

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30年度～令和2年度 総合研究報告書(分担報告)

中四国ブロックにおける食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの
構築のための研究

研究分担者	狩屋 英明	岡山県環境保健センター
研究協力者	田中 大和	鳥取県衛生環境研究所
	山根 拓也	鳥取県衛生環境研究所
	福間 藍子	島根県保健環境科学研究所
	小谷 麻祐子	島根県保健環境科学研究所
	林 宏樹	島根県保健環境科学研究所
	三瀬 博也	岡山市保健所衛生検査センター
	檀上 博子	岡山市保健所衛生検査センター
	平塚 貴大	広島県立総合技術研究所保健環境センター
	青田 達明	広島市衛生研究所
	佐藤 香緒里	広島市衛生研究所
	栗林 智早	広島市衛生研究所
	山本 美和子	広島市衛生研究所
	坂本 綾	広島市衛生研究所
	上田 久仁子	広島市衛生研究所
	山木戸 聡	広島市衛生研究所
	尾羽根 紀子	山口県環境保健センター
	大塚 仁	山口県環境保健センター
	野村 恭晴	山口県環境保健センター
	篠原 礼	徳島県立保健製薬環境センター
	佐藤 豪	徳島県立保健製薬環境センター
	関 和美	香川県環境保健研究センター
	浅野 由紀子	愛媛県立衛生環境研究所
	木村 千鶴子	愛媛県立衛生環境研究所
	阿部 祐樹	愛媛県立衛生環境研究所
	氏家 絢子	愛媛県立衛生環境研究所
	矢儀田 優佳	愛媛県立衛生環境研究所
	影山 温子	高知県衛生環境研究所
	尾崎 早矢香	高知県衛生環境研究所
	潮 のどか	高知県衛生環境研究所
	河合 央博	岡山県環境保健センター

森本 晃司	岡山県環境保健センター
仲 敦史	岡山県環境保健センター
岡田 達郎	岡山県環境保健センター
中嶋 洋	岡山県環境保健センター

研究要旨

食品由来感染症の広域事例発生時には、症例間の関連性を明らかにするため、各症例由来株の分子疫学解析結果等を各自治体が共有し、病原体分離株の比較・解析を行うことが有用である。地方衛生研究所(地衛研)が実施した分離菌株の分子疫学解析結果を用いて各自治体保健衛生部局が適正に解析等を行うには、地衛研における分離菌株の分子疫学解析手法の技術維持や解析精度・解析能力の向上による精度管理体制の強化が必要不可欠である。そこで、中四国ブロック内の施設を対象に、腸管出血性大腸菌(EHEC) 0157 菌株を用いた IS-printing System、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。その結果、一部の施設を除いて、ほとんどの施設で良好な結果が得られたが、一部の施設では技術の習熟、改善及び工夫が必要と思われた。また、MLVA 法については、導入する地衛研は増加傾向にあり、更に全国的な普及が予想される。MLVA 法を導入する施設に対して、技術研修及び本研究結果に基づく MLVA 法導入に係る技術的支援並びに導入後の継続的な精度管理の実施が、中四国ブロックにおける検査精度管理体制の強化のためには必要と考えられた。

平成 30 年度から令和 2 年度に、中四国ブロックで発生した EHEC による感染事例について、分子疫学解析結果や疫学情報を収集し、厚生労働省健康局結核感染症課及び厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課から平成 30 年 6 月 29 日に発出された事務連絡「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」に基づいた食品保健総合情報処理システム(NESFD)の全国の MLVA 情報も参考としながら比較調査した。その結果、同一の MLVA 型や同一の IS コードの EHEC 菌株による感染事例が複数の自治体で確認されたが、中四国ブロック内では同一汚染源による広域的な腸管出血性大腸菌を原因とする食中毒は認められなかった。

3 年間にわたる本研究により、菌株解析を行う中四国ブロックの地衛研の解析技術の向上を図ることができたものとする。更には、IS-printing System、PFGE 法、MLVA 法による EHEC 分子疫学解析手法の精度管理実施により、サーベイランス技術水準の向上に貢献したものとする。

