

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
令和7年度総括研究報告書

「広域食中毒発生時の早期探知のための調査の迅速化及び
ゲノム解析技術を利用した調査法の確立に資する研究」

研究代表者	明田幸宏	国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所細菌第一部 部長
研究分担者	中村佳司（九州大学大学院医学研究院） 砂川富正（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所応用疫学研究センター） 廣瀬昌平（国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部） 平井晋一郎（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所検査診断技術部） 大西 真（沖縄県衛生環境研究所 感染症研究センター）	
研究協力者	李 謙一（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 細菌第一部） 泉谷秀昌（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 細菌第一部） 土橋西紀（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 実地疫学研究センター） 加藤博史（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 実地疫学研究センター） 八幡裕一郎（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 実地疫学研究センター） 村井 達哉（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 実地疫学研究センターFETP） 高橋 琢理（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 感染症サーベイランス研究部） 高原 理（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 感染症サーベイランス研究部） 佐藤 梢（国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所検査診断技術部） 松山 満貴（長野県環境保全研究所 感染症部） 重村 洋明（福岡県保健環境研究所 保健科学部） 久手堅 剛（沖縄県衛生環境研究所）	

平良 遙乃（沖縄県衛生環境研究所）

柿田 徹也（沖縄県衛生環境研究所）

研究要旨：

本研究班では、腸管出血性大腸菌 (*enterohemorrhagic Escherichia coli*: EHEC) 感染症・食中毒に対する分子疫学サーベイランス体制の高度化を目的として、MLVA 法および全ゲノム解析 (WGS) を基盤とした解析体制の整備、広域食中毒アラートシステムの運用、ならびにヒト・動物由来株の分子疫学解析を実施した。全国の EHEC 分離株に対する MLVA 解析では、2025 年分離株 3,168 株を解析するとともに、地方衛生研究所から送付された 0157、026、0111 の MLVA データ約 1,700 株について型名付与を行った。また、MLVA 法の精度向上を目的として、GeneMapper 解析実習を強化した研修会を実施し、公開ゲノムデータを用いた *in silico* MLVA 解析により、0145 および 0165 における型別性能評価を行った。また WGS 解析基盤の整備としては、広域食中毒調査に活用可能な SNP 解析パイプライン「SNPcaster」を改良し、正式版 (v1.0) を公開した。新たに薬剤耐性遺伝子検出機能や専用サポートチャットボット (SNPcaster-GPT) を実装し、地方衛生研究所職員向け講習会や動画配信を通じて普及を進めた。また、Nanopore シーケンサー由来リードのみを用いた高精度 WGS 解析の有用性についても検証を行った。さらにヒト・動物・食品由来株を対象とした解析では、牛由来 EHEC 0157 株において *stx* subtype 保有パターンと系統学的背景との関連性が示唆された。また、市販牛関連食品および牛盲腸から多様な EHEC 株が分離され、一部にはヒト感染症との関連が懸念される血清群・遺伝子型が含まれていた。離島コホート研究では、ウシ由来 STEC 株を多数分離し、一部の 0157:H7 株が過去のヒト集団感染事例株と近縁であることが示された。さらに、ウシ由来 EHEC 株および *Campylobacter jejuni* 株の完全長ゲノム配列を構築し、WGS データベースへ組み込んだ。広域食中毒アラートシステムでは、NESID データと MLVA・WGS 情報を統合した週次解析を継続し、0157VT2 等による複数の広域散発疑い事例を検知した。また、*Campylobacter jejuni* 感染後に発症するギラン・バレー症候群 (GBS) の疫学調査を実施し、GBS 高リスク遺伝型の存在を確認した。

以上より、本研究班は、MLVA 法と WGS 解析を組み合わせた高精度な EHEC 分子疫学サーベイランス体制を整備するとともに、ヒト・動物・食品由来株を横断したワンヘルス型解析基盤を構築し、広域食中毒の早期探知および原因究明に資する重要な知見を得た。

A. 研究目的

本研究班では、腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) 感染症・食中毒の早期探知、感染源解明、および迅速な行政対応に資する分子疫学サーベイランス体制の高度化を目的として、MLVA 法および全ゲノム解析 (WGS) を基盤とした解析・情報共有基盤の整備を行う。具体的には、全国の地方衛生研究所で実施される MLVA 解析データの集約・解析、検査精度向上のための研修・精度管理、ならびに WGS 解析パイプラインおよびデータベースの構築・標準化を推進し、国際整合性を有するクローン判定基準の確立を目指す。

また、患者由来株に加え、食品・動物由来株の分離およびゲノム情報の収集を進め、ヒト・食品・動物を横断した One Health 型の分子疫学解析基盤を構築する。特に、牛由来 EHEC 株や沖縄県離島における STEC コホート研究を通じて、感染源や感染経路に関する知見を蓄積し、ヒト感染事例との関連性を明らかにすることを目指す。

さらに、NESID 等の患者発生情報と MLVA・WGS 等の分子疫学情報を統合した広域食中毒アラートシステムを運用し、広域散发事例や集団感染の早期探知とリスク評価体制の構築を進める。加えて、カンピロバクター感染症後に発症するギラン・バレー症候群 (GBS) も含め、病原体情報・疫学情報・臨床情報を統合的に解析し、食品衛生対策および感染症対策に資する One Health 型の情報共有・リスク評価体制の確立を目指す。

