決定または推定できた菌株の割合はそれぞれ 63%、8%とかなり低かった。

3. MLVA の精度管理

精度管理に参加した 5 施設すべてにおいて正しいリピート数が解答された。複数のピークが検出される EQA19-2 株について、4 施設はピーク高の高いリピート数を解答欄に記載し、備考欄には複数のピークが検出された旨の記載があった。しかし、1 施設ではピーク高の高いリピート数が解答欄に記載されていたが、備考欄に複数ピークが検出された記載はなかった。

4. MLVA 初期導入研修会の実施

2019 年 8 月 23 日に大安研森ノ宮センターにおいて、MLVA 初期導入研修会を開催した。事前アンケートに基づく研修参加 5 施設の MLVA 準備状況は、シーケンサーおよび解析ソフトの初期設定を実施していない施設が 4 施設で、1 施設はこれらの初期設定を実施済みで、MLVA を実施したことがあるとの回

答であった。研修会は大安研の MLVA 解析担当者 3 名を講師として、(1) MLVA 導入に必要な準備について、(2) 解析ソフト GeneMapper の初期設定等について、(3) MLVA の解析実習の 3 項目に関する研修を行った。参加者からは、「MLVA の導入過程で生じた疑問が解決した。」「腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブックでは触れられていない結果の判定方法について理解できた。」「少人数で質問しやすく有意義な研修会であった。」といった感想が寄せられた。一方で、「MLVA-mate の使い方の解説が欲しかった。」「初心者が判定に困りそうな点について、実例を多く挙げて解説して欲しかった。」といった要望も寄せられた。また、今後に期待する点として、「解析で困った事例や、結果データの行政への提供方法などについて担当者同士で情報交換できる場を望む」との意見があった。

5. 近畿 IS データベース 2019 年分離株の傾向

2019 年度は 7 施設から 145 株が登録された (2020 年 2 月 1 日現在)。近畿 IS データベースの登録施設数と登録株数は、2017 年度以降、減少しており、2019 年度は登録施設数、登録株数がともに過去最小であった (図 2)。5 株以上が同一として登録された IS パターンは 7 タイプであった (表 7)。このうち、4 タイプは複数の自治体にまたがって検出されたが、いずれも過去 5 年間で毎年検出された IS パターンであった。これらの IS パターン AA078、AA039、AA063 および AA031 はいずれも複数の MLVA 型を含んでいた。

D. 考察

昨年度開発した新規リピート数決定法の改良を行い、自施設を含め6施設で評価を行った。その結果、6施設中5施設において、供試した90%以上の菌株について、17遺伝子座すべてのリピート数を正確に決定することができた。昨年度の評価結果と比較すると、昨年度の評価実績がない施設No.5を除いたすべての施設において、リピート数を決定できた菌株の割合が増加した。また、リピート数を決定できなかった遺伝子座についても、そのほとんどは近傍のbinから推定可能であったことから、改良した新規解析法は、MLVAのリピート数決定法として有用であると考えられた。

遺伝子座EHC-6については、6施設で解析したEHEC合計116株中、何らかの増幅産物が検出された菌株は20株で、そのうちリピート数を決定できた菌株は16株(80%)であった。他の遺伝子座のリピート数決定率は97%~100%であったことから、遺伝子座EHC-6は新規解析法を用いてリピート数を決定できる精度が低いと考えられた。遺伝子座EHC-6は、回帰分析に用いた参照株24株のリピート数の最小値が3、最大値が33であり、他の遺伝子座と比較してその幅が広いことから、回帰分析の精度が低下したことが予想される。本遺伝子座については、低分子量域と高分子量域に分けて回帰分析を実施することにより、精度の向上が期待できる可能性が考えられた。