A. 研究目的

食品由来感染症の広域的な事例が発生した場合、事例や症例間の関連性を明らかにするためには、分離株の分子疫学解析

結果の比較・解析が有用であり、適切に解析を行うには、検査技術の維持と解析能力・解析精度の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、各種解析手法の精度管理を実施した。STEC 株等のゲノム解析で汎用される IS-printing System (以下、IS-PS と言う)、パルスフィールド電気泳動法 (以下、PFGE 法と言う)、multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (以下、MLVA 法と言う) について、腸管出血性大腸菌 (以下、EHEC と言う) 0157 株を用いた精度管理を実施するとともに、検査手法の問題点や改善点の洗い出しなどを行うことにより解析技術の問題点等を考察した。また、ブロック内での EHEC 発生事例について、分子疫学解析結果や疫学情報を収集し、NESFD の全国の MLVA 情報も参考としながら、関連性や流行株等を調査し考察した。

B. 研究方法

平成 30 年度から令和 2 年度の各年度に EHEC 0157 菌株 4 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、PFGE 法及び MLVA 法による解析結果を菌株情報とともに収集し、NESFD の全国の MLVA 情報も参照としながら、比較調査を行った。

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) の同定コード化になって、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 コードという) 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、実施可能な施設で、それぞれの施設のプロトコールにより実施した。

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及びダブルピーク時のピーク高を比較解析した。

C. 研究結果

1. 精度管理

(1) 平成 30 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。各施設の IS コードによる解析結果は表 1 に、泳動像は図 1、図 2 に示した。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、2 施設 (F), (H) では 1st set primer の IS コードが他施設とは異なった。これは、施設 (F) では 1st set primer の菌株 1 の「1-01」、施設 (H) では菌株 2 及び菌株 3 の「1-03」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、10 施設が参加して実施し、このうち 8 施設でデンドログラム解析を実施した。泳動像は、鮮明さ (解像度) 等の影響もあるが、ほとんどの施設はおおむね良好な泳動像が得られた。一部でバンドが薄くなり判定が困難と考えられるところ (施設 (H)) があったが、バンドパターンを目視により確認し比較したところ、他施設のものとは一致していた (図 3)。MLVA 法は 5 施設で実

施した。5施設全て0157株の17カ所の遺伝子座についてリピート数を解析した。その結果を、表2に示した。菌株1の「0157-9」ではリピート数9と標記した施設もあればリピート数9、13と標記していた施設もあり、施設によって結果の記載が異なった。菌株2及び3の「0157-3」では、施設(E)がリピート数-2(増幅産物なし)であり、他施設とは異なる結果となった。その他の遺伝子座では、各施設でリピート数は一致した。

(2) 令和元年度の結果

IS-PSの精度管理は、9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、1施設(H)では1st set primerのISコードが他施設とは異なった。これは、菌株3の「1-03」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、8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、ほとんどの施設はおおむね良好な泳動像が得られた。一部の施設でバンドが薄くなり判定が困難と思われる場合もあったが、バンドパターンを目視により確認し、比較したところ、他施設のものとは一致していた。また、デンドログラム解析では、類似度の最大値は100%、最小値は65%であった。菌株1と4の類似度は、施設(K)を除いて100%一致していた。菌株2と3で類似度の順序が施設により異なっていた(表3)。MLVA法は9施設で実施した。9施設全て0157株の17カ所の遺伝子座についてリピート数を解析した。その結果を、表4に示した。施設Hでは各菌株の遺伝子座0157-3、0157-34、0157-9、0157-25、0157-17、0157-36、0157-37を共通とする複数の遺伝子座で他施設とは異なる結果

となった。施設Iでは菌株1と4の遺伝子座EH111-11Tでリピート数が判明していなかった。

(3) 令和2年度の結果

IS-PSの精度管理は、8施設が参加して実施した(表5)。いずれの施設も適正にバンドが認識できており、概ね良好であった。ISコードは多くの施設が一致したが、1施設(I)では菌株4で1st Primer setの1-13、1-14、1-15の集計にミスがあり、ISコードの判定に違いが見られた。PFGE法の精度管理は、8施設が参加して実施し、参加した全施設でデンドログラム解析を実施した。ほとんどの施設でおおむね良好な泳動像が得られた。また、デンドログラム解析で、菌株1と2の類似度は、全施設が類似度100%で一致していた。菌株3と4で類似度の順序が施設により異なっていた(表6)。MLVA法は9施設で実施した。9施設全て0157株の17カ所の遺伝子座についてリピート数を解析した。その結果を、表7に示した。施設Jでは各菌株の遺伝子座0157-3及び0157-36で他施設とはリピート数が1つずつ異なる結果となった。菌株3は解析領域EHC-5がリピート数8と9のダブルピークが出現する株を使用したが、どの施設もピークの高さに関して、正確にダブルピークを検出していた。

