

MLVA法を用いた 広域食中毒の対応事例

微生物部

○引地恵一 津路優葉 岡部祐未
福留智子 三浦美穂 吉野修司

1

はじめに

○腸管出血性大腸菌（EHEC）0157の場合

食中毒

- ・培養
- ・血清型別
- ・VT遺伝子

広域食中毒

+ **MLVA法**

関連性を調べる！

2

事例概要

県内医療機関から保健所へ
EHEC (0157) の発生届

患者は鹿児島県の飲食店にて
ハンバーグを喫食

山口県、大分県でも同系列の
飲食店の関与が疑われる
事例が散発

国を含めた他の自治体との
広域連携



3

MLVA法とは

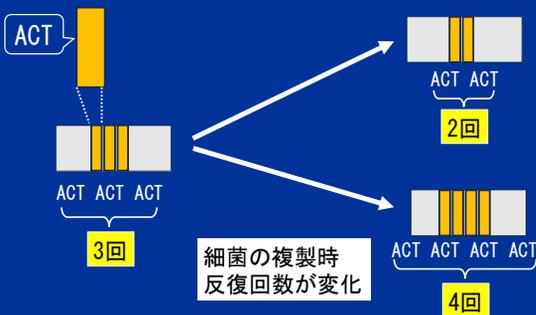
Multiple-Locus Variable-number
tandem-repeat Analysis

↳ **MLVA** (反復配列多型解析)

- ・ゲノムに存在する反復配列の反復回数
(リピート数) を菌株間で比較
- ・菌株の異同を調べる

4

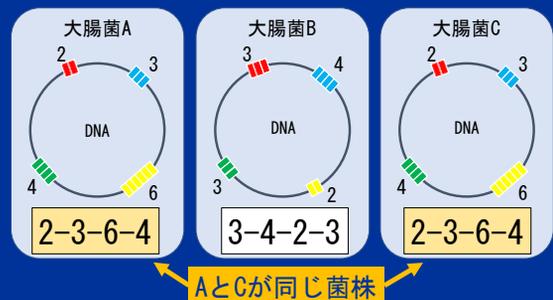
反復回数とは



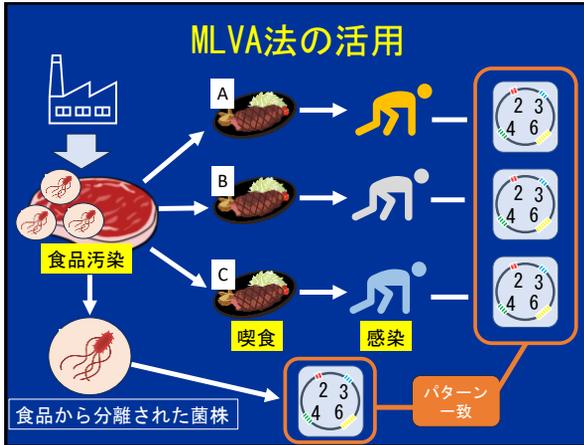
5

反復回数の比較

例) 赤-青-黄-緑の反復配列領域を解析



6



7

対象

- 患者の菌株1件
- 指標株3件 (内部精度管理として使用)

↓

国立感染症研究所にてMLVA法でタイピングされた既知の菌株

	EH11-11	EH11-14	EH11-8	EH17-12	EH24-7	EH10-1	EH10-2	EH10-5	EH10-6
内部A	2	-2	1	4	-2	7	4	15	-2
内部B	2	-2	1	4	-2	6	5	-2	-2
内部C	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2

	0157-3	0157-34	0157-9	0157-25	0157-17	0157-19	0157-36	0157-37
13	12	10	5	6	6	12	7	
5	10	7	2	12	7	4	7	
7	10	8	2	11	6	4	8	

8

方法

9

血清型別とVT遺伝子

CT-ソルビトールマッコンキー培地 } 菌株の再分離
 クロモアガーSTEC培地 }
 普通寒天培地 }

↓

- 0抗原、H抗原の血清型別
- VT遺伝子、*eae*遺伝子の検出

10

MLVA

検体 菌株：普通寒天培地で培養

DNA抽出 アルカリ熱抽出 (100°C、10min)

PCR 蛍光プライマー
17領域をターゲット

電気泳動解析 キャピラリー電気泳動
ピーク検出
リピート数へ変換

3500 Genetic Analyzer

腸管出血性大腸菌MLVAハンドブック (0157、026、0111編)

11

結果

12

血清型別とVT遺伝子



CT-SMAC培地
透明～
灰白色コロニー



クロモアガーSTEC培地
藤色コロニー



- ・血清型 0157 : H7
- ・VT1 (+)、VT2 (+)、*eae* (+)

13

MLVA

表 大分、山口及び宮崎で分離された菌株におけるMLVAの結果

	EH111-11	EH111-14	EH111-8	EH157-12	EK26-7	EH0-1	EH0-2	EH0-5	EH0-6
大分	2	-2	1	4	-2	2	4	10	-2
山口	2	-2	1	4	-2	2	4	10	-2
宮崎	2	-2	1	4	-2	2	4	10	-2

	0157-3	0157-34	0157-9	0157-25	0157-17	0157-19	0157-36	0157-37	MLVA type
10	2	7	5	7	6	6	7		23m0483
10	2	7	5	7	6	6	7		23m0483
10	2	7	5	7	6	6	7		23m0483

大分、山口で分離された菌株ともMLVA typeが一致

14

まとめ

- ・ MLVA型が他県の分離株と一致
- ・ 検査開始から他県との比較まで2-3日
- ・ 広域食中毒事例が発生した際に有用
- ・ 迅速かつ正確に対応できるよう複数の職員でトレーニング
- ・ 速やかに医療機関及び検査施設にある菌株を入手することが重要

15