

厚生労働省 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの強化のための研究

侵襲性髄膜炎菌感染症起炎菌の細菌学的解析

R4 (2022) 年度

国内で分離された髄膜炎菌感染症の血清学的及び分子疫学的解析、薬剤感受性試験

研究分担者 高橋英之 国立感染症研究所 細菌第一部 室長

研究要旨

日本における侵襲性髄膜炎菌感染症の実態に関しては不明な点が多い。本研究では 10 道県（北海道、宮城、山形、新潟、三重、奈良、高知、福岡、鹿児島、沖縄）のみならず全国における侵襲性髄膜炎菌感染症（IMD）のサーベイランスネットワークの拡大を図り、IMD の原因菌（IMD 株）の積極的収集とその血清学的及び分子疫学的解析を試みた。また、性感染症由来株や健康保菌者由来株といった、IMD 由来ではない（non-IMD）株の解析も積極的に実施した。

A. 研究目的

侵襲性髄膜炎菌感染症（Invasive meningococcal Diseases : IMD）は海外においてはヒトヒト感染による集団感染事例が多く報告され、常に公衆衛生的注視を余儀なくされている。一方で、日本においては年間 40 例程度の稀少感染症となっている。しかし、2011 年 5 月に宮崎の高校生の寮で発生した IMD の集団感染事例は日本においても IMD は楽観視出来ないということを改めて認識させる事例となり、ワクチン導入の経験もない日本において何故 IMD 症例が少ないのか、そもそも健康保菌者の髄膜炎菌保菌率はどのようになっているのかを問われる事例となった。しかし、IMD の実態はその稀少感染症であるが故に不明な点が多く、そのサーベイランスシステムも効率的に構築されてこなかった。

そこで、本研究においては国立感染症研究所疫学センターの神谷元博士と共同で、感染症法で 5 類の全数報告となっている NESID に報告された IMD の把握と、その原因株の収集及びその血清学的及び分子疫学的解析を行ない、IMD の疫学情報及びその原因菌の情報を統合させた IMD のサーベイランスシステムの構築を試みた。分担研究者は主に IMD 原因菌の収集及びその血清学的及び分子疫学的解析、そして薬剤感受性試験を実施した。また、性感染症由来株や健康保菌者由来株といった、IMD 由来ではない（non-IMD）株の解析も行なった。

B. 研究方法

1) 菌株の収集

各 10 道県のみならず全国の同県衛生研究所、保健所の協力を得て菌株を血液寒天

培地・常温で国立感染症研究所の方へ輸送
 する手配を行なった。

2) 菌の生育方法

輸送された髄膜炎菌は直ちに GC 寒天培
 地に塗布後、37℃、5% CO₂ 条件下で一晩培
 養した。蘇生培養された菌は凍結保存し、一
 部を解析に用いた。

3) 菌体の処理 (DNA サンプルの調製)

プレート上の菌体 1μl loop 分を 100 μl の
 TE に懸濁した。そこから DNA の抽出は
 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN)を用い
 て添付プロトコール通り行い、200 μl の AE
 で溶出後、精製後 A₂₆₀ にて濃度測定を行な
 い、実験に供した。

4) 血清群型別

a) PCR 反応液の調製

以下の表に従って 6 本の PCR 反応液を調製
 する。

鋳型 DNA	0.25μl	
10 x ExTaq buffer	2.5 μl	
2.5mM dNTPs	2 μl	
primers-1 (100μM)	0.25 μl	} 表 1 参照
primers-2 (100μM)	0.25 μl	
ExTaq polymerase	0.25 μl	
H ₂ O	19.5 μl	

b) PCR 反応

PCR Thermal Cycler Dice TP600 (Takara Bio)
 を用いて以下のプロトコールに従って PCR
 反応を行なった。

94℃×3min.	} 2 cycles
55℃×30sec.	