感染研binセットを用いた解析については、17遺伝子座すべてのリピート数を決定できた菌株の割合は、すべての施設で86%以下で

あった。近傍のbinからリピート数を推定できた菌株を含めると、施設No.1~No.4においては、施設No.1の遺伝子座O157-34および施設No.2の遺伝子座O157-37を除いて、すべての菌株のリピート数を決定または推定することができた。一方、施設No.5とNo.6においては、近傍のbinからリピート数を推定することが困難な菌株が多かったため、17遺伝子座すべてのリピート数を決定あるいは推定できた菌株の割合は、それぞれ63%、8%と低い値となった。各施設で使用している機器を比較すると、施設No.1~No.4では、Applied BiosystemsのGenetic Analyzer 3500シリーズのシーケンサーを使用していたが、施設No.5およびNo.6では、同社のGenetic Analyzer 3130を使用していた(表1)。このシーケンサーの使用機種の違いが、感染研binセットを用いた際のリピート数決定精度に影響を与えた可能性が考えられた。一方、新規リピート数決定法を用いた場合は、使用する機器に関わらず良好な結果が得られたことから、汎用性の高い解析法であると考えられた。

MLVAの精度管理結果は概ね良好であったが、ダブルピークが検出されるEQA19-2株に関して、5施設中1施設では、ピーク高の高いリピート数のみを解答欄に記入し、ピーク高の低いピークに関する記述はなかった。MLVA結果に複数ピークが検出された情報を加えることは、菌株異同を判断するための貴重な情報をもたらすことから、主要なピーク以外の結果についても備考欄等に記録することが望ましいとされている。複数のピークが検出される菌株結果の記録方法につ

いては、周知と統一が必要であると考えられた。

今年度開催した MLVA 初期導入研修会は、参加者に好評であった。一方で、解析ソフトの使用方法に関する研修や、結果の行政への提供方法に関する情報交換会の開催を望む意見が寄せられたことから、MLVA に関しては今後も担当者間での情報共有が重要であると考えられた。

今年度近畿ブロック内で広域に検出された IS パターンは、すべて過去 5 年間で毎年検出される頻出パターンであった。これらには互いに疫学的関連性のない菌株が複数含まれていたが、MLVA では複数の型に分けられた。IS 法は特別な装置を必要としない利点を有するものの、その型別能を考慮すると MLVA が遺伝子スクリーニング法として最も有用であると考えられた。

近畿ブロックでは、EHEC O157 の遺伝子型別スクリーニング法に IS 法を位置づけ、2009 年から近畿 IS データベースを運用している。今年度の登録は 7 施設から 145 株で、登録施設数はピーク時の 58%、登録株数はピーク時の 31%に減少した。近畿ブロック内においても、IS 法の代わりに MLVA を実施する地衛研が増加していることが示唆された。今後も IS 法から MLVA に移行する施設が増加すると予想されることから、近畿 IS データベースの運用については再考が必要である。

E. 結論

本研究班で昨年度に開発した新規レポート数決定法を改良し、概ね良好な結果を得た。

一部の遺伝子座については、更なる改良が必要であるが、本解析法は、使用する機器の影響を受けない、汎用性の高い解析法であると考えられた。

MLVA の精度管理については、概ね良好な結果を得られたが、複数ピークが検出される菌株の結果記録方法について周知と統一が必要であることがわかった。

MLVA の初期導入研修会は参加者に好評であったが、今後も担当者間での情報共有を継続することが必要と考えられた。

今年度の近畿 IS データベースへの登録施設数および登録株数は、データベースの運用開始以降で最少となった。EHEC O157 の遺伝子型別法として、IS 法から MLVA への移行が進んだことが原因の 1 つと考えられ、今後のデータベースの運用について再考が必要である。

F. 研究発表

1. 誌上発表
なし

2. 学会発表

- 1) 若林友騎, 原田哲也, 河合高生, 高橋佑介, 梅川奈央, 泉谷秀昌, 川津健太郎: 単回帰分析を用いた EHEC MLVA のレポート数決定法の検討. 第 23 回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (2019 年 11 月, 愛媛)
- 2) 若林友騎, 高橋佑介, 梅川奈央, 原田哲也, 河原隆二, 余野木伸哉, 河合高生, 川津健太郎: EHEC MLVA 検査体制の確立と大阪府内分離株の解析. 令和元年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会

