

Mycobacterium avium paratuberculosis food	33	0
Mycobacterium paratuberculosis beef	20	0
Mycobacterium paratuberculosis meat	4	0
Mycobacterium avium paratuberculosis animal infection food	8	0
paratuberculosis	1244	
paratuberculosis human	279	
paratuberculosis human infection	69	0
paratuberculosis food	99	0
paratuberculosis milk	98	0
paratuberculosis beef	23	0
paratuberculosis chicken	14	0
paratuberculosis meat	6	0
Brucellosis	6044	
Brucellosis and human	3311	
(Brucellosis and human) and infection	1045	
(Brucellosis and human and infection) and food	67	
(Brucellosis and human and infection) and meat	30	13
Brucella	5887	
Brucella and human	2024	
(Brucella and human) and infection	713	

ブルセラ

	(Brucella and human and infection) and food	43	
	(Brucella and human and infection) and meat	18	13
カンピロバクター症	campylobacter	8520	
	(campylobacter) and (human)	6202	
	(campylobacter and human) and (infection)	3484	
	(campylobacter and human and infection) and (case report)	742	
	(campylobacter and human and infection and case report)	23	1
	and (food)		
	(campylobacter and human and infection and case report)	7	1
	and (meat)		
	(campylobacter and human and infection and case report)	7	1
	and (chicken)		
放線菌病	Actinomyces	4181	
	Actinomyces bovis	67	0
	Actinomyces human food	16	0
	Actinomyces human infection food	1	0
	Actinomyces food	211	
	Actinomyces and beef	5	0
	Actinomyces and meat	9	0
	Actinomyces food public health	33	0

Actinomyces actinomycosis human infection	472	
Actinomyces actinomycosis animal infection	75	0
Actinomyces actinomycosis animal infection food	3	0
Actinomyces slaughter	7	0
actinomycosis	2891	
actinomycosis and animal	315	
actinomycosis cattle	105	0
actinomycosis human food	11	0
actinomycosis food	24	0
actinomycosis beef	1	0
actinomycosis chicken	9	0
actinomycosis meat	4	0

フトウ菌腫

botryomycosis	107	
botryomycosis , limit to human	94	
(botryomycosis , limit to human) and (case report)	79	3
(botryomycosis , limit to human) and (food)	0	
(botryomycosis , limit to human) and (meat)	0	
botryomycosis and (meat)	1	0
(botryomycosis) and (cattle)	3	0
(botryomycosis) and (swine)	1	0

豚赤痢	swine dysentery	340	
	swine dysentery , limit to human	13	0
	Brachyspira hyodysenteriae	42	
	Brachyspira hyodysenteriae , limit to human	4	0
	(swine dysentery) and (Brachyspira hyodysenteriae)	11	
	(swine dysentery) and (Brachyspira hyodysenteriae) , limit to human	1	0
	Serpulina hyodysenteriae	136	
	Serpulina hyodysenteriae , limit to human	14	1
鶏ロイコチトノー病	leukocytozoonosis	1	0
	leukocytozoon	2	0
	leucocytozoon	234	
	leucocytozoon	4	0
鶏伝染性気管支炎	infectious bronchitis virus	894	
	avian infectious bronchitis virus	229	
	avian infectious bronchitis virus , limit to human	18	2
伝染性ブアリキウス嚢炎	infectious bursal disease virus	766	
	infectious bursal disease virus , limit to human	18	0
	(infectious bursal disease virus , limit to human) and avian	8	0

	(infectious bursal disease virus , limit to human) and case report	2	0
鶏マイコプラズマ病	Mycoplasma Gallisepticum	6	0
	Mycoplasma synoviae	225	
	Mycoplasma synoviae (limit to human)	3	0
あひるウイルス性腸炎	duck virus enteritis	53	0
	duck plague	139	
	(duck plague) and (human)	16	0
	(duck plague virus)	132	
	(duck plague virus) and (human)	16	0
あひる肝炎	duck hepatitis	740	
	(duck hepatitis) and (infection)	296	
	(duck hepatitis and infection) and (human)	99	
	(duck hepatitis and infection and human) and (food)	6	0
	(duck hepatitis and infection and human) and (meat)	1	0
	(duck hepatitis and infection and human) and (case report)	2	0
	(duck hepatitis and infection and human) and (virus)	55	0
炎症 変性 水腫 萎縮	human and infection and inflammation	8724	

