

レファレンスセンター等報告

「大腸菌」

1) 全ゲノム配列解析 (SNP解析) を用いた腸管出血性大腸菌 (EHEC) サーベイランスの高精度化

感染研・細菌 I 部
李 謙一

2) ①大腸菌の O-genotyping について

②精度管理用菌株の配布について

感染研・細菌 I 部
伊豫田 淳

EHECの分子疫学的解析

地方衛生研究所・保健所等

↓ 菌株 (年間 3,000-4,000株)

感染研
細菌 I 部

MLVA
O157, O26, O111

PFGE
その他のO群

解析結果(血清型,
PFGE型, MLVA型)
の還元

型別法	型別能	時間	コスト	特徴
PFGE (パルスフィールドゲル電気泳動)	○	△	○	高い汎用性
MLVA (Multilocus variable tandem repeat analysis)	○	○	○	O157, O26, O111のみ
全ゲノム配列を用いたSNP解析	◎	△	×	系統解析, 病原性遺伝子の検出等も可能

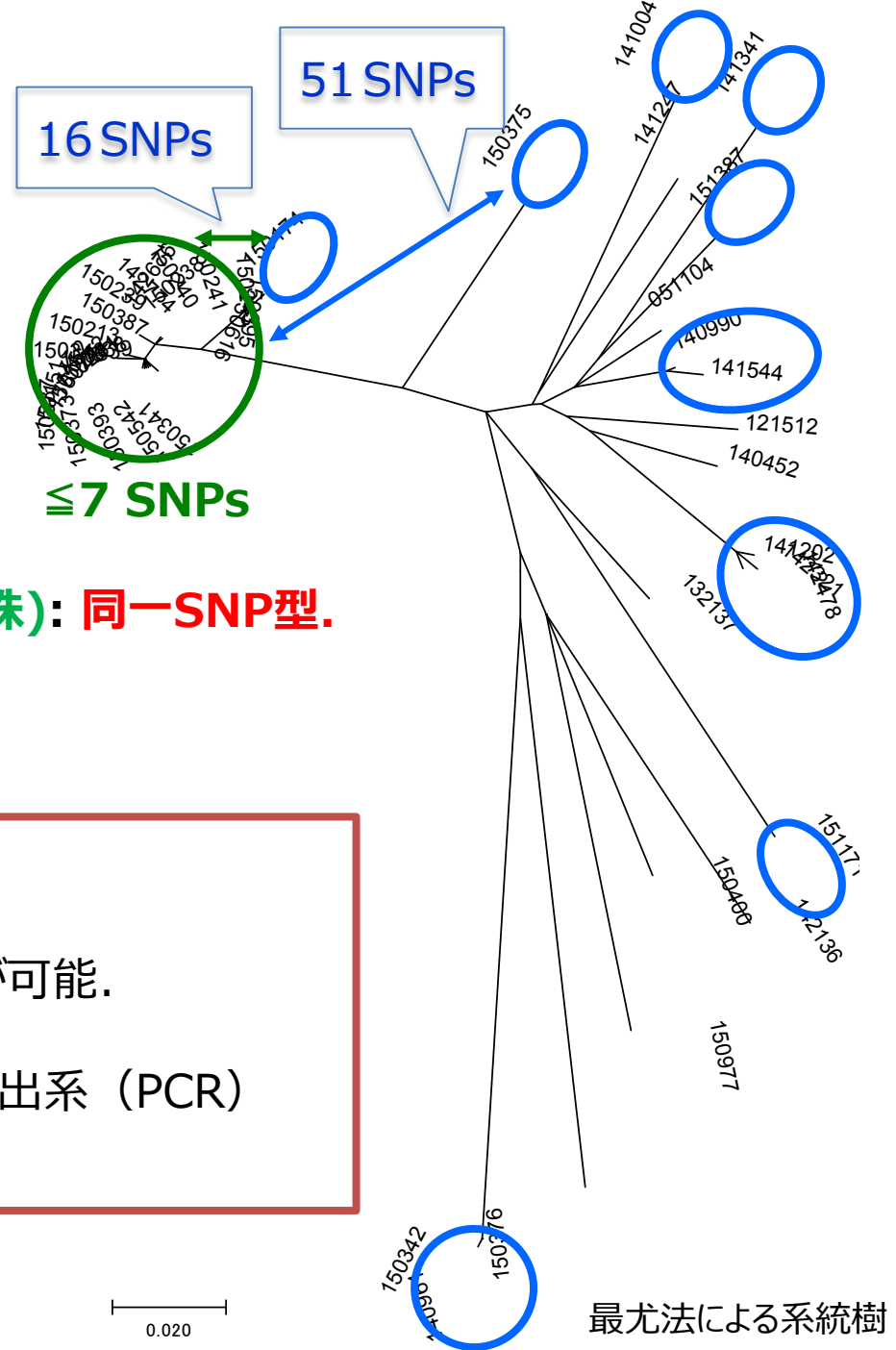
目的：従来法 (PFGE, MLVA) との比較から、SNP解析によるEHECの分子疫学的解析手法を確立する。