研究会（2019年11月，和歌山）

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 MLVA で使用した装置および解析ソフト

| 施設 | 遺伝子増幅装置 | シーケンサー | 解析ソフト |
|----|---|--|---|
| 1 | Applied Biosystems Verti 200 | Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer | Applied Byosystems GeneMapper 5.0 |
| 2 | Applied Biosystems ProFlex 3x32-well PCR System | Applied Biosystems 3500xl Genetic Analyzer | Applied Byosystems GeneMapper 4.1, 5.0 |
| 3 | Applied Biosystems 2720 Thermal Cyclcr | Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer | Applied Byosystems GeneMapper 3.0 |
| 4 | Agilent SureCyclcr 8800 | Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer | Applied Byosystems GeneMapper 5.0 |
| 5 | TaKaRa PCR Thermal Cyclcr Dice TP-600, Applied Biosystems SimpliAmp | Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer | Applied Byosystems GeneMapper (バージョン不明) |
| 6 | TaKaRa PCR Thermal Cyclcr Dice Touch TP-350 | Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer | Applied Byosystems GeneMapper 4.0 |

表 2 bin セットの評価基準

| 判定結果 | 判定基準 | 記載方法 |
|------------|--|--|
| レポート数の決定 | ピークの中心がbinの中に入っている | レポート数を記載 |
| レポート数の推定 | ピークの中心がbinの中に入っていないが、ピークの一部が近傍のbinに入っている | 前後のbinから推定されるレポート数の直後に?を付与して記載 |
| binセットの範囲外 | 用いたbinセットの最小値より増幅産物サイズが小さい、もしくはbinセットの最大値より大きい | binセットの最小値の前に<を付与して記載、もしくは最大値の前に>を付与して記載 |
| 増幅なし | ピークが見られない | -2と記載 |
| 判定不能 | 上記以外の場合 | ?と記載 |

表 3 精度管理株のレポート数

| 菌株番号 | 各遺伝子座のレポート数 | | | | | | | | | | | | | | | 備考 | | |
|---------|-------------|----------|---------|----------|----------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|--------|---------|---------|----|---------|-------------------|
| | EH111-11 | EH111-14 | EH111-8 | EH111-12 | EH157-26 | EH26-7 | EHC-1 | EHC-2 | EHC-5 | EHC-6 | 0157-3 | 0157-34 | 0157-9 | 0157-25 | 0157-17 | | 0157-19 | 0157-36 |
| EQA19-1 | 3 | -2* | 1 | 4 | -2 | 5 | 4 | -2 | -2 | 10 | 12 | 13 | 8 | 7 | 6 | 3 | 7 | |
| EQA19-2 | 2 | -2 | 1 | 4 | -2 | 8 | 4 | 7 | -2 | 9 | 12 | 8 | 5 | 7 | 5 | 6 | 7 | EHC-5:7と10にダブルピーク |
| EQA19-3 | 2 | -2 | 1 | 3 | -2 | 9 | 4 | -2 | -2 | 7 | 9 | -2 | 4 | 3 | 5 | 4 | 8 | |
| EQA19-4 | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 | 8 | 16 | 19 | -2 | -2 | 1 | 13 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | |
| EQA19-5 | 2 | -2 | 1 | 4 | -2 | 6 | 4 | 6 | -2 | 12 | 12 | 5 | 6 | 8 | 6 | 7 | 7 | |