72℃×20sec.	} 35 cycles
↓	
94℃×40sec.	
55℃×30sec.	
72℃×20sec.	}
↓	
72℃×10min.	

c) 結果の確認

10 μl の 40% glycerol-dye を加えた後、そ
 の反応液 5 μl を 2 % アガロースゲル
 (~0.1 mg/ml のエチジウムブロマイドを含
 む)で 100 V で 30 分電気泳動し、UV 照射
 条件下で結果を確認した。

5) 髄膜炎菌の遺伝子型同定

検査方法

a) sequence 鋳型 DNA の調製

- 前項「髄膜炎菌の血清型同定-PCR 法-鋳
 型 DNA の調製」で調製した染色体 DNA
 を鋳型 DNA として用いて以下の表に従っ
 て 7 本の PCR 反応液を調製した。

鋳型 DNA	0.25μl	
10 X ExTaq buffer	2.5 μl	
2.5mM dNTPs	2 μl	
primers-1 (100 μM)	0.25μl	} 表 2 参照
primers-2 (100 μM)	0.25 μl	
ExTaq polymerase	0.25 μl	
H ₂ O	19.5 μl	

b) PCR 反応

PCR Thermal Cycler Dice TP600
 (Takara Bio) を用いて以下のプロ

トコールに従って PCR 反応を行なった。

ア) *abcZ*, *adk*, *fumC*, *gdh*

94°C×4 分	
94°C×30 秒	5 サイクル
60°C×1 分	
72°C×1 分	
94°C×30 秒	5 サイクル
58°C×1 分	
72°C×1 分	
94°C×30 秒	20 サイクル
56°C×1 分	
72°C×1 分	

4°C

aroE, *pdhE*, *pgm*

94°C×4 分	
94°C×30 秒	5 サイクル
70°C×1 分	
72°C×1 分	
94°C×30 秒	5 サイクル
68°C×1 分	
72°C×1 分	
94°C×30 秒	20 サイクル
66°C×1 分	
72°C×1 分	

4°C

c) PCR 産物の精製

Fast Gene Gel / PCR Extraction Kit (日本ジェネテックス) を用いて精製し、シーケンス用の鋳型 DNA 25 µl を調製した。

d) Sequence reaction

以下の表に従って 14 本の PCR 反応液を調製した。

鋳型 DNA 2 µl
primer (4µM) 1 µl
(表 3 に示すプライマーに対応)

BigDye v3.1 4 µl

H₂O 4 µl

94°C×4 分	
94°C×20 秒	30 サイクル
50°C×30 秒	
60°C×4 分	

反応物 (～10 µl) は Sephadex G50 によって精製し、10 µl の Formaldehyde を混和し、100 °Cで 2 分インキュベーション後、すぐに氷冷した。Appiled Biosystem 3500 Genetic Analyzer に供して塩基配列を解読した。

e) Sequence の解析

得られた DNA の塩基配列を DNA 塩基配列ソフト、GENETYX-MAC (Genetyx)によって塩基配列を解析し、以下の入力配列領域を用いて最終確認した。

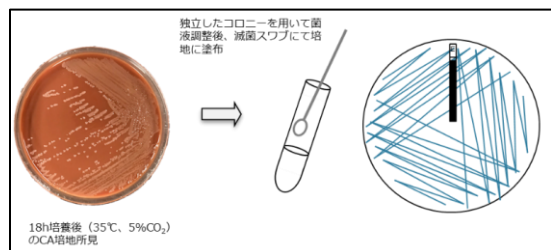
<i>abcZ</i>	433 bp
<i>adk</i>	465 bp
<i>aroE</i>	490 bp
<i>fumC</i>	465 bp
<i>gdh</i>	501 bp
<i>pdhC</i>	480 bp
<i>pgm</i>	450 bp

さらには、Multi locus sequence typing (MLST)を行なうために英国オックスフォード大学のホームページに設置されるサイト、<http://mlst.zoo.ox.ac.uk/> にアクセスし、7 つの遺伝子座についてそれぞれの allele ナンバーを

同定後、別ページに再度アクセスし、それらのナンバーを入力して遺伝子型 (Sequence Type : ST) を同定した。

6) 薬剤感受性試験

GC 寒天培地で一晚培養した新鮮培養菌を 3 mL P B S に懸濁し、OD₆₀₀ が 0.25 になるように調製した。その菌懸濁液に滅菌スワブを浸し、過剰な水分は内壁に押し付けて除去した後に、血液加ミューラーヒントン寒天培地 (日本 BD) の表面全体にシャーレを 60 度ずつ回転させながらムラなく 3 回塗布し (下図を参照)、培地表面が乾いたの



を確認して E-test ストリップ (バイオメリュール) を置いた。その寒天培地を 37℃、5%CO₂ で約 24h 培養後、阻止帯から MIC 値を読み取った。各抗菌薬 MIC 値は、European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) の clinical breakpoints を基に感性・耐性を判定した。