	(human and infection and inflammation) and food	53	0
	(human and infection and inflammation) and meat	4	0
	human and infection and edema	1649	
	(human and infection and edema) and food	10	0
	human and infection and degeneration	689	
	(human and infection and degeneration) and food	0	
	human and infection and atrophy	1468	
	(human and infection and atrophy) and food	12	0
	inflammation and infection and cattle and human	38	0
	inflammation and infection and swine and human	30	0
	inflammation and infection and equine and human	1	0
	edema and infection and human and cattle	9	0
	edema and infection and human and swine	18	0
	edema and infection and human and equine	0	
	edema and meat	40	0
	degeneration and infection and human and cattle	4	0
	degeneration and infection and human and swine	5	0
	degeneration and infection and human and equine	2	0
	degeneration and meat	30	0
炎症			
水腫			
变性			

萎縮	atrophy and infection and human and cattle	6	0
	atrophy and infection and human and swine	12	0
	atrophy and infection and human and equine	0	
	atrophy and meat	20	0

表 2 ヒトへの感染事例に関する文献概要-1

疾病名	Campylobacteriosis	
病原体名	Campylobacter fetus	
文献番号	Cf-1	
タイトル	Campylobacter fetus subspecies fetus cellulitic associated with bacteremia in debilitated hosts	
雑誌名 巻 号 年	Chn Infect Dis 27 252-5 1998	
著者名	Ichiyama, S, Hirai, S, Minami, T, Nishiyama, Y, Shimizu, S, Shimozaka, K, Ohta, M	
Case No 1		
発生日	1995年1月11日	
発生場所	国	日本
	都市 地方	名古屋
患者	職業	記載なし
(若しくは感染者)	性別	女
	年齢	24歳
症状	右足の強度の痛み 腫脹 発赤 38.5℃の発熱 敗血症	
潜伏期間	生肉喫食後5日	
暴露(感染)状況	感染源	生ウノ肉
	感染経路	喫食 右足に非開放の小さな傷あり
診断方法	皮下局部吸引物のグラム染色 顕微鏡観察 カープしたコノマ型グラム陰性菌検出 吸引物 血液 便を培養LCf検出 API-Campy Identification Kitで同定	
治療方法	minocycline imipenem/cilastatin iv levofloxacin	
対応	1995年1月31日退院	
その他	肉眼で蜂巣炎 右足に外傷なし	
Case No 2		
発生日	1995年2月14日	
発生場所	国	日本
	都市 地方	名古屋
患者	職業	記載なし
(若しくは感染者)	性別	男
	年齢	61歳
症状	左足の痛み 腫脹 足全体の発赤 40.1℃の発熱	
潜伏期間	生ウノ肝臓喫食後7日	
暴露(感染)状況	感染源	生ウノ肝臓
	感染経路	喫食
診断方法	血液 便を培養LCf検出	
治療方法	imipenem/cilastatin iv levofloxacin	
対応	1995年3月20日退院	
その他	アルコールによる肝硬変、肉眼診断で蜂巣炎	
Case No 3		
発生日	1995年7月6日	
発生場所	国	日本
	都市 地方	名古屋
患者	職業	記載なし
(若しくは感染者)	性別	女
	年齢	34歳
症状	腰痛 下痢 右足の無力感腫脹 足全体の発赤 38.1℃の発熱 右足の腫脹、発赤	
潜伏期間	記載なし	
暴露(感染)状況	感染源	不適切に調理した豚肉
	感染経路	喫食
診断方法	血液 便を培養LCf検出 足ハイオプノーサンプルの培養では検出されなかった 足のハイオプノーサンプルの病理診断では蜂巣炎	
治療方法	imipenem/cilastatin iv levofloxacin	
対応	1995年7月21日退院	
その他	全身性エリテマトーゼス	
文献入手ルート	Medline <campylobacter fetus meat human case report>	