*-2: 増幅産物なし

表 4 参照株のリピート数

| 菌株番号 | O血清群 | 各遺伝子座のリピート数 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|------|-------------|----------|---------|----------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--|--|--|
| | | 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 | | | |
| 2019-1 | O157 | 2 | -2* | 1 | 4 | -2 | 12 | 6 | -2 | 9 | 10 | 12 | 5 | 5 | 7 | 15 | 5 | | | | |
| 2019-2 | O157 | 2 | -2 | 1 | 6 | -2 | 3 | 4 | -2 | 16 | 9 | 11 | 4 | 5 | 7 | -2 | 12 | | | | |
| 2019-3 | O157 | 2 | -2 | 1 | 6 | -2 | 6 | 4 | -2 | 13 | 13 | 11 | 6 | 7 | 3 | 5 | 10 | | | | |
| 2019-4 | O157 | 2 | -2 | 1 | 4 | -2 | 5 | 4 | 3 | 12 | 12 | 21 | 6 | 8 | 6 | 3 | 8 | | | | |
| 2019-5 | O157 | 2 | -2 | 1 | 4 | -2 | 4 | 5 | -2 | -2 | 9 | 11 | 3 | 5 | 6 | 3 | 3 | | | | |
| 2019-6 | O26 | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 | 7 | 28 | 6 | -2 | 1 | 9 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |
| 2019-7 | O111 | 3 | 1 | 14 | 2 | -2 | 12 | 10 | 8 | -2 | 3 | 9 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |
| 2019-8 | O111 | 3 | 1 | 10 | 2 | -2 | 7 | 3 | -2 | 3 | 3 | 10 | 2 | -2 | 1 | -2 | 6 | | | | |
| 2019-9 | O157 | 2 | -2 | 1 | 3 | -2 | 5 | 6 | -2 | 5 | 10 | -2 | 4 | 2 | 10 | -2 | 6 | | | | |
| 2019-10 | O157 | 2 | -2 | 1 | 1 | -2 | 6 | 7 | 15 | -2 | 9 | 5 | 3 | 3 | 6 | 7 | 15 | | | | |
| 2019-11 | O157 | 2 | -2 | 1 | 4 | -2 | 5 | 4 | -2 | 7 | 12 | 12 | 13 | 7 | 6 | 3 | 6 | | | | |
| 2019-12 | O157 | 2 | -2 | 1 | 7 | -2 | 7 | 4 | -2 | 7 | 10 | 12 | 3 | 3 | 5 | -2 | 8 | | | | |
| 2019-13 | O26 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 7 | 23 | -2 | -2 | 1 | 16 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |
| 2019-14 | O26 | 2 | 1 | 1 | 2 | 4 | 7 | 16 | 2 | 8 | 1 | 9 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |
| 2019-15 | O111 | 3 | 1 | 5 | 2 | -2 | 14 | 9 | 10 | -2 | 3 | 11 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |
| 2019-16 | O111 | 5 | 1 | 5 | 2 | -2 | 13 | 11 | 7 | 3 | 3 | 9 | 2 | -2 | 1 | -2 | 14 | | | | |
| 2019-17 | O157 | 2 | -2 | 1 | 3 | -2 | 7 | 7 | 6 | -2 | 4 | -2 | 4 | 3 | 9 | 7 | 7 | | | | |
| 2019-18 | O157 | 2 | -2 | 1 | 6 | -2 | 3 | 4 | -2 | -2 | 9 | 10 | 4 | 6 | 7 | -2 | 9 | | | | |
| 2019-19 | O157 | 2 | -2 | 1 | 4 | -2 | 5 | 5 | -2 | -2 | 10 | 17 | 2 | 17 | 6 | 4 | 7 | | | | |
| 2019-20 | O157 | 2 | -2 | 1 | 1 | -2 | 7 | 6 | 20 | -2 | 9 | 12 | 4 | 2 | 6 | 6 | 7 | | | | |
| 2019-21 | O157 | 2 | -2 | 1 | 5 | -2 | 6 | 4 | 13 | 33 | 13 | 10 | 4 | 6 | 6 | 8 | 8 | | | | |
| 2019-22 | O26 | 2 | 1 | 1 | 2 | 5 | 10 | 19 | -2 | -2 | 1 | 8 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |
| 2019-23 | O111 | 4 | 1 | 5 | 2 | -2 | 22 | 10 | -2 | 3 | 3 | 10 | 2 | -2 | 1 | -2 | 10 | | | | |
| 2019-24 | O111 | 4 | 2 | 6 | 2 | -2 | 6 | 12 | -2 | 3 | 3 | 8 | 2 | -2 | 1 | -2 | -2 | | | | |

*-2:増幅産物なし

表5 bin セットを用いて決定したリポート数と感染研で決定されたリポート数との一致率

| 施設 (n=供試株数) | 17遺伝子座すべて一致した株の割合(%) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|----------------------|----------|---------|----------|--------|-------------------------------|-------|-------|-------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | EH111-11 | EH111-14 | EH111-8 | EH157-12 | EH26-7 | 遺伝子座ごとのリポート数一致率 (%) (決定できたもの) | | | | | | | | | | | |
| | 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 |
| No.1 (n=21) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 100 | 100 | 100 | 95 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.2 (n=22) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 91 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 86 | 100 | 86 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 86 |
| 感染研binセット | 91 | 91 | 100 | 91 | 100 | 100 | 91 | 100 | 100 | 100 | 91 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 86 |
| No.3 (n=10) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 10 | 100 | 90 | 10 | 100 | 100 | 10 | 90 | 90 | 20 | 10 | 70 | 100 | 70 | 80 | 100 | 100 |
| No.4 (n=4) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 0 | 75 | 100 | 50 | 100 | 100 | 100 | 75 | 100 | 100 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.5 (n=8) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 38 | 100 | 100 | 38 | 100 | 100 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.6 (n=51) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 94 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 98 | 98 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 98 |
| 感染研binセット | 0 | 39 | 100 | 2 | 96 | 100 | 8 | 96 | 82 | 75 | 90 | 53 | 100 | 100 | 100 | 100 | 98 |