C. 研究結果

2020 年から新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の影響により、国内の IMD 症例も激減していた。しかし、昨年度は 1 症例であった IMD が本年度は少なくとも 8 症例分の IMD 起炎菌株 (IMD 株) を回収し、解析することが出来た。まず、その IMD 株の血清学的及び分子疫学的解析を実施した。

血清学的解析の結果は Y ; 3 株 (38%)、B ;

3 株 (38%)、C ; 1 株 (12%)、Non-groupable (NG); ; 1 株 (12%) であった (表 4)。分子疫学的解析からは血清群 B 株は ST-2057、ST-467 (ST-269 complex)、血清群 Y 株は ST-1655 (ST-23 complex) 及びその一塩基多型で新規 ST に分類される ST-17048、血清群 C 株はビルレンス株と世界的に知られている ST-11 の一塩基多型で新規 ST に分類される ST-17239、NG 株は ST-2032 (ST-178 complex) であった (表 4)。更にそれらの薬剤感受性を解析した結果、IMD 株 8 株全てに関して薬剤耐性は認められなかった (表 5)。

一方、non-IMD 株 21 株に関しては、血清学的解析の結果は、Y ; 1 株 (5%)、C ; 3 株 (14%)、NG; ; 17 株 (81%) であった (表 6)。分子疫学的解析からは血清群 Y 株は ST-23 (ST-23 complex) の一塩基多型で新規 ST に分類される ST-17458、血清群 C 株はビルレンス株と世界的に知られている ST-11、NG 株は日本固有株に認められる ST-11026 (ST-32 complex) であった (表 6)。更にそれらの薬剤感受性を解析した。その結果、CPFX 耐性が 15 株 (71%)、PCG 非感性が 14 株 (67%) 存在することが明らかとなった (表 7)。

D. 考察

本年度も本研究班で疫学 (及び臨床) 情報の収集 (国立感染症研究所疫学センターが担当) との協力研究体制の下に IMD 株そして、non-IMD 株の収集も積極的に行ない、それらの血清学的及び分子疫学的解析、薬剤感受性試験を実施した。

2020～2021 年度は COVID-19 を経験する中での IMD 調査となり、計 5 株のみの解析となっていた。しかし、本年度は 8 つの IMD 株を

解析することとなり、コロナ禍が明け始め、日本国内における呼吸器系細菌感染症の増加の兆しと考えられた。

IMD 株に関しては、薬剤耐性が認められないことから、Y 群と共に B 群が多い日本国内において、抗生物質を用いた予防内服は効果的に作用することが予想された。また、ST-17239(ST-11 complex)や ST-17048 といった新規 ST 株の検出と並んでこれまでに国内で検出された ST 株のみが検出されてきていることから、インバンド増加傾向が認められつつある日本において IMD 起炎菌株における海外流の可能性は低いと考えられた。

一方、non-IMD 株に関しては、依然として日本固有株 ST-11026 の分離数が極めて多く認められた。ST-11026 株は NG である為に IMD 起炎菌株となる可能性は一般的には低いと考えられるが、シプロフロキサシン耐性、ペニシリン G 非感性を示す（表 7）。ST-11026 のシプロフロキサシン耐性、ペニシリン G 非感性/耐性は遺伝学的背景と非常にリンクしていることが明らかとなってきた（投稿準備中）。臨床現場で髄膜炎菌株が検出された場合、その血清群や遺伝子型までを同定できる臨床検査室は国内では限定されており、その場合には予防内服として国内で最も使用されるシプロフロキサシンが盲目的に使用される可能性が非常に高く、その際は予防内服もしくは除菌を目的とした抗生物質の投与は効果を示さず、逆に保菌者における ST-11026 髄膜炎菌株の増加を助長する可能性もある。その為、血清群や薬剤感受性の迅速診断法開発も別途必要であると考えられた。

最後に、2020 年開催予定であった東京オリンピックが高度の COVID-19 感染対策の元で

2021 年無事に開催された。2023 年 5 月には日本でも COVID-19 が 5 類相当に変更され、国内そして既に感染症対策の規制が緩和されている海外からの旅行者の増加は必然的な未来として想定され、そのヒト交流の機会及びインバンド増加に伴う IMD 増加は容易に推測される。今後、広島サミット、大阪万博と日本においても国際イベントの開催も予定されており、コロナ禍後の IMD 増加とその起炎菌株の解析による IMD サーベイランスは引き続き重要な防疫対策として必要であると考えられた。