B. 研究方法

(MLVA 法による型別、ゲノム解析パイプライン構築、評価)

1. MLVA 法による型別評価

感染症研究所に送付された 2025 年分離の腸管出血性大腸菌 (EHEC) 株に対し、Izumiya らの方法に準拠して MLVA 解析を実施した。血清群 O157、O26、O111 では 17 遺伝子座、O103、O121、O145、O165、O91 では 43 遺伝子座を対象とした。また、地方衛生研究所から送付された MLVA データについても解析を行い、型別評価を実施した。

2. 解析パイプラインの改良および機能追加
前年度までのフィードバックをもとに解析パイプライン「SNPcaster」を改良し、GitHub 上でベータ版 (v0.9) を公開した。さらに、NCBI AMRFinderPlus を用いた薬剤耐性遺伝子・病原性遺伝子検索機能、および SRA Toolkit による NCBI Sequence Read Archive (SRA) からのショートリードデータ自動取得機能を追加した。加えて、マニュアル補完を目的として、ChatGPT のカスタム GPT 機能を利用したサポートチャットボット「SNPcaster-GPT」を作製した。

3. 講習会の実施

解析パイプラインのインストール方法および操作方法に関する講習会を、2025 年 12 月 24 日に国立感染症研究所戸山庁舎にて対面および Zoom 配信形式で実施した。また、講習内容を説明動画として作成し、YouTube 限定公開により配信した。

4. SNP 解析性能評価

SNPcaster の性能評価として、Snippy、Lyve-SET、Parsnp との比較解析を行った。シミュレーションデータを用いて、*Escherichia coli*、*Campylobacter jejuni*、*Legionella pneumophila*、*Neisseria gonorrhoeae*、

Staphylococcus aureus の5菌種を対象に、参照配列との類似性が異なる条件下で感度および陽性的中率 (PPV) を比較した。また、公開 EHEC ベンチマークデータセットを用い、集団感染事例株間の pairwise SNP 数を算出し、実データにおける解析性能を評価した。

(ゲノム情報収集、データベース拡充化)

1. EHEC およびカンピロバクター菌株の全ゲノム解析

沖縄県集団感染事例由来 EHEC 0157 株 18 株、離島コホート研究由来 EHEC 株 18 株、およびカンピロバクター菌株 18 株について、培養後に Genomic-Tip (Qiagen) を用いて DNA を抽出した。Rapid Sequencing Kit V14 および MinION Flow Cell R10.4.1 (Oxford Nanopore Technologies) を用いて Nanopore シーケンスを実施し、Dorado によるベースコール後、Hybracter パイプラインを用いてゲノム配列を構築した。必要に応じて NanoFilt によるリードフィルタリングおよび circlator による環状化処理を行った。さらに、沖縄県集団事例株については、iSeq100 による Illumina ショートリード配列を用いて配列修正を実施した。各菌株について、ECTyper および mlst プログラムを用いて血清型および Sequence type (ST) を決定し、BLASTN により stx 遺伝子および eae 遺伝子保有状況を解析した。

2. 沖縄県集団事例由来 EHEC 株の比較ゲノム解析

沖縄県集団事例由来 EHEC 菌株について、Nanopore リードのみを用いた完全長ゲノム、Illumina ショートリードによる修正版ゲノム、および Illumina ショートリードを用い

たドラフトゲノムをそれぞれ構築した。これらを用いて、dnadiff による配列比較解析を行うとともに、SNPcaster および in-house プログラムを用いて SNP 解析を実施した。さらに、検出された SNP 情報をもとに GrapeTree による Minimum Spanning Tree 解析を行い、菌株間の系統関係を評価した。また、プラスミド配列間の SNP および InDel 解析も実施し、菌株の詳細な分類に利用した。

(MLVA 法の精度管理)

1. MLVA 法研修会の実施

地方衛生研究所等における MLVA 法の検査精度向上を目的として、令和 8 年 2 月に講義および実習からなる研修会を実施した。初日は Zoom を用いた遠隔講義形式とし、MLVA 法の基礎、異同判定、トラブルシューティングについて講義を行った。2 日目および 3 日目は国立感染症研究所村山支所において集合形式で実習を行い、EHEC 0157、026、0111 菌株を用いて DNA 抽出、PCR、電気泳動、および GeneMapper による MLVA データ解析を実施した。前年度アンケート結果を踏まえ、今年度は GeneMapper 解析実習および事前質問への対応時間を拡充した。対象者は、MLVA 法導入初期段階にある地方衛生研究所等の職員とし、参加者選定は施設状況および経験年数を考慮して行った。研修終了後にはアンケート調査を実施し、理解度および実務への活用性を評価した。

2. in silico MLVA 法による性能評価

MLVA 法の性能評価を目的として、公開ゲノムデータベース (NCBI SRA) から取得した EHEC 091、0145 および 0165 株のショートリードデータを用いて in silico MLVA 解析