2. 中四国地域のEHEC感染事例発生状況と解析結果

(1) 平成30年度の結果

中四国ブロック内では同一汚染源による広域的な腸管出血性大腸菌食中毒は認められなかったものの、同一のMLVA型及び同一のMLVAcomplexの株が、中四国ブロック内の複数の自治体で検出される事例も見られ、また、その同一株の検出等により中四国以外の自治体では食中毒として判断された事

例も複数例見られた。例えば、「18m0192、18c035」(MLVA 型、MLVAcomplex の順)の 0157 菌株が中四国ブロック内の 5 自治体で検出された事例があり、東京都内ホテルビュッフェレストラン食中毒関連株として確認された。また、同一 IS コードで同一 MLVAcomplex だが MLVA 型が違う例(接触者)、同一 IS コードだが MLVA 型が違う例も複数見られた。また、026 では同一 MLVA 型であっても PFGE で 6 バンドを超える差も見られた事例もあった。

(2) 令和元年度の結果

中四国ブロック内では同一汚染源による広域的な腸管出血性大腸菌食中毒は認められなかったものの、同一の MLVA 型及び同一の MLVAcomplex の株が、中四国ブロック内の複数の自治体で検出される事例も見られた。また、全国的に有症者が発生した焼肉チェーン店が原因施設として疑われる 0157VT2 : 「19m0506、19m0508、19m0487、19c058」(MLVA 型、MLVAcomplex の順)による集団発生に関連した患者株も中四国ブロック内に見られた。また、同一 IS コードだが MLVA 型が違う事例、同一 MLVA 型だが IS コードが違う事例、IS コードは異なるが同じ MLVAcomplex の事例も見られた。また、同じ MLVA 型であっても PFGE のデンドログラム解析でわずかに異なる例も見られた。

(3) 令和 2 年度の結果

中四国ブロック内では同一汚染源による広域的な腸管出血性大腸菌食中毒は認められなかった。しかし、同一の MLVA 型及び同一の MLVAcomplex の株が、中四国ブロック内及び他ブロックの複数の自治体で検出される事例も多く見られた。また、同一 IS コードだが MLVA 型が違う事例、同一 MLVA 型だが IS コードが違う事例も見られた。中四国ブロック内のある自治体では EHEC 届出

数が令和 2 年 12 月末時点で 100 を超えていた。これは、令和 2 年 8 月から 10 月にかけて当該自治体で 22 名の 0157VT1,2 の MLVA 遺伝子型 20m0245(20c038)を原因とする腸管出血性大腸菌感染症の多発が要因として考えられたが、感染源は不明であった。さらに、症例多発時と同時期に、中四国以外の 3 自治体計 3 名に同じ遺伝子型菌による事例が見られた。

D 考 察

平成 30 年度～令和 2 年度に、IS-PS、PFGE 法及び MLVA 法による EHEC 0157 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、技術の習熟、改善及び工夫が必要と思われた。IS-PS では、多くの施設で適正に解析されていたが、一部の施設ではバンド位置の確認ミス等により結果判定を誤っていた。その防止のため、正規のバンドかエクストラバンドかのバンド判定が困難な場合は、必要に応じて再検査の実施、泳動距離が長いゲルを使用する等の工夫をしてバンドの位置確認を正確に行う必要がある。また、研究班が作成した「腸管出血性大腸菌 0157 IS-printing system エキストラバンド集」を参考とすることも重要である。PFGE 法では、ほとんどの施設でおおむね良好な泳動像が得られたが、一部の施設では、部分的にバンドが薄くなり判定が困難と思われる泳動像も見られた。PFGE 法はバンドの位置が解析結果に影響するため、明瞭なバンドが出現するよう、菌液濃度の調整やゲルブロックの操作手技等の継続的な技術習熟が必要と思われた。MLVA 法は、平成 30 年度は 5 施設、令和元年度及び令和 2 年度は 9 施設が実施し、年度を経

るごとに参加施設が増えた。これは、厚生労働省健康局結核感染症課及び厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課の平成30年6月29日の事務連絡「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」による影響等が考えられ、今後ますますMLVA法の利用度が高くなることが予想される。解析結果を共有するための注意点として、遺伝子座におけるダブルピークが出現した場合の記載方法については、事前にルールを明瞭に決めておくことが必要であると考え。特に、各ピークのリピート数やピークの高低等、状況を伝える詳細な結果報告に関するルールが望ましいと考える。また、Binの不適切な設定によって判定ミスの生じた施設も見られた。Binの見直しや設定は適宜継続的に行い、適切に解析できる体制を維持・整備しておくことが必要と考えられた。また、使用したプライマーがTailed Primerであるという認識の不足が、誤った結果に関連したと考えられる事例もあった。MLVA法を導入する施設が増加しており、更に全国的な普及が予想される。MLVA法を導入する施設に対して、技術研修及び本研究成果に基づくMLVA法導入に係る技術的支援並びに導入後の継続的な精度管理の実施が、中四国ブロックにおける検査精度管理体制の強化のためには必要と考えられた。