表 3 ヒトへの感染事例に関する文献概要-2

疾病名	Tuberculosis		
病原体名	<i>Mycobacterium bovis</i>		
文献番号	TB-1		
タイトル	Tuberculosis due to <i>Mycobacterium bovis</i> in Australian population: case recorded during 1970-1994		
雑誌名 巻号 年	Int J Tuberc Lung Dis (1999) 3 715-721		
著者名	Cousins D V and Dawson D J		
Case			
発生日	1970-1994		
発生場所	国	オーストラリア	
	都市 地方		
患者 (若しくは感染者)	職業	詳細が記録されていた114人中37人が食肉加工場労働者 22人が家畜農場労働者 3人がTBを扱っていた研究室の勤務 その他は不明	
	性別	詳細が記録されていた146人中103人が男 43人が女	
	年齢	22-86歳(平均55.2歳)	
症状	記載なし		
潜伏期間	不明		
暴露(感染)状況	感染源	家畜 TB患者 生乳 不明	
	感染経路	不明(経口 空気伝播)	
診断方法	菌の分離		
治療方法	記載なし		
対応			
その他			

表 4 ヒトへの感染事例に関する文献概要-3

疾病名	Brucellosis		
病原体名	<i>Brucella melitensis</i>		
文献番号	B m-1		
タイトル	Chronic brucellosis in workers in a meat-packing plant		
雑誌名 巻号年	Scand J Infect Dis (1999) 31 511-512		
著者名	Landau Z, and Green L		
Case			
発生日	1994年		
発生場所	国	イスラエル	
	都市 地方	イスラエル南部	
患者 (若しくは感染者)	職業	と畜食肉加工場職員	
	性別	7(男) 2(女)	
	年齢	29-48歳(平均40歳)	
症状	虚脱 関節痛 筋肉痛 発熱 回帰熱 菌血症		
潜伏期間	2-4ヶ月		
暴露(感染)状況	感染源	ブルセラに感染した牛 またはそのと畜	
	感染経路	不明	
診断方法	菌の分離(3人 <i>Brucella melitensis</i>) 血清診断(補体結合反応)		
治療方法	全員トキノマイアシン(100mgを2回/日)およびストロブドマイシン(1g/日)を6週間投与 3人はその後も3回入退院を繰り返し トキノサイクリンおよびリファンピリンが治療に用いられた		
対応			
その他			

表 5 と畜場法で規定されている家畜感染症のヒトに対する感染例の検索

疾病名	ヒトした件数	食肉を介してのヒトへの感染を記載した論文数 (ヒトへの感染例を記載した論文数)
類鼻疽	707	0(2)
馬伝染性子宮炎	152	0(2)
結核	90202	13
ヨーネ病	810	0
ブルセラ	6044	13
カンヒロハクター症	8520	3
放線菌病	4181	0(472)
フトウ菌腫	107	0(3)
豚赤痢	340	0(1)
鶏ロイコチトノーン病	235	0
鶏伝染性気管支炎	894	0(2)
伝染性アアプリキウス囊炎	766	0
鶏マイコプラズマ病	225	0
あひるウイルス性腸炎	139	0
あひる肝炎	740	0
炎症	38	0
水腫	40	0
変性	30	0
萎縮	20	0

平成 15 年度厚生労働省食品安全確保研究事業分担研究報告書

分担課題名 食品を介する家畜・家禽疾病のヒトへのリスク評価及びリスク管理に関する研究

分担研究者 氏名 中澤宗生

所属 独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 動物衛生研究所

研究要旨

豚における Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) の保菌実態を調査し、豚由来株の zoonotic risk を評価するために、分離株の性状を調べた。供試した糞便 411 例中 45 例 (10.9%) から VTEC が分離された。その内訳は A 県 112 例中 13 例 (11.6%)、B 県 100 例中 9 例 (9.0%)、C 県 99 例中 18 例 (18.2%) および D 県 100 例中 5 例 (5.0%) であった。分離された VTEC 45 株について血清型別を行ったところ、4 株 (8.9%) が 3 菌型に型別されたが、残りの 41 株 (91.1%) は型別不能であった。型別された 4 株は O112ac H- が 2 株、O126 H- および O157 H7 が各 1 株であった。また、VTEC 45 株について毒素型別を行ったところ、27 株 (60.0%) が VT2 を、17 株 (37.8%) が VT1 を、1 株 (2.2%) が VT1 と VT2 の両毒素をそれぞれ産生していた。豚は牛に比較して VTEC の保菌率が低い傾向にあるが、ヒトの症例由来株と共通する血清型や毒素型の菌が分離されたことから、豚 VTEC 株の zoonotic risk を考慮した食肉の生産・供給体制が必要であると考えられた。