を実施した。取得した Illumina paired-end リードは de novo アセンブル後、in silico PCR 法により O 遺伝子型および stx 遺伝子を確認した。続いて、泉谷らの MLVA17 および MLVA43 法に基づくプライマー配列を用いて isPCR 解析を行い、各 MLVA 領域のタンデムリピート (TR) 数を算出した。さらに、多様性指数 (Simpson's diversity index) および欠損率 (null 率) を既報と比較し、MLVA 法の分解能を評価した。また、得られた MLVA プロファイルを用いて minimum spanning tree (MST) を作成し、菌株間の系統関係および分離能を評価した。

(食品関連サンプル由来 EHEC 株の収集、解析)

令和 5 年度および令和 6 年度に国内食肉処理施設へ搬入された牛の糞便由来 EHEC O157 株 41 株を対象として、MLVA 型、分離年、および stx subtype 保有パターンとの関連を解析した。令和 6 年度までに取得した MLVA 解析結果に基づき、各遺伝子座のリピート数を用いて GrapeTree による比較解析を行い、Minimum Spanning Tree (MST) を作成した。作成した MST 上に、各菌株の分離年および stx subtype 保有パターンを重ね合わせ、系統学的関連性を評価した。

2. 牛関連食品検体からの EHEC 分離

小売店で購入した牛小腸、牛大腸、牛肉製品計 49 検体、および牛盲腸 66 検体を対象として EHEC 分離を実施した。各検体は modified Tryptic Soy Broth (mTSB) 等で増菌培養後、DNA を抽出し、multiplex real-time PCR により stx、eae、および主要血清群関連遺伝子を検出した。主要血清群陽性検体については免疫磁気ビーズ法による濃

縮を行い、SMAC、CT-SMAC、CHSTEC、CT-CHSTEC 培地を用いて分離培養を実施した。培地上に形成された大腸菌様コロニーについて PCR スクリーニングを行い、stx 陽性株を分離・保存した。また、主要血清群陰性株については O-genotyping PCR を用いて O 遺伝子型を決定した。本研究では、stx 陽性大腸菌を EHEC として解析対象とした。

(離島コホート研究)

沖縄県における離島コホート研究として、人口当たりの STEC 報告数およびウシ飼養数の多い 2 地域を対象に、2025 年 5 月から 10 月にかけて調査を実施した。B 地域の食肉センターにおいてウシ糞便 50 検体を収集し、2023~2025 年の累計検体数は 250 検体となった。また、過去に STEC 感染事例が確認された B 地域農場において、2025 年は約 3 か月ごとに計 79 検体を収集するとともに、A 地域の 3 農場から 35 検体を収集した。各検体は緩衝ペプトン水 (BPW) および mEC 培地で増菌培養後、リアルタイム PCR によりベロ毒素遺伝子 (stx) のスクリーニングを行った。stx 陽性培養液については、X-MG 培地およびクロモアガー STEC 培地を用いて分離培養を行い、得られたコロニーに対して stx、eae、および主要 O 抗原遺伝子を対象とした PCR 解析を実施した。陽性株は純培養後、グリセロール加 TSB 中で -80℃ 保存した。

分離株のうち、O157:H7 株および O111:H8 株については患者株との遺伝的関連性を評価するため MLVA 解析を実施し、O116:H16 株については core genome SNP 解析を行った。また、2024 年および 2025 年に分離された

菌株については、Nanopore シーケンサーおよびショートリードシーケンスによる全ゲノム解析を実施し、血清型、stx subtype、および eae type を決定した。

（食中毒アラートシステムの改良と感染源の関連性解析）

EHEC 広域食中毒アラートシステムでは、NESID から得られる EHEC 患者報告情報を用い、過去データに基づくベースラインと患者イベント数を比較することで、広域散发事例や集団感染疑い事例の早期探知を行った。アラートレベルは、患者イベント数およびベースラインからの逸脱度をもとにレベル 1～4 に分類し、レベルに応じて内部注意喚起、継続監視、厚生労働省への情報提供等を行う運用とした。令和 7 年度は、改訂したベースラインおよび判定基準に基づき週次解析を実施し、血清型、VT 型、診断週、HUS の有無、症例数、地理的集積等を評価した。検知事例については、自治体対応の食中毒事例との整合性確認や、MLVA 等の分子疫学情報を用いた事後検証の必要性を整理するとともに、COVID-19 流行後の患者報告動向を踏まえたアラート基準の再検討を行った。

（ギラン・バレー症候群（GBS）とカンピロバクター食中毒事例の関連性評価）

2023 年以降に特定地域で増加が指摘された GBS 症例について、医療機関の協力のもと後方視的疫学調査を実施した。症例定義に基づき、発症時期、年齢、性別、先行症状、胃腸炎症状、鶏肉喫食歴、検査情報等を収集・整理した。さらに、一部症例および関連食中毒事例から分離され

た *Campylobacter jejuni* 株について、MLST 型や LOS クラス等の分子疫学的解析を行い、GBS 発症リスクに関連する遺伝的特徴を評価した。菌株分離は高知県衛生環境研究所および高知市保健所で実施し、遺伝子解析は 国立感染症研究所 細菌第一部で行った。