E. 結論

IMD 株は、薬剤耐性が認められず、国内由来株と推定される遺伝子型と判定された。一方で non-IMD 株はシプロフロキサシン耐性、ペニシリン G 非感性/耐性を示す日本固有株 ST-11026 の分離数が極めて多く分離された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yusuke Ota, Reina Okada, Hideyuki Takahashi, Ryoichi Saito. A mismatch amplification mutation assay for specific detection of ciprofloxacin-resistant *Neisseria meningitidis*. *J Infect Chemother* in press

Nishida Y, Yanagisawa S, Morita R, Shigematsu H, Shinzawa-Itoh K, Yuki H, Ogasawara S, Shimuta K, Iwamoto T,

- Nakabayashi C, Matsumura W, Kato H, Gopalasingam C, Nagao T, Qaqorh T, Takahashi Y, Yamazaki S, Kamiya K, Harada R, Mizuno N, Takahashi H, Akeda Y, Ohnishi M, Ishii Y, Kumasaka T, Murata T, Muramoto K, Tosha T, Shiro Y, Honma T, Shigeta Y, Kubo M, Takashima S, Shintani Y. Identifying antibiotics based on structural differences in the conserved allostery from mitochondrial heme-copper oxidases. *Nat Commun* 2022 13:7591. doi: 10.1038/s41467-022-34771-y.
- Soichiro Kado, Koji Kamiya, Takashi Hosaka, Tetsuya Kawamura, Kenichi Komatsu, Eiji Kajii, Hideyuki Takahashi, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki. Adult invasive meningococcal disease caused by *Neisseria meningitidis* classified as serogroup B and sequence type 15947. *Journal of Dermatology* doi: 10.1111/1346-8138.16664.
- Hideyuki Takahashi, Masatomo Morita, Hajime Kamiya, Munehisa Fukusumi, Masatomi Sunagawa, Haruna Nakamura-Miwa, Yukihiro Akeda, Ken Shimuta, Makoto Ohnishi. Genetic characterization of Japanese meningococcal strains isolated over a 17-year period between 2003 and 2020 in Japan. *Vaccine* 2023 1:416-426.
- Yusuke Ota, Reina Okada, Hideyuki Takahashi, Ryoichi Saito. Molecular detection of fluoroquinolone-resistant *Neisseria meningitidis* by using mismatched PCR-restriction fragment length polymorphism technique. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 2;12:911911. doi:10.3389/fcimb.2022.911911. eCollection 2022.
- Shimuta K, Takahashi H, Akeda Y, Nakayama SI, Ohnishi M. Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Identifying *Neisseria gonorrhoeae* Nonmosaic *penA*-Targeting Strains Potentially Eradicable by Cefixime. *Microbiol Spectr*. 2022, 24:e0233522. doi: 10.1128/spectrum.02335-22.
- Saito R, Nakajima J, Prah I, Morita M, Mahazu S, Ota Y, Kobayashi A, Tohda S, Kamiya H, Takahashi H, Ohnishi M. Penicillin- and Ciprofloxacin-Resistant Invasive *Neisseria meningitidis* Isolates from Japan. *Microbiol Spectr*. 2022, 29;10(3):e0062722. doi: 10.1128/spectrum.00627-22.
- Takahashi H, Morita M, Kamiya H, Nakamura-Miwa H, Shimuta K, Ohnishi M. Genetic characterization of clonal complex sequence type 2057 (cc2057) serogroup B *Neisseria meningitidis* strains unique to Japan and identification of a capsular-switched serogroup Y isolate cc2057. *J Med Microbiol*. 2022, 71(3). doi: 10.1099/jmm.0.001504.

2. 学会発表

高橋英之、森田昌知、神谷元、福住宗久、砂川富正、三輪春奈、明田幸宏、志牟田健、大西真、Genomic characterization of Japanese meningococcal strains isolated over a 17-year period between 2003 and 2020 in Japan、第 97 回細菌学会総会、姫路、2023 年 3 月