PFGE法との比較

- 2014-2015年に発生したO121の
広域感染事例
→ PFGE型類似株 (n=44) の
全ゲノム解析 (SNP解析)

- **同一PFGE型株 + PFGE型類似株 (7株): 同一SNP型.**
- **他のPFGE型類似株とは別のSNP型.**

- 同一PFGE型 = 同一SNP型
- PFGE型類似株から同一SNP型の抽出が可能.
- 同一SNP型特異的配列の抽出と簡易検出系 (PCR) が構築可能.



MLVA法との比較

- 4つのMLVA型のO157 (n=116)の全ゲノム解析 (SNP解析)

- 同一MLVA型 = 同一SNP型**
- MLVAの型別能 < SNP解析の型別能

まとめ：

従来法 (PFGE /MLVA) にSNP解析法を追加することで効率的かつ高精度な菌株サーベイランスが可能になる。

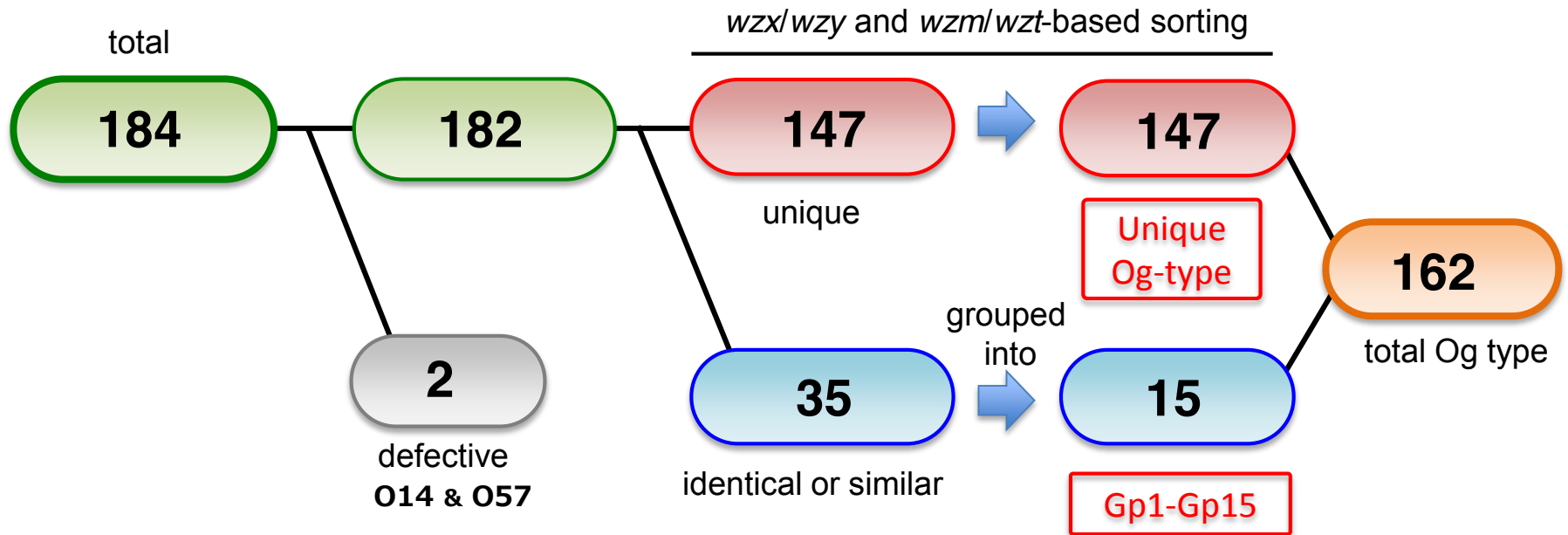


2) ①大腸菌の O-genotyping について

O血清群 → O遺伝子型

O血清群 (O serogroup)

O遺伝子型 (O genotype)