C. 研究結果

1. MLVA 法による型別評価

感染研細菌第一部において、3,793 株について分子型別解析を実施した。このうち 3,168 株について MLVA 法による解析を実施した。解析依頼施設数は延べ 94 施設であった。各血清群において同定された型数は、0157 が 861、026 が 164、0111 が 69、0103 が 97、0121 が 21、0145 が 21、0165 が 3、091 が 40 であった。得られたデータは 2026 年 5 月号の IASR の EHEC 特集号において公表される。MLVA 型別を実施しデータを送付した地方自治体は、延べ 46 施設であった。MLVA データを送付し、感染研において統一型名を付与した菌株数は約 1700 株であった。

2025 年は 55 施設から約 1500 株分のデータについて照会があり、感染研で精度確認を行った（上記型名付与を行った株のデータを含む）。全遺伝子座における正解率（平均値）は約 99%であった。株毎の正解率（平均値）は約 88%であった。

2. ゲノム解析パイプライン構築、評価

GitHub 上で公開した SNP 解析パイプライン「SNPcaster」v0.9 について、地方衛生研究所から得られたフィードバックをもとに改良を行った。新たに、NCBI AMRFinderPlus を利用した薬剤耐性遺伝子検索機能を実装し、

主要病原菌における薬剤耐性遺伝子を自動的かつ網羅的に検出可能とした。また、SRA Toolkit を利用した機能を追加し、SRA から FASTQ データを自動取得できるようにした。講習会は対面および Zoom 配信によるハイブリッド形式で実施し、75 機関 136 名が参加した。講習では、解析パイプラインの原理、インストール方法、使用方法、および解析結果の解釈について説明した。また、講習内容を動画化し、感染症研究所 YouTube チャンネルにて限定公開した。

シミュレーションデータを用いた比較解析の結果、SNPcaster は高い SNP 検出精度を示した。陽性的中率 (PPV) は Snippy および Lyve-SET と同等に高く、特に SNPcaster および Snippy では偽陽性 SNP は認められなかった。一方、Parsnp は他プログラムより低い値を示した。感度評価では、参照配列との類似性が高い条件では全プログラムが高い値を示したが、類似性 97% 条件では Snippy および Lyve-SET の感度低下が認められ、Parsnp ではさらに大きく低下した。

実データを用いた解析では、SNPcaster は参照配列の系統的距離に左右されにくく、安定した pairwise SNP 数を示した。近縁株を参照配列とした場合、ほとんどのプログラムで pairwise SNP 数は 10 か所以内であったが、遠縁株を参照配列とした場合、Lyve-SET および Snippy では SNP 数の増加が認められた。一方、SNPcaster では大きな変動は認められず、クラスタード SNP、リピート領域、およびファージ領域由来 SNP を除外後も安定した結果を示した。

2. ゲノム情報収集、データベース拡充化

沖縄県 EHEC 感染症集団事例由来 0157 菌株の完全長ゲノム配列を用いた SNP 解析の結果、複数菌株に共通する染色体上の塩基変異は 1 か所のみであり、18 菌株は 7 株からなる Group I と 11 株からなる Group II に分類された。さらに、保存プラスミド上の塩基欠失に基づき、Group II は 8 株の Group IIa と 3 株の Group IIb に細分化された。これらのゲノム情報と検体情報を統合的に解析した結果、本事例における EHEC の伝播経路は「Group I → Group IIa → Group IIb」である可能性が高いと推定された。

また、離島コホート研究により取得したウシ由来 EPEC および EHEC のゲノム配列を公共データベースへ登録した。登録に際しては、沖縄県衛生環境研究所職員への技術指導を行い、地方衛生研究所におけるゲノムデータ公開体制の整備を支援した。登録した EHEC 39 株については、そのゲノムリソースとしての有用性から、*Microbiology Resource Announcements* 誌に報告した。

さらに、本年度の離島コホート研究で分離されたウシ由来 EHEC 18 株について全ゲノム解析を実施し、15 種類の血清型を有する多様な系統が存在することを明らかにした。全株が stx 遺伝子を保有していた一方で、eae 遺伝子陽性株は 3 株のみであった。また、沖縄県内の集団感染事例から分離された *Campylobacter jejuni* 15 株についても Nanopore リード取得および全ゲノム配列構築を完了し、今後の詳細解析に向けたゲノムデータベースの拡充を行った。

Nanopore リードのみを用いて構築した EHEC 0157 菌株のゲノム配列精度について検証した結果、Illumina ショートリードによる修正前後の比較では、全 18 菌株における差異

は SNVs が 0~11 か所、InDels が 3~25 か所であり、中央値はそれぞれ 2 および 7 であった。多くの菌株では SNVs が 0~2 か所、InDels が 8 か所以内であり、現在の Nanopore シーケンスにより得られる 0157 染色体配列は比較的高精度であることが示唆された。また、リードデータ量と SNVs/InDels 数との間に明確な相関は認められず、一定以上のシーケンス量増加は配列精度向上に大きく寄与しないと考えられた。