A 研究目的

Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) または志賀毒素産生性大腸菌感染症は食品媒介性人獣共通感染症であり、本菌の主要な保有体は食用動物と考えられている。家畜の VTEC 保菌調査はこれまで牛を主体に実施されてきており、豚の保菌に関する知見は国内外ともに少ない状況にある。本研究では豚における VTEC の保菌実態を調査し、豚保有株の zoonotic risk を評価するために、分離株の性状を解析した。

B 研究方法

検査材料 関東地区 212 例 (A 県 112

例、B 県 100 例) および九州地区 199 例 (C 県 99 例、D 県 100 例) の計 411 例の豚から新鮮糞便を採取し、シートスワブ 1 号 (栄研化学) に入れて持ち帰り、培養に供した。

分離および同定 供試糞便をマッコンキー寒天 (日水)、DHL 寒天 (日水)、Rainbow agar O157 (Biolog) の各分離培地に直接画線塗抹し、37℃ 24 時間培養後、各平板から大腸菌を疑うコロニーを 3~5 個釣菌し、TSI 寒天 (日水)、LIM 培地 (日水) および普通寒天培地 (オキシターセ試験用) に接種して 37℃ 24 時間培養後、その生化学的性状から大腸菌を推定した。その後、腸内細菌同定

キットエンテオクラム(和光純薬)を用いて性状試験を行い、大腸菌と同定した。

Vero 毒素遺伝子の検出 既報に準拠してPCR法によって遺伝子の有無を調べた。

Vero 毒素の毒素型別 逆受身ラテックス凝集反応による大腸菌ペロトキシン検出用キット VTEC-RPLA「生研」(デンカ生研)を用いて調べた。

血清型別 分離株の血清型は病原大腸菌診断用血清(デンカ生研)を用いて調べた。

C 研究結果

豚からの VTEC 分離状況 表 1 に示すとおり、411 例中 45 例(10.9%)から VTEC が分離された。その内訳は、C 県が 99 例中 18 例(18.2%)と最も多く、次に A 県が 112 例中 13 例(11.6%)、B 県が 100 例中 9 例(9.0%)および D 県が 100 例中 5 例(5.0%)であった。

分離株の血清型 VTEC と同定された 45 株について、血清型別を実施したところ、4 株(8.9%)が 3 菌型に型別されたが、残り 41 株(91.1%)は型別不能であった。型別された 4 株は、表 2 のとおり 0112ac H- が 2 株、0126 H- と 0157 H7 が各 1 株であった。採材地域別では、A 県は 13 株中 3 株(23.1%)が 0112ac H- (2 株)と 0126 H- (1 株)に型別されたが、残り 10 株は型別不能であった。B 県では 9 株中 1 株が 0157 H7 に型別されたが、残り 8 株は型別不能であった。また、C 県の 18 株と D 県の 5 株の計 23 株はすべて型

別不能であった。

分離株の毒素型 分離された 45 株の毒素型は表 3 に示すとおり、17 株(37.8%)が VT1、27 株(60.0%)が VT2、1 株(2.2%)が VT1 と VT2 の両毒素産生性であった。また、VT1 産生株は A 県が 10 株(58.8%)と最も多く、次に B 県が 3 株(17.6%)および C 県と D 県が各 2 株(11.8%)であった。VT2 産生株は C 県が 16 株(59.3%)と最も多く、次に B 県が 6 株(22.2%)、D 県が 3 株(11.1%)、A 県が 2 株(7.4%)であった。VT1 と VT2 の両毒素産生株は A 県の 1 株のみに認められた。その地域別の内訳は、A 県では 13 株中 10 株(76.9%)が VT1、2 株(15.4%)が VT2、1 株(7.7%)が VT1 と VT2 の両毒素産生性であった。B 県では 9 株中 3 株(33.3%)が VT1、6 株(66.7%)が VT2 産生性であった。C 県では 18 株中 2 株(11.1%)が VT1、16 株(88.9%)が VT2 産生性であった。D 県では 5 株中 2 株(40%)が VT1、3 株(60%)が VT2 産生性であった。