効率的検査系の確立

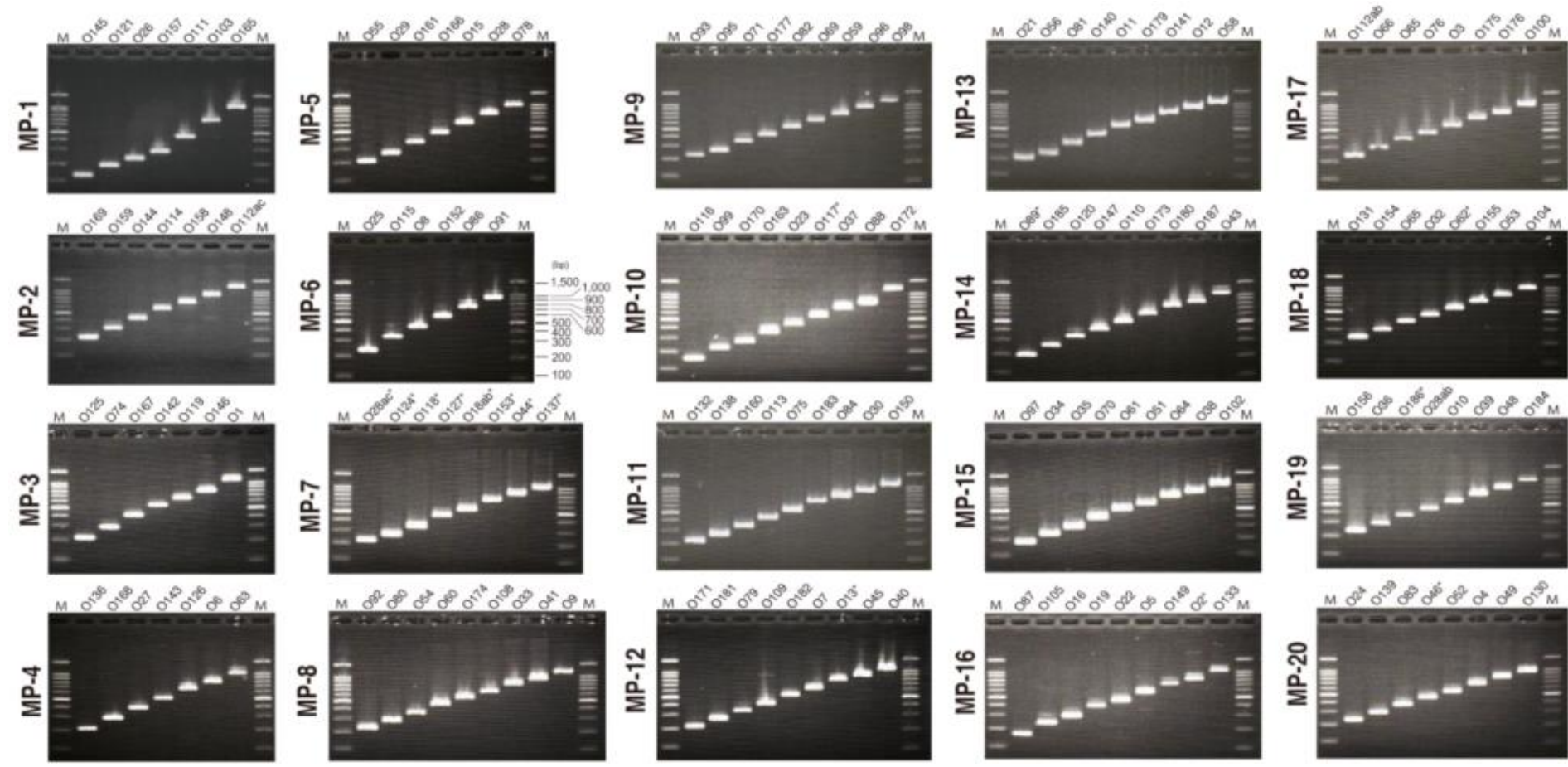
162
プライマーセット



20
マルチプレックス PCR
(MP1-20)

MP 1	MP 2	MP 3	MP 4	MP 5	MP 6	MP 7	MP 8	MP 9	MP 10
Og165	Og112ac	Og1	Og63	Og78	Og91	OgGp1	Og9	Og98	Og172
Og103	Og148	Og146	Og6	Og128	Og86	OgGp9	Og41	Og96	Og88
Og111	Og158	O119	Og126	Og15	Og152	OgGp11	Og33	Og59	Og37
Og157	Og114	Og142	Og143	Og166	Og8	OgGp12	Og108	Og69	OgGp8
Og26	Og144	Og167	Og27	Og161	Og115	OgGp4	Og174	Og82	Og23
Og121	Og159	Og74	Og168	Og29	Og25	OgGp3	Og60	Og177	Og163
Og145	Og169	Og125	Og136	Og55		OgGp13	Og54	Og71	Og170
						OgGp2	Og80	Og95	Og99
							Og92	Og93	Og116

MP 11	MP 12	MP 13	MP 14	MP 15	MP 16	MP 17	MP 18	MP 19	MP 20
Og150	Og40	Og58	Og43	Og102	Og133	Og100	Og104	Og184	Og130