さらに、Nanopore ゲノム配列を用いた WGS 解析精度について検証した。Illumina リードを用いた SNPcaster 解析では、菌株間の差異は最大 3 SNPs であり、Illumina データを用いた in-house プログラム解析でも最大 4 SNPs と類似した結果が得られた。一方、Nanopore ゲノム配列をそのまま用いた場合には最大 11 SNPs が検出され、SNP 数の増加が認められた。しかし、Illumina ショートリードにより修正した Nanopore ゲノム配列を用いた場合には最大 4 SNPs となり、Illumina リード解析と同等の結果が得られた。これらの結果から、Nanopore 配列単独解析で増加する SNP は主としてシーケンスエラーに由来することが示唆された。

また、地方衛生研究所におけるゲノム解析環境整備を支援するため、九州地方の衛生研究所職員を対象とした研修会において「病原細菌の全ゲノム解析方法の現状」に関する講演を行った。加えて、講演内容を動画教材として作成・配布し、教材内容および今後必要とされる解析技術に関するアンケート調査を実施した。その結果、教材は概ね高い評価を受けるとともに、地方衛生研究所職員が求めるゲノム解析技術や知識に関する具体的ニーズを把握することができた。

3. MLVA 法の精度管理

全国の地衛研を対象に MLVA 法研修会を実施した。22 施設の地衛研及び 2 施設の中核市の検査機関から応募があり、選考の結果、最終的に 11 施設から研修会への参加があった。

研修会は予定通り実施され、実習では、Panel 及び Bin ファイルのインポート、ピークのサイジング、Bin の修正、電気泳動データの解析、さらにトラブル事例由来のデータの解釈を行った。研修会の最後には、事前に募集した日常検査における質問や問題点について、全て解説を行ったが、寄せられた質問等は、「ダブルピーク等の複数ピークの判定」、「Bin から外れたピークの判定」、「蛍光強度が低いピークの判定」及び「その他」の 4 つに大別された。研修会終了後、研修生全員からのアンケート結果をまとめたところ、「開催時期」及び「Zoom による講義視聴環境」について、90%以上の評価が得られた。一方で、「MLVA 法の新任者として業務を始め、疑問や課題が生じ始めた夏頃の開催でも良かった」との意見もあった。「日数」については、4 名が「短い」と回答し、3 名が「カリキュラムの変更」を要望した。これら 7 名の内、6 名は、自由記載欄で「GeneMapper によるデータ解析（区分：実習④）等の実習の時間が不足している」と回答した。残る 1 名からは、「MLVA 法の結果を保健所へ適切に説明する方法など、結果の活用方法に関する講義を加えてほしい」との要望があった。

各講義・実習に対する評価では、全ての講義及び実習において、「理解度」及び「業務への活用」について「理解できた」以上の回答が 100%、またはほぼ 100%だった。その

他、各講義・実習について、幾つかの要望があり、講師にフィードバックした。

録画した講義については、編集後に動画配信サイトへのアップロードを予定し、全ての応募施設が視聴できる環境を整える予定である。また昨年度に作成したトラブルシューティング集について、3つの事例及び解決法の追加を行い改訂を実施した。

4. 食品関連サンプル由来 EHEC 株の収集、解析

牛由来EHEC 0157株のMLVA解析結果に基づくMinimum Spanning Tree (MST) を用いて、分離年およびstx subtype保有パターンとの関連を解析した。その結果、分離年による明確なクラスター形成は認められなかった一方で、stx2cを単独保有する菌株群によるクラスター形成が確認された。

また、牛関連食品検体49検体についてEHEC分離を行った結果、8検体から計9株のEHECが分離された。分離された菌株は0g103、0g157および0gUTに分類され、全株がeae陽性であった。一方、牛盲腸検体66検体からは16検体でEHECが検出され、計20株が分離された。分離株は0g103、0g109、0g116、0g119、0g157、0g171、0g5413および0gN10など多様な0遺伝子型を示し、このうち0g103、0g109および0g157株は全てeae陽性であった。これらの結果から、牛関連食品および牛盲腸には多様なEHECが存在しており、一部にはヒト感染症との関連が懸念される遺伝子型が含まれることが示された。

5. 離島コホート研究

A地域およびB地域の食肉センターで収集したウシ糞便検体についてstx検出リアルタ

イムPCRを実施した結果、2025年は50検体中12検体でstx陽性となり、6株のSTECが分離された。2023～2025年の累計では、A地域100検体中6検体、B地域150検体中57検体でstx陽性が確認され、それぞれ2株および28株のSTECが分離された。0-genotypingの結果、多くの菌株は主要7血清群に該当しない0gNTであり、2023～2025年に分離された30株中25株が0gNTであった。分離株ではstx2陽性株が多く、eae陽性株も認められた。さらに、ゲノム解析の結果、0gNT株は18種類の血清型に分類され、地域内に多様なSTEC系統が存在することが明らかとなった。

また、A地域3農場およびB地域1農場を対象とした調査では、A地域35検体中32検体 (91.4%)、B地域79検体中72検体でstx陽性が確認された。STEC分離の結果、A地域では29株、B地域では70株が分離され、B地域では0g157、stx2、eae陽性株および0g111、stx1、eae陽性株も検出された。ゲノム解析では、0gNT株が18種類の血清型に分類され、0116:H16 stx2a陽性株および0171:H2 stx2d陽性株などが確認された。