D 考察

近年、VTEC はヒトの腸管感染症の起因菌として重要視され、わが国では年間 2,000~4,000 名の届出がなされており、国内で発生する動物由来感染症の首位にランクされている。本菌は食用動物が健康保菌していることから、これまで、牛を主体に保菌調査が実施されてきており、1989~1993 年にかけて実施された健康牛の調査では、保菌率が 3.6~48.9%と報告されている。一方、豚の VTEC 保菌は、浮腫病との関

連て報告されているものの、健康豚由来株や豚肉由来株とヒトの VTEC 感染症との関わりについては不明な部分が多いのか実情である。そこで今回著者らは、食用動物として牛とともに重要な豚の VTEC 汚染状況について、関東地区 2 県と九州地区 2 県の計 4 県の養豚場で飼育されていた健康豚から VTEC の分離を試みたところ、50～18.2% (平均 10.9%) の豚が本菌を保菌していることか明らかとなった。これまで、健康豚の保菌率については、1.8～2.1%、あるいは、14.0%という報告があるが、この差は分離培養法、地域性、季節性などの違いが影響しているものと思われる。事実、著者らの成績では、一部の飼育地域において分離率に 3 倍以上の差が見られたことから、地域や農場によって保菌状況に差があるものと考えられた。

一方、今回分離された VTEC の zoonotic risk を推定するために、血清型および毒素型を調べたところ、分離率は低いものの、ヒトの症例由来株と共通する O126 H-、VT1 産生株や O157 H7、VT2 産生株が分離されたことから、豚も潜在的な保菌源であることが明らかとなった。これまで、豚からの O157 H7 の分離報告は世界的にも少なく注目度は低いか、豚 VTEC 株の zoonotic risk を念頭に置いた食肉の生産・供給体制が必要であると考えられた。

E 結論

豚の保菌する VTEC の zoonotic risk

を評価するために、保菌率を調べるとともに、分離株の性状を調べた。保菌率は地域差があり 5.0～18.2% (平均 10.9%) であった。型別された分離株のなかに O126 H-、O157 H7 などヒトの症例由来株と共通する菌型が存在したことから、豚は本菌の潜在的保菌源である可能性があり、zoonotic risk を考慮した豚肉生産体制の確立が望まれる。

F 健康危機情報

なし

G 研究発表

1 論文発表

福山正文ほか 豚からの Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分離および血清型 感染症学雑誌 65 1032-1039, 2003

表1 豚でのVTECの保菌率

採材地域	検査頭数	VTEC 陽性頭数	保菌率(%)
A県	112	13	11.6
B県	100	9	9.0
C県	99	18	18.2
D県	100	5	5.0
合計	411	45	10.9

表2 豚から分離されたVTECの血清型

血清型	採材地域				合計
	A県	B県	C県	D県	
0112ac H-	2				2
0126 H-	1				1
0157 H7		1			1
OUT H2	2		3		5
OUT H7		1			1
OUT H19	1	1			2
OUT H-	6		14	4	24
OUT HUT	1	6	1	1	9
合計	13	9	18	5	45

OUT O群型不明 HUT H抗原不明

表3 豚から分離された VTEC の Vero 毒素型

採材地域	検査株数	Vero 毒素型		
		VT1	VT2	VT1+VT2
A 県	13	10(58.8%)	2(7.4%)	1(100%)
B 県	9	3(17.6%)	6(22.2%)	0
C 県	18	2(11.8%)	16(59.3%)	0
D 県	5	2(11.8%)	3(11.1%)	0
合 計	45	17(37.8%)	27(60.0%)	1(2.2%)