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 血清群型別用PCRプライマー

同定因子	プライマー名	塩基配列	長さ
<i>crgA</i> (陽性コントロール)	<i>crgA</i> -1	5'-GCTGGCGCCGCTGGCAACAAAATTC-3'	25mer
	<i>crgA</i> -2	5'-CTTCTGCAGATTGCGGCGTGCCGT-3'	24mer
血清群 A	<i>orf2</i> (A)-1	5'-CGCAATAGGTGTATATATTCTTCC-3'	24mer
	<i>orf2</i> (A)-2	5'-CGTAATAGTTTCGTATGCCTTCTT-3'	24mer
血清群 B	<i>siaD</i> (B)-1	5'-GGATCATTTCAGTGTTTTCCACCA-3'	24mer
	<i>siaD</i> (B)-2	5'-GCATGCTGGAGGAATAAGCATTAA-3'	24mer
血清群 C	<i>siaD</i> (C)-1	5'-TCAAATGAGTTTGCGAATAGAAGGT-3'	25mer
	<i>siaD</i> (C)-2	5'-CAATCACGATTTGCCCAATTGAC-3'	23mer
血清群 Y	<i>siaD</i> (Y)-1	5'-CTCAAAGCGAAGGCTTTGGTTA -3'	22mer
	<i>siaD</i> (Y)-2	5'-CTGAAGCGTTTTTCATTATAATTGCTAA -3'	27mer
血清群 W	<i>siaD</i> (W)-1	5' - CAGAAAGTGAGGGATTTCCATA- 3'	22mer
	<i>siaD</i> (W)-2	5'- CACAACCATTTTCATTATAGTTACTGT- 3'	27mer

表2 遺伝子型別用の鋳型調製PCRプライマー

<i>abcZ</i>	P1 - ATTCGTTTATGTACCGCAGG
	P2 - GTTGATTTCTGCCTGTTCCG
<i>adk</i>	P1 - ATGGCAGTTTTGTGCAGTTGG
	P2 - GATTTAAACAGCGATTGC
<i>aroE</i>	P1 - ACGCATTTCGCGCCGACATC
	P2 - ATCAGGGCTTTTTTCAGGTT
<i>fumC</i>	P1 - CACCGAACACGACACGATCG
	P2 - ACGACCAGTTCGTCAAATC
<i>gdh</i>	P1 - ATCAATACCGATGTGGCGCGT
	P2 - GGTTTTTCATCTGCGTATAGA
<i>pdhC</i>	P1 - GGTTTCCAACGTATCGGCGAC
	P2 - ATCGGCTTTGATGCCGTATTT
<i>pgm</i>	P1 - CTTCAAAGCCTACGACATCCG
	P2 - CGGATTGCTTTCGATGACGGC

表3 遺伝子型別用のシーケンスPCRプライマー

<i>abcZ</i>	P1-ATTCGTTTATGTACCGCAGG
	S2-GAGAACGAGCCGGGATAGGA
<i>adk</i>	S1-AGGCTGGCACGCCCTTGG
	S2;CAATACTTCGGCTTTCACGG
<i>aroE</i>	S1-GCGGTCAACTACGCTGATT
	S2-ATGATGTTGCCGTACACATA
<i>fumC</i>	S1-TCCGGCTTGCCGTTTGTCTAG
	S2-TTGTAGGCGGTTTGGCGAC
<i>gdh</i>	S1-GTGGCGCGTTATTTCAAAGA
	S2-CTGCCTTCAAAAATATGGCT
<i>pdhC</i>	S1-TCTACTACATCACCCCTGATG
	P2-ATCGGCTTTGATGCCGTATTT
<i>pgm</i>	S1-CGGCGATGCCGACCGCTTGG
	S2-GGTGATGATTTCGGTTGCGCC

表4 R4年度に分離されたIM D患者由来株の解析結果

NIID No	日付	血清群	遺伝子型	complex	地域	検体	症状	性別	年齢
810	4月22日	B	2057	2057	福岡	血液	敗血症	男	6
812	5月18日	NG	2032	178	群馬	血液	菌血症	女	28
813	6月2日	Y	1655	23	大阪	血液	菌血症	女	87
822	11月7日	Y	1655	23	山口	血液	菌血症	女	68
824	12月9日	Y	17048	23	埼玉	血液・髄液	髄膜炎	男	49
829	1月29日	C	17239	11	東京	血液	菌血症	男	73
840	3月2日	B	467	269	大阪	血液	菌血症	男	17
841	3月2日	B	467	269	大阪	血液	菌血症	男	6