Og30	Og45	Og12	Og187	Og38	OgGp7	Og176	Og53	Og48	Og49
Og84	OgGp10	Og141	Og180	Og64	Og149	Og175	Og155	Og39	Og4
Og183	Og7	Og179	Og173	Og51	Og5	Og03	OgGp14	Og10	Og52
Og75	Og182	Og11	Og110	Og61	Og22	Og76	Og32	Og28ab	OgGp6
Og113	Og109	Og140	Og147	Og70	Og19	Og85	Og65	OgGp5	Og83
Og160	Og79	Og81	Og120	Og35	Og16	Og66	Og154	Og36	Og139
Og138	Og181	Og56	Og185	Og34	Og105	Og112ab	Og131	Og156	Og24
Og132	Og171	Og21	OgGp15	Og97	Og87				



Og タイピングの実用化

デンカ抗血清による型別結果との整合性確認:

Og型と一致した場合: 抗血清を用いた確認は省略.

Og型が不一致 (OUT/OgUT) の場合: 抗血清で確認.



- 抗血清セット維持費用の大幅削減
- 新規Og型の同定が可能

②精度管理用菌株の配布について

配布可能菌株 (1) : 下痢原性大腸菌PCRコントロール用菌株

配布可能菌株 (2) : 志賀毒素遺伝子PCRコントロール用菌株

配布可能菌株 (3) : EQA用菌株 (EHEC)