表 6 bin セットを用いて決定あるいは推定したリポート数と感染研で決定されたリポート数との一致率

| 施設 (n=供試株数) | 17遺伝子座すべて一致した株の割合 (%) | 遺伝子座ごとのリポート数一致率 (%) (推定できたものを含む) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-----------------------|----------------------------------|----------|---------|----------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | EH111-11 | EH111-14 | EH111-8 | EH157-12 | EH28-7 | EHC-1 | EHC-2 | EHC-5 | EHC-6 | O157-3 | O157-34 | O157-9 | O157-25 | O157-17 | O157-19 | O157-36 | O157-37 |
| No.1 (n=21) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.2 (n=22) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 82 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 95 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 86 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.3 (n=10) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.4 (n=4) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.5 (n=8) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 63 | 100 | 100 | 63 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| No.6 (n=51) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自作binセット | 96 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 感染研binセット | 8 | 84 | 100 | 100 | 14 | 100 | 100 | 55 | 98 | 84 | 98 | 100 | 98 | 100 | 100 | 100 | 100 | 98 |

表 7 2019 年分離株の主な IS 型

| 近畿ISコード | ISパターン 番号 | 登録数 | 登録 施設数 | 分離時期 | 備考 | |
|---------|--------------|-------|-----------|------|-----------|---------------|
| 84591 | 215275 | AA078 | 36 | 3 | 8月、9月、11月 | 8つの家族内感染事例を含む |
| 216959 | 84459 | AA039 | 10 | 5 | 4月、7-9月 | |
| 249711 | 116975 | AA063 | 9 | 5 | 7月、10月 | |
| 216943 | 84459 | AA692 | 7 | 1 | 9月 | 焼き肉店食中毒事例 |
| 118143 | 114891 | AA047 | 6 | 1 | 6月、7月 | 1つの家族内感染事例を含む |
| 137743 | 198734 | AA031 | 5 | 4 | 6月、8月、9月 | 1つの家族内感染事例を含む |
| 148013 | 199758 | AA121 | 5 | 1 | 11月 | 1つの家族内感染事例を含む |
| 216959 | 84331 | 登録なし | 5 | 1 | 4月、5月 | |

表 8 主な IS 型の判定

| 近畿ISコード | IS/スターン 番号 | セット1判定 | | | | | | | | | | | | | | | | セット2判定 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|---------------|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|---|---|
| | | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | | | |
| 84591 | 215275 | AA078 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 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 |
| 216959 | 84459 | AA039 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 249711 | 116975 | AA063 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 216943 | 84459 | AA692 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 118143 | 114891 | AA047 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 137743 | 198734 | AA031 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 148013 | 199758 | AA121 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 216959 | 84331 | 登録なし | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |

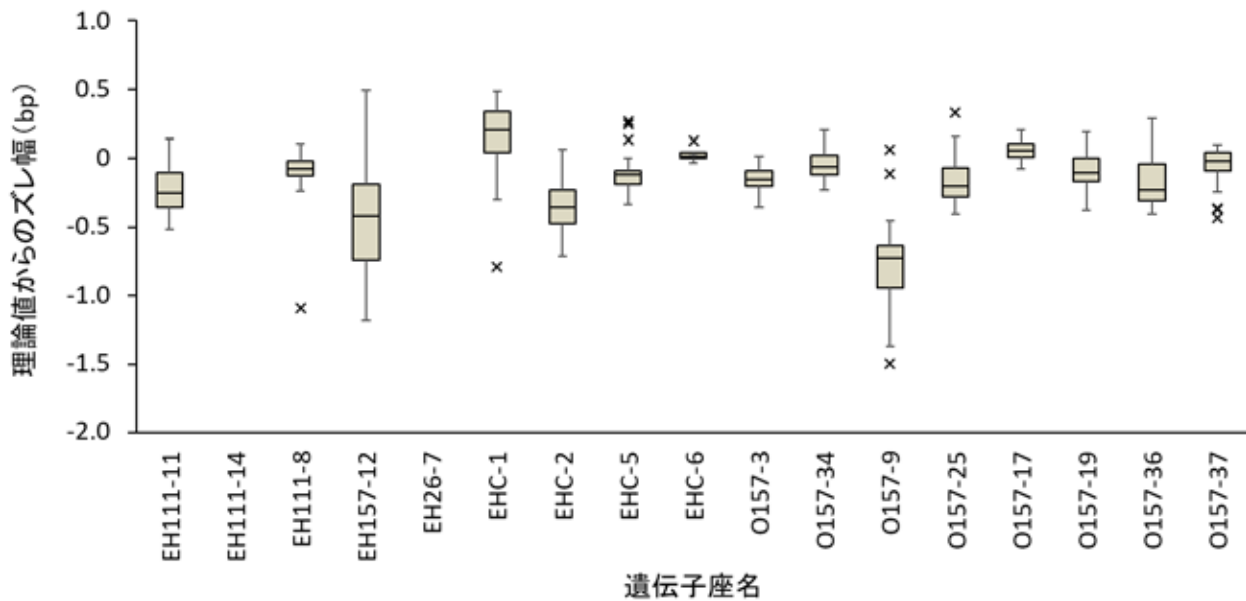


図1 各遺伝子座における理論値と実測値のずれ幅(箱ひげ図)

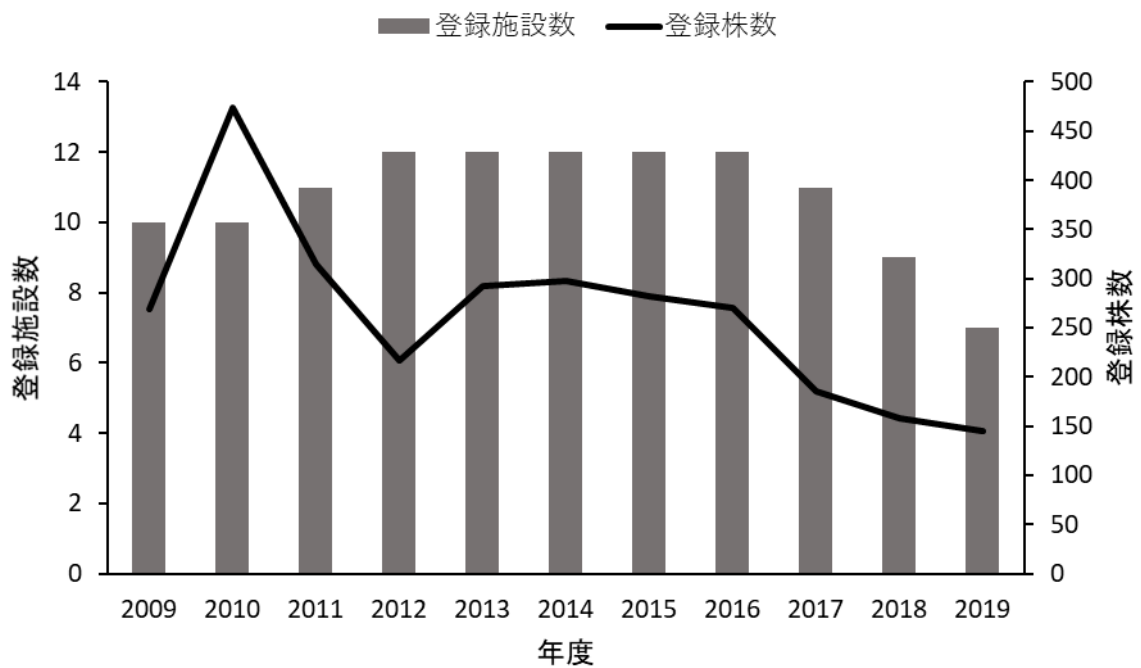


図2 近畿ISデータベースの登録施設数と登録株数の変遷