さらに、0157:H7株および0111:H8株に対してMLVA解析を実施したところ、A地域農場由来0157:H7株は、2024年に同地域で発生した集団感染事例由来株とSingle Locus Variant (SLV) の関係にあることが明らかとなった。一方、他の菌株については国内既報株との類似MLVAプロファイルは認められなかった。また、B地域農場由来0116:H16株11株に対するcore genome SNP解析では、菌株間差異は0～17 SNPsであり、特定農場内で近縁なクローンが維持されている可能性が示唆された。

6. 食中毒アラートシステムの改良と感染源の関連性解析

令和 7 年度は、EHEC 広域食中毒アラートシステムを継続運用し、2025 年 12 月時点で複数の広域散発疑い事例を検知した。7～8 月には 0157VT2 によるレベル 2.5 相当事例 2 件について厚生労働省へ情報提供を行い、さらに 8～9 月には 0157VT2 によるレベル 4 相当事例 3 件を検知した。これら 3 件は診断週および症例群の重なりから継続事例である可能性が示唆された。加えて、11 月には 0157VT2 事例、12 月には 0157VT1VT2 事例を検知し、2025 年 12 月までに計 7 件のアラート発出に相当する運用実績が得られた。検知された事例の多くでは、地域的集積あるいは時間的集中が認められた。特に、第 48 週に検知された 0157VT1VT2 事例では九州地方で患者報告の集積が確認され、自治体が対応した食中毒事案との整合性も認められた。これらの結果から、本アラートシステムは、自治体対応や食中毒届出に先行または並行して広域散発疑い事例を把握できる有用な手法であることが示された。一方で、感染源や共通曝露の特定に至らない事例も多く、原因究明や再発防止に結びつけるためには、MLVA 型別や全ゲノム解析等の分子疫学情報との迅速な連結、自治体間での症例情報整理、および食品衛生・感染症対策・地方衛生研究所間の情報共有体制強化が必要であることが明らかとなった。また、COVID-19 流行後の患者報告動向を踏まえアラート基準の再検討を行ったが、2025 年時点では流行状況に大きな変化は認められず、基準改訂は実施しなかった。

さらに、ギラン・バレー症候群（GBS）関連調査では、2023 年以降に特定地域で増加が

指摘された GBS 症例について後方視的疫学解析を実施した。その結果、近年の GBS 症例増加と、先行症状として胃腸炎を呈する症例の割合が高いことが確認された。また、一部症例および関連食中毒事例から分離された *Campylobacter jejuni* 株の分子疫学解析により、GBS 発症リスクが高いとされる遺伝的特徴を有する菌株が確認され、国内におけるカンピロバクター感染と GBS 発症との関連を示唆する基礎的知見が得られた。

D. 考察

令和 7 年度は MLVA 法、WGS 解析、食品・動物由来株解析、広域食中毒アラートシステムを組み合わせた EHEC サーベイランス体制の実用性がさらに高まった。MLVA 解析株数は前年より増加し、地方衛生研究所から送付された MLVA データも高い一致率を維持していたことから、全国的な分子疫学サーベイランス基盤として有効に機能していると考えられた。一方で、地衛研におけるデータの信頼性確保は重要であり、研修会や精度確認を通じた継続的な支援が必要である。特に今年度の研修会では、GeneMapper 実習時間の拡充により前年度の課題は概ね改善されたが、参加者の経験差や実習環境による理解度の差も示され、今後は受講者の経験レベルに応じた班編成や表示環境の改善が求められる。

WGS 解析については、SNPcaster を GitHub で公開し、地方衛生研究所で利用可能な解析ツールとしての普及が進んだ。講習会への多数の参加や学会等での使用例からも、標準的解析ツールとして定着しつつあることが示唆された。精度検証では、SNPcaster はシミュレーションデータおよび実データのいずれにおいても高い SNP 検出精度を示し、特に

参照配列が遺伝的に遠い場合でも偽陽性 SNP が少なく、行政判断に用いる解析手法として有用であると考えられた。また、Nanopore リードによる完全長ゲノム解析では、一定の SNV や InDel エラーが残るものの、プラスミド配列を含む詳細な比較が可能であり、食中毒事例における伝播経路推定に有用であることが示された。ただし、Nanopore 配列をそのまま SNP 解析に用いる場合は、従来の同一クローン判定基準とは異なる基準設定が必要であり、DNA 精製工程の時間的不安定性も今後の実装上の課題である。

食品関連サンプルおよび離島コホート研究からは、牛関連食品、牛盲腸、農場および食肉センター由来検体に多様な STEC/EHEC が存在することが明らかとなった。牛由来 EHEC 0157 では分離年による明確な偏りは認められず、複数系統が牛群内に継続的に維持されている可能性が示唆された。一方、stx2c 単独保有株のクラスター形成や、農場内での近縁クローンの長期残存、さらにヒト集団感染事例株と近縁な 0157:H7 株の検出は、牛が STEC の重要なリザーバーであり、ヒト感染との関連を解明するうえで継続的なゲノム比較解析が重要であることを示している。今後は、ウシ由来株と沖縄県内外のヒト由来株との比較解析を進め、感染源や感染経路の推定精度を高める必要がある。