厚生科学研究費補助金(食品安全確保研究事業)
分担研究報告書

志賀毒素産生大腸菌(Shiga toxin-producing *Escherichia coli*)の自然感染牛における排菌数とその持続

分担研究者 品川邦汎 岩手大学 教授

志賀毒素産生性大腸菌(Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC)は出血性腸炎、溶血性尿毒症候群、血小板減少性紫斑病などを引き起こす重要な食中毒起因菌である。STEC のリサホアは牛であり、牛における STEC の動態を明らかにすることは、本食中毒を防除するうえで極めて重要である。本研究では、STEC O157 および O26 を対象に、経時的に採取した牛の糞便について免疫磁気ヒース法を用いた最確数法により排菌期間および排菌数を調査した。その結果、STEC O26 の排菌期間は0〜2週と短く、排菌数も3〜2400 cfu/10g と少なかったのに対し、STEC O157 の排菌期間は0〜10週と牛により異なり、その排菌数も4〜110,000 cfu/10g と様々であることが明らかとなった。STEC O157 保菌牛では、14頭中11頭に間欠的な排菌が見られた。更に、パルスフィールドゲル電気泳動により分離菌株の遺伝子型別を行ったところ、排菌期間中に分離された菌株は同一型あるいは subtype の範囲内であることが明らかになった。

以上の結果より、STEC O157 は STEC O26 よりヒト感染症発生の危険性が高いと考えられた。

研究協力者

Widiasih D A 岩手大学
井戸徳子 岩手大学
重茂克彦 岩手大学
杉井俊治 大阪府立大学
鎌田伴一 大阪府立大学

A 研究目的

志賀毒素産生性大腸菌(Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; STEC)は出血性腸炎、溶血性尿毒症候群、血小板減少性紫斑病などを引き起こす重要な食中毒起因菌である。STEC は種々の血清型が報告されているが、代表的な O 抗原型として、O157、O26、および O111 が知られている。わが国では、1990年に初めて STEC O157 H7 の集団感染事例が報告され、以降多くの集団感染事例や散发事例が各地で発生している(1)。これらの STEC のリサホアとして牛が重要視されている(2)。STEC は、多くの場合牛に感染しても症状を現さないが、保菌牛糞便による食肉処理工程での食肉の汚染、環境汚染、および堆肥を用いて生産される農産物への二次的汚染などが示唆されている。近年、食肉の製造段階だけでなく、生産段階(農場)においても、Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)システムの導入の重要性が指摘されており、食肉の安全性確保を行うために農場での保菌牛対策を行うことが望まれている。

しかしながら、農場における STEC の動態については十分に明らかにされておらず、的確な除菌方策を行うためにも、また、その効果を評価するうえで

も詳細な STEC の動態を把握する必要がある。本研究では、岩手県の一農場で飼育されている牛群を対象として、STEC O157 と O26 の保菌牛における動態(排菌期間)を、定量的に明らかにすることを目的として調査を行った。

B 方法

1) 検体

岩手県内の農場において、春期、夏期、冬季の3期間に渡り、1〜10ヶ月例の牛の直腸便を採取した。ホルスタイン種233頭、黒毛和種26頭、およびF1種63頭を対象として STEC O157 のスクリーニングを行った。また、O26 のスクリーニングはホルスタイン種123頭、黒毛和種24頭およびF1種31の直腸便を対象とした。

2) O157 および O26 保菌牛のスクリーニング

牛糞便1gをノボヒオン加mEC培地(9ml)に摂取し、37°Cで18時間培養後、その培養液1mlに抗O157あるいは抗O26免疫磁気ヒース(Dynal)20µlを添加混和し、磁石ラックを用いてヒースを回収した。ヒースを滅菌生理食塩水で洗浄後、O157スクリーニングではCT-SMAC平板培地、O26スクリーニングではCT-RMAC平板培地に摂取し、培養した。培地上に出現したコロニーを釣菌し、HI培地で再分離した。これらのコロニーについて病原大腸菌免疫血清によりスライト凝集試験を行い、STEC O157、O26の同定を行った。分離菌株のstx1/stx2遺伝子の保有については、市販のプライマー(宝酒造)を用いてPCRにより行った。

3) 免疫磁気ヒースを用いた最確数法による STEC O157 および O26 の菌数測定

スクリーニング試験で STEC O157 あるいは O26 陽性となった保菌牛について、才覚数方により1週間隔て経時的に菌数測定を行った。4週連続して排菌が認められなかった場合に保菌陰性と判断した。