中四国ブロックで平成30年度から令和2年度に発生したEHEC事例における患者等由来株のIS-PSやMLVA法による解析結果又はPFGE結果を疫学情報とともに収集し、NESFDの全国のMLVA情報も参考として、事例間の比較調査を行った。その結果、同一のMLVA型及びMLVAcomplexの株が、中四国ブロック内の複数の自治体で検出される事例も多く見られた。しかし、3年間を通じ

て中四国ブロック内では共通の汚染源による広域的な腸管出血性大腸菌食中毒の発生はなかった。同一のISコードであってもMLVA型が異なる事例やISコードが異なってもMLVA型が同じ事例、ISコードは異なるが同じMLVAcomplexの事例もあった。これはIS-PS法の鑑別能がMLVAよりも劣ることによるものと考えられる。026では同一MLVA型であってもPFGEで6バンドを超える差も見られた事例もあった。これらのことから、集団事例の探知や感染源の特定のためには、これらの解析手法による病原体の解析のみでは結論を出すには十分とは言えず、患者等の喫食調査・行動調査等の疫学調査結果も十分検討した総合的判断が重要と思われた。

E 結論

1. 平成30年度～令和2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、改善及び工夫により検査精度の維持・向上の必要があると思われた。
2. 精度管理の実施により、検査精度向上に関する複数の問題点・改善点が明らかとなった。中四国ブロックにおける検査精度管理体制の強化のためには継続的な精度管理を実施することが必要と考えられた。
3. 集団事例の探知や感染源の特定のためには、病原体の解析のみではなく、患者等の喫食調査・行動調査等の疫学調査結果も加味した総合的判断が重要と思われた。
4. 3年間にわたる本研究により、菌株解析を行う中四国ブロックの地衛研の解析技術の向上を図ることができた。また、IS-

printing System、PFGE 法、MLVA 法による EHEC 分子疫学解析手法の精度管理実施により、サーベイランス技術水準の向上に貢献したものとする。

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 30 年度)

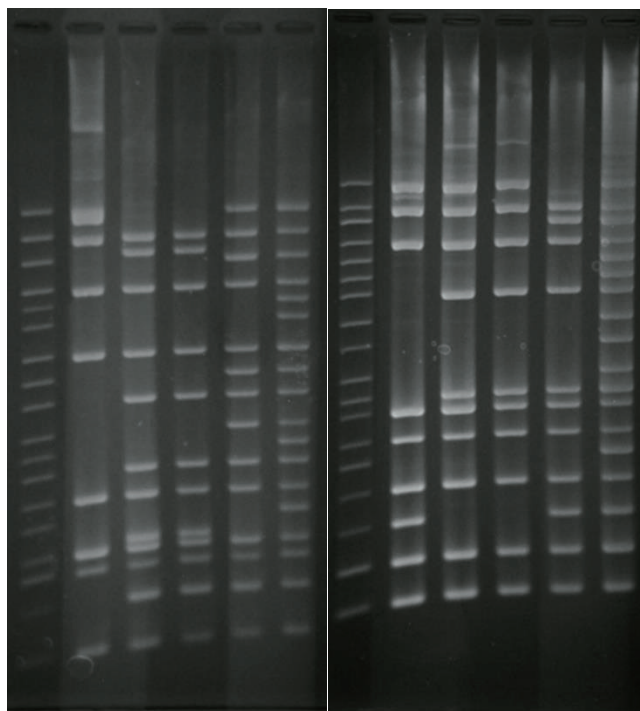
施設名	菌株1		菌株2		菌株3		菌株4	
	1st Primer set	2nd Primer set	1st Primer set	2nd Primer set	1st Primer set	2nd Primer set	1st Primer set	2nd Primer set
A	-	-	-	-	-	-	-	-
B	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
C	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
D	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
E	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
F	211055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
G	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
H	311055	310457	615457	311656	615457	311656	717557	611657
I	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
J	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657
K	311055	310457	215457	311656	215457	311656	717557	611657