EHEC 広域食中毒アラートシステムは、自治体単位では散发例として認識される段階で、全国的な患者発生情報から広域散发疑い事例を早期に把握する手段として一定の実用性が確認された。一方で、アラートは感染源や共通曝露を直接特定するものではないため、患者情報、喫食歴、食品流通情報、MLVA 型別、WGS 情報を迅速に統合する体制が不可

欠である。また、GBS 関連調査では、カンピロバクター感染症を急性胃腸炎にとどまらず、GBS 等の重症合併症を含む疾病負荷として評価する必要性が示された。以上より、EHEC およびカンピロバクター食中毒対策には、感染症対策、食品衛生、病原体解析、臨床情報を横断的に統合する One Health 型の情報共有・リスク評価体制の構築が今後の重要課題である。

E. 結論

本研究により、MLVA 法を基盤とした迅速な菌株情報の集約体制が進展し、EHEC 食中毒事例への対応において、地方衛生研究所、感染研、厚生労働省および自治体間の連携の重要性が改めて示された。改良版研修会の実施や *in silico* MLVA 解析により、地方衛生研究所における MLVA 法の精度維持・向上に資する知見が得られた。

また、SNPcaster の一般公開により、地方衛生研究所等の公的機関での WGS 解析の利用が広がりつつあり、その解析精度も高いことが確認された。Nanopore シーケンシングを用いた WGS 解析は、EHEC 集団食中毒事例の解析や伝播経路推定に有用であり、ゲノム配列の公共データベース登録、国際誌での公表、動画教材を活用した技術普及を通じて、地域の解析能力向上と持続的な情報共有体制の構築に寄与した。

食品・動物由来株の解析では、牛関連食品、牛盲腸およびウシ糞便から多様な EHEC/STEC 株が分離され、一部にはヒト感染症との関連が懸念される遺伝子型が含まれることが示された。2023 年から 2025 年までにウシ糞便から 144 株の STEC を分離しており、今後、ウシ由来株、食品由来株、ヒト由来株の全ゲ

ノム比較解析を進めることで、沖縄県における STEC 感染症の原因分析や感染経路解明に資することが期待される。

さらに、EHEC 広域食中毒アラートシステムは、広域散発疑い事例の早期探知、厚生労働省等への情報提供、検知後の分子疫学情報との連結および事後検証体制の改善に有用であることが示された。加えて、カンピロバクター感染とギラン・バレー症候群等の重症合併症に関する知見は、食品衛生対策を重症化予防の観点から評価する必要性を示しており、今後は感染症対策、食品衛生、臨床、病原体解析部門が連携した One Health 型のリスク評価体制の構築が重要である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1) 誌上発表

1. 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、明田幸宏：2024 年に分離された腸管出血性大腸菌の MLVA 法による解析。IASR、第 46 巻、103-104、2025 年 5 月
2. Kubomura A, Lee K, Iyoda S, Akeda Y. 2025. Complete genome sequence of three atypical diarrheagenic *Escherichia coli* O166:H15 strains from foodborne outbreaks. Microbiol Resour Announc 14:e0074625.
3. Ooka T, Arai S, Lee K, Gotoh Y, Kubomura A, Imuta N, Hara-Kudo Y, Iyoda S, Hayashi T, Nishi J. 2025. Prevalence, sequence diversity, and amplification of an IS-associated enterotoxin gene,

astA, in *Escherichia coli*. Front Microbiol 16:1635769.

4. Imai Y, Okuno M, Hoshiko Y, Kaneko H, Sato T, Noguchi A, Lee K, Yamamoto T, Nakayama-Imahiji H, Kuwahara T, Iyoda S, Ogura Y. 2025. Genomics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from asymptomatic carriers in Japan highlights risk-adaptive control. Commun Biol 9.
5. Morita M, Lee K, Sugiyama A, Kojima N, Kawai Y, Izumiya H, Akeda Y. 2026. A case of laboratory-acquired *Salmonella* Typhi infection due to phage typing in Japan: whole-genome sequencing confirms the source of infection. Access Microbiol 8.
6. Kakita T, Iyoda S, Taira H, Kudeken T, Akeda Y, Ohnishi M, Nakamura K. Closed genome sequences of 39 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle in Okinawa, Japan. Microbiology Resource Announcements. 2025 Nov 13;14(11):e0081625.
7. Shimabukuro S, Kobayashi T, Yokoyama E, Ando N, Kikuchi T, Momose F, Kageyama T, Matsuoka H, Ishioka T, Hirai S. Establishment of autoclave conditions for disaccharide-containing liquid media using spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. Journal of Microbiological Methods. 2026; 245: 107487.
8. Closed genome sequences of 39 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*

strains isolated from healthy cattle in Okinawa, Japan. Kakita T, Iyoda S, Taira H, Kudeken T, Akeda Y, Ohnishi M, Nakamura K, Microbiol Resour Announc. 2025 13;14(11):e0081625.