表5 R4年度に分離されたIM D患者由来株の薬剤感受性試験

NIID No	AZM	CP	CPFX	CTRX	MINO	MEPM	PCG	RFP	TRIM
810	0.064	1.5	0.094	<0.002	0.25	0.003	0.023	0.032	0.064
812	0.094	0.75	0.002	<0.002	0.125	0.0002	0.012	0.038	0.032
813	0.032	1	<0.002	<0.002	0.75	0.0002	0.023	0.016	0.38
822	0.19	0.002	0.75	<0.002	0.19	0.012	0.0047	0.004	0.25
824	0.25	1	0.004	<0.002	0.25	0.012	0.047	0.008	0.25
829	0.047	0.75	0.004	0.023	0.125	0.125	0.19	0.004	0.125
840	0.19	0.75		0.002		0.004		0.012	0.3
841	0.25	0.75		0.002		0.004		0.012	0.4

表6 R4年度に分離されたnon-IM D株の解析結果

NIID No	日付	血清群	遺伝子型	complex	地域	検体
809	4月20日	NG	11026	32	埼玉	膣分泌物
815	8月17日	NG	11026	32		咽頭スワブ
816	8月17日	NG	11026	32		咽頭スワブ
817	8月17日	NG	11026	32		尿道炎分泌物
818	8月17日	NG	11026	32		尿道炎分泌物
819	8月17日	NG	11026	32		咽頭スワブ
820	8月17日	NG	11026	32		咽頭スワブ
821	8月17日	NG	11026	32		結膜拭い液
823	11月14日	NG	17000	32	北海道	喀痰
826	1月12日	NG	17181	32	埼玉	眼脂
827	1月19日	NG	11026	32	北海道	膣分泌物
830	2月3日	NG	11026	32		尿道分泌物
831	2月3日	NG	11026	32		尿
832	2月3日	NG	11026	32		尿道分泌物
833	2月3日	Y	17458	23		尿道分泌物
834	2月3日	NG	17000	32		子宮頸管
835	2月3日	C	11	11	東京	尿道分泌物
836	2月3日	C	11	11	愛知	尿道分泌物
837	2月3日	NG	11026	32		尿道分泌物
838	2月3日	C	11	11	愛知	尿道分泌物
839	2月3日	NG	11026	32		咽頭スワブ

太字は性感染症由来株（一部は咽頭保菌株）を示す。

表7 R4年度に分離された non-IM D 患者由来株の薬剤感受性試験

NIID No	AZM	CP	CPFX	CTRX	MINO	MEPM	PCG	RFP	TRIM
809	0.38	1.5	0.19	<0.002	0.75	0.016	0.25	0.38	2
815	0.19	0.5	0.047	<0.002	<0.0016	0.032	0.25	0.064	1
816	0.38	1	0.094	0.008	0.094	0.032	0.125	0.023	0.038
817	0.75	1.5	0.19	<0.002	0.25	0.047	0.125	0.094	2
818	0.5	1	0.19	<0.002	0.125	0.064	0.25	0.032	1.5
819	1.5	2	0.125	<0.002	0.19	0.047	0.016	0.002	0.032
820	0.38	1	0.125	<0.002	0.094	0.094	0.125	0.032	0.5
821	0.25	1	0.19	<0.002	0.19	0.032	0.19	0.032	1.5
823	0.25	1	0.125	<0.002	0.125	0.047	0.125	0.012	0.5
826	1	1.5	0.25	<0.002	0.25	0.094	0.25	0.094	4
827	0.38	1	0.125	<0.002	0.064		0.125	0.023	1
830	0.38	1	0.19	<0.002	0.19	0.064	0.25	0.032	2
831	0.38	0.75	0.125	<0.002	0.19	0.047	0.19	0.064	1.5
832	1	0.75	0.125	<0.002	0.125	0.023	0.064	0.023	0.38
833	0.25	1.5	0.004	0.002	0.5	0.016	0.094	0.012	0.5
834	0.38	1	0.19	<0.002	0.125	0.064	0.25	0.032	1
835	0.19	1	0.003	0.003	0.012	0.19	0.032	0.047	0.75
836	0.064	0.5	0.004	<0.002	0.064	0.023	0.094	0.004	0.38
837	0.38	1	0.25	<0.002	0.19	0.19	0.19	0.047	4
838	0.032	0.5	0.004	<0.002	0.064	0.012	0.047	0.004	1
839	0.38	1	0.19	<0.002	0.19	0.064	0.25	0.125	1.5

赤字は耐性、青字は非感性的の判定となることを示す。