図 1 IS-PS の泳動像の一例 (平成 30 年度)

施設 (F)

1st set

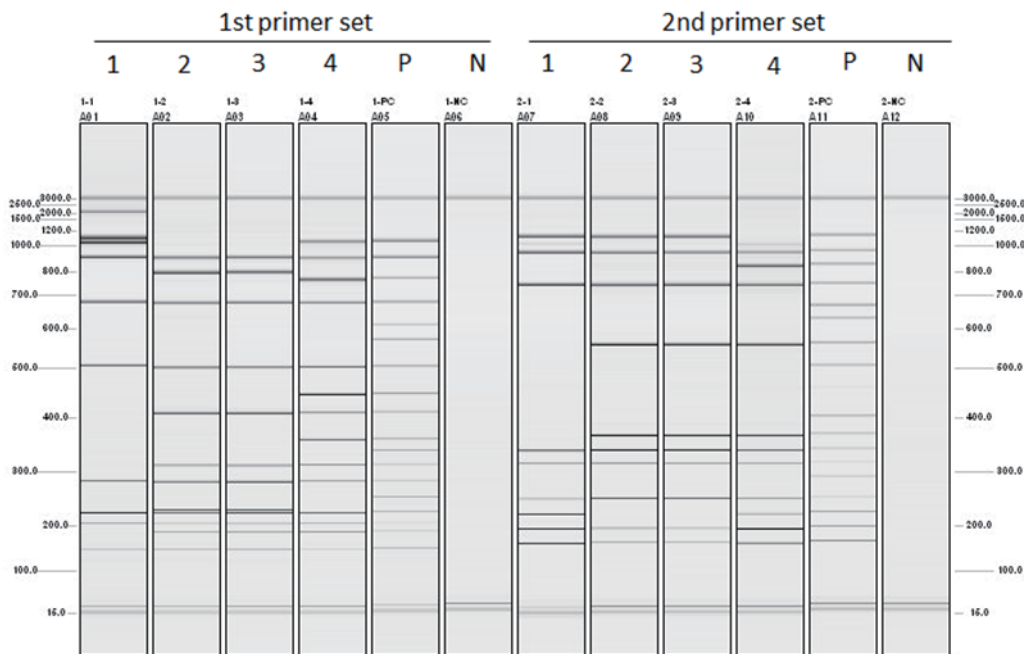
2nd set



1:STEC1
2:STEC2
3:STEC3
4:STEC4
PC:Positive control

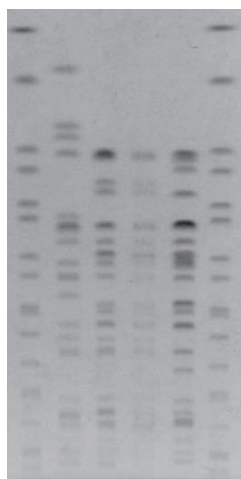
M 1 2 3 4 PC M 1 2 3 4 PC

図2 IS-PS の泳動像の一例 (平成 30 年度)
施設 (H)



1 : STEC 1
 2 : STEC 2
 3 : STEC 3
 4 : STEC 4
 P : Positive control
 N : Negative control

図3 EHEC O157 株の PFGE 法による精度管理結果の一例 (平成 30 年度) : 施設 (H)
M 1 2 3 4 M



M : Marker (S.Brandrup H9812)
 1 : STEC1
 2 : STEC2
 3 : STEC3
 4 : STEC4

表2 EHEC O157株のMLVA法による精度管理結果(平成30年度)

菌株	施設名	遺伝子座															
		EH11-11T	EH11-14	EH11-8	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
1	C	2	-2	1	4	-2	9	7	-2	10	9	13	7	4	10	5	3
	E	2	-2	1	4	-2	9	7	-2	10	9	9	7	4	10	5	3
	F	2	-2	1	4	-2	9	7	-2	10	9	9:13	7	4	10	5	3
	G	2	-2	1	4	-2	9	7	-2	10	9	9:13	7	4	10	5	3
	J	2	-2	1	4	-2	9	7	-2	10	9	13	7	4	10	5	3
2	C	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
	E	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	10	9	2	13	7	4	6
	F	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
	G	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
	J	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
3	C	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
	E	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	10	9	2	13	7	4	6
	F	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
	G	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
	J	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	23	10	9	2	13	7	4	6
4	C	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	8	12	12	8	7	6	3	6
	E	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	8	12	12	8	7	6	3	6
	F	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	8	12	12	8	7	6	3	6
	G	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	8	12	12	8	7	6	3	6
	J	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	8	12	12	8	7	6	3	6