2) 学会発表

1. 中村 佳司、柿田 徹也、大西 真、明田 幸宏. ナノポアリードのみを用いた全ゲノム配列比較による細菌検査方法の検討. 第 27 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 福岡, 2025.
2. 中村 佳司、柿田 徹也、大西 真、明田 幸宏. 完全長ゲノム配列の比較解析に基づく腸管出血性大腸菌感染症起因菌のゲノム変化の解明. 九州微生物研究フォーラム 2025. 沖縄, 2025.
3. 泉谷秀昌: 3 類感染症。令和 7 年度希少感染症・重点感染症診断技術研修会、2026 年 2 月オンライン。
4. 泉谷秀昌: EHEC 0157、026、0111 の MLVA。令和 7 年度腸管出血の MLVA 研修会、2026 年 2 月、東京都
5. 李 謙一, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 明田幸宏. 腸管出血性大腸菌の 大規模集団事例解析にもとづく SNP 解析条件の最適化. 第 99 回日本細菌学会総会. 広島, 2026.
6. 李 謙一, 森田昌知, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 中村佳司, 山岸敏明, 明田幸宏. SNPcaster: 細菌ゲノム解析パイプライン. 第 46 回日本食品微生物学会学術総会. 川崎、神奈川, 2025.
7. 李 謙一, 森田昌知, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 中村佳司, 山岸敏明, 明田幸宏. SNPcaster: 細菌ゲノムアセンブリ・系統解析パイプライン. 第 168 回日本獣医学会学

術集会. 宮崎, 2025.

8. 原田哲也, 若林友騎, 李 謙一, 河合高生, 伊豫田 淳. 腸管出血性大腸菌 0157 clade 分類のためのリアルタイム PCR 法の確立. 第 27 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2025.
9. 小高優人, 上村直輝, 岩瀬忠行, 李 謙一, 石嶋 希, 中根大介, 菅井基行, 菅原庸, 明田幸宏, 伊豫田 淳, EHEC Working Group. 腸管出血性大腸菌における多細胞鎖形成機構の分子遺伝学的解析. 第 27 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2025.
10. 李 謙一, 森田昌知, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 中村佳司, 山岸敏明, 久保田寛顕, 木全恵子, 若林友騎, 野本竜平, 柿田徹也, and 明田幸宏. 細菌ゲノム解析パイプライン(SNPcaster)の開発. 第 27 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2025.
11. 李 謙一. ゲノム解析が切り拓く腸管出血性大腸菌の新たなサーベイランスと高病原性株の特定. 微生物ウィーク 2025. 東京, 2025.
12. 岡田由美子, 西田智子, 山本詩織, 李 謙一, 泉谷秀昌, 西野由香里, 井田美樹, 下島優香子, and 都丸亜希子. 国内で分離された患者及び食品由来リステリア・モノサイトゲネスの分子疫学的解析. 第 98 回日本細菌学会総会. 石川, 2025.
13. 石嶋 希, 岩瀬忠行, 児玉年央, 李 謙一, 大岡唯祐, 後藤義幸, 八尋錦之助, 明田幸宏, and 伊豫田 淳. HUS 患者から分離された stx2f 遺伝子保有 E. albertii の病原性解析. 第 98 回日本細菌学会総会. 石川, 2025.
14. 李 謙一, 森田昌知, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 中村佳司, 山岸敏明, and 明田幸宏.

細菌ゲノム解析パイプライン (SNPcaster) の開発および共有化方法の構築. 第 98 回日本細菌学会総会. 石川, 2025.

15. 大岡唯祐, 玉村雪乃, 桃木杏奈, 李 謙一, 平井晋一郎, 伊豫田 淳, 楠本正博, and E. albertii Working Group. 国内で分離された *Escherichia albertii* の進化系統およびゲノム特性. 第 27 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2025.

16. 平井晋一郎. 腸管出血性大腸菌感染症の MLVA 解析について. 分子疫学を活用した感染拡大防止対策立案研修 (長崎県開催、オンライン発表). 令和 8 年 2 月 25 日.

17. ウシ農場で発生した腸管出血性大腸菌感染症—子牛の保菌調査とゲノム解析—, 柿田徹也、中村佳司、土城勝彦、平良遥乃、久手堅剛、照屋盛美、喜屋武向子、大西真 第 5 4 回沖縄県獣医学会 (2025 年 7 月)

18. ナノポアリードのみを用いた全ゲノム配列比較による細菌検査方法の検討、中村佳司、柿田 徹也、大西 真、明田 幸宏、第 27 回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (2025 年 9 月)

19. 完全長ゲノム配列の比較解析に基づく腸管出血性大腸菌感染症起因菌のゲノム変化の解明、中村 佳司、柿田 徹也、大西 真、明田 幸宏、九州微生物研究フォーラム 2025 (2025 年 9 月)

20. ウシ農場で発生した腸管出血性大腸菌感染症—子牛の保菌調査とゲノム解析—, 柿田徹也、中村佳司、土城勝彦、平良遥乃、久手堅剛、照屋盛美、喜屋武向子、大西真 令和 7 年度獣医学術九州地区学会 (2025 年 10 月)

21. Tatsuya Murai et al. 高知県におけるギラン・バレー症候群の発生状況の発表.

2nd SAFETYNET Conference、2025 年 9 月 25 日 (クアラルンプール市)

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