表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（令和元年度）

施設名	デンドログラム解析結果
(A)	PFGE実施せず
(B)	PFGE実施せず
(C)	菌株1=菌株4－菌株2⇒>菌株3(100－65%)
(D)	PFGE実施せず
(E)	菌株1=菌株4⇒>菌株2－菌株3(100－65%)
(F)	菌株1=菌株4－菌株3⇒>菌株2(100－66%)
(G)	菌株1=菌株4－菌株3⇒>菌株2(100－80%)
(H)	菌株1=菌株4－菌株3⇒>菌株2(100－75%)
(I)	菌株1=菌株4⇒>菌株3－菌株2(100－69%)
(J)	菌株1=菌株4－菌株2⇒>菌株3
(K)	菌株1－菌株4⇒>菌株2－菌株3(92－65%)

= : 左右の菌株で100%一致
 - : 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4 EHEC O157株のMLVA法による精度管理結果（令和元年度）

菌株	施設名	遺伝子座																
		EH11-11T	EH11-14	EH11-8	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
1	A	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	B	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	C	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	E	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	F	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	G	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	H	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	9	10	11	6	6	6	1	6
	J	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
2	A	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
	B	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
	C	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
	E	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
	F	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
	G	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
	H	2	-2	1	4	-2	7	4	14	-2	9	10	10	4	5	6	6	5
	J	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2	10	12	12	5	6	6	8	6
3	A	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
	B	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
	C	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
	E	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
	F	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
	G	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
	H	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	21	8	8	1	10	6	2	5
	J	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	22	10	10	2	11	6	4	6
4	A	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	B	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	C	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	E	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	F	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	G	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7
	H	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	9	10	11	6	6	6	1	6
	J	3	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	10	12	13	7	7	6	3	7

表5 EHEC O157株のIS-PSによる精度管理結果（令和2年度）

施設名	菌株1		菌株2		菌株3		菌株4	
	1st Primer set	2nd Primer set	1st Primer set	2nd Primer set	1st Primer set	2nd Primer set	1st Primer set	2nd Primer set
A	-	-	-	-	-	-	-	-
B	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757
C	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757
D	-	-	-	-	-	-	-	-
E	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757
F	-	-	-	-	-	-	-	-
G	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757
H	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757
I	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317577	211757
J	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757
K	717557	611657	717557	611657	316577	011756	317557	211757

表6 EHEC O157株のPFGE法による精度管理結果 デンドログラム解析(令和2年度)

施設名	デンドログラム解析結果
(A)	PFGE実施せず
(B)	PFGE実施せず
(C)	菌株1=菌株2－菌株3⇒>菌株4(100－80%)
(D)	PFGE実施せず
(E)	菌株1=菌株2－菌株4⇒>菌株3(100－76%)
(F)	菌株1=菌株2－菌株4⇒>菌株3(100－82%)
(G)	菌株1=菌株2－菌株4⇒>菌株3(100－85%)
(H)	菌株1=菌株2－菌株4⇒>菌株3(100－82%)
(I)	菌株1=菌株2－菌株4⇒>菌株3(100－83%)
(J)	菌株1=菌株2－菌株3⇒>菌株4(100－87%)
(K)	菌株1=菌株2－菌株3⇒>菌株4(100－72%)

= : 左右の菌株で100%一致
 - : 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7 EHEC O157株のMLVA法による精度管理結果(令和2年度)

菌株	施設名	運 送 子 座																
		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
STEC01	B	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	C	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	E	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	F	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	G	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	H	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	I	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	J	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	11	12	12	8	8	7	4	8
	K	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	B	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
STEC02	C	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	E	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	F	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	G	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	H	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	I	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	J	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	11	12	12	8	8	7	4	8
	K	2	-2	1	4	-2	5	4	9	-2	10	12	12	8	8	7	3	8
	B	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	C	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
STEC03	E	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	F	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	G	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	H	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	I	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	J	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	11	12	7	5	11	5	6	7
	K	2	-2	1	4	-2	7	4	8*	-2	10	12	7	5	11	5	5	7
	B	2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
	C	2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
	STEC04	E	2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7
F		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
G		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
H		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
I		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
J		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7
K		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	11	12	10	5	7	6	8	7
B		2	-2	1	4	-2	6	4	2	9	10	12	10	5	7	6	7	7

* リピート数「9」にもピークがあったが、「8」のピークが高い