4) パルスフィールドゲル電気泳動(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)

経時的に分離された STEC O157 および O26 について、PFGE を用いて遺伝子型別を行った。PFGE は Bio-Rad 社の CHEF DR III を用い、STEC O157 については XbaI、O26 については NotI を用いて定法に従って行った (3)。

C 結果と考察

1) 牛の STEC O157 および O26 保有状況

STEC O157 は 11/324 頭 (3.4%)、STEC O26 は 14/178 頭 (7.9%) から検出された。今回の調査では、STEC O157、O26 とともに牛の月齢による保菌率の違いは認められなかった。牛種別では、黒毛和種の STEC O157 保菌率がホルスタイン種のそれに対して有意に高い ($P > 0.05$) 傾向が認められた。また、STEC の保菌率は、夏期に増加することから認められた。

2) 牛の STEC O157 および O26 の排菌期間と排菌数

STEC O157 の排菌期間と排菌数を表 1 に示す。最長のものが 10 週間まで陽性のものと、最短では 1 週間まで陰性となったものが見られた。多くの牛では排菌期間中間欠的排菌 (1-2 週排菌陰性を示し、その後再び排菌陽性となる) を示し、その排菌数は 4×10^4 - 1.1×10^8 cfu/10 g と、牛により様々であった。これに対し、STEC O26 保菌牛の排菌期間は短く、最長で 2 週間、最短で 1 週間以下であった。更に、排菌数も STEC O157 に比べて少なく、 3×10^3 - 2.4×10^6 cfu/10 g であった。また、STEC O26 保菌牛では間欠的排菌は観察されなかった (表 2)。

3) 経時的に分離した STEC O157 および O26 の遺伝子型

経時的に分離した STEC O157 および O26 について、PFGE による遺伝子型別と stx 遺伝子型別を行った。PFGE 型はハントの位置と数により分類し、菌株間で 7 本以上のハントが異なっていた場合は由来の異なる株と見なし、また、1-3 本のハントが異なっていた場合は、近縁な株と見なし、subtype とした (4)。stx 遺伝子型は PCR により決定した。表 1 に各保菌牛から分離された STEC O157 の遺伝子型の変動を示す。ほとんどの牛で STEC O157 は同一あるいは subtype 内の遺伝子型の

O157 が分離され、間欠的に排菌している場合でも、その傾向は変わらなかったことから、ほぼ同一の STEC O157 が長期に渡って保菌牛に維持されていることが示唆された。STEC O26 においても STEC O157 と同様に、連続して同一あるいは subtype の遺伝子型の菌が連続して分離された (表 3, 4)。しかしながら、1 頭 (牛番号 2) において、1 週目と 2 週目で異なった遺伝子型の菌が分離されており、再感染の可能性が示唆された。

D まとめ

本研究により、STEC O157 保菌牛の排菌期間は STEC O26 保菌牛に比してより長期間にわたり、またその排菌数も多いことが明らかになった。また、STEC O157 では一度排菌陰性となっても、1-3 週目に再び排菌を開始する、間欠的排菌が見られることが明らかとなった。その場合でも、排菌された STEC O157 の遺伝子型は排菌期間を通してほぼ同一であり、一度牛消化管内に侵入、定着した STEC O157 は長期間にわたって牛消化管内に存在し、排菌されると考えられる。

以上の結果より、STEC O26 に比して STEC O157 は長期間にわたって保菌牛から排菌され、種々の経路を通して食品および環境を汚染し、ヒト STEC 感染症を発生させる危険性が高いと考えられる。

E 引用文献

- 1) 竹田美文 わか国における腸管出血性大腸菌感染症の疫学動向 (1997) 日本臨床 55 631-633
- 2) Wells, J. G. et al. Isolation of *Escherichia coli* serotype O157 H7 and other Shiga-like-toxin producing *E. coli* from dairy cattle (1991) J Clin Microbiol 29 985-989
- 3) Izumiya et al. Molecular typing of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 H7 isolates in Japan by using pulsed-field gel electrophoresis (1997) J Clin Microbiol 35 1675-1680
- 4) Tenover et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed field gel electrophoresis criteria for bacterial strain typing (1995) J Clin Microbiol 33 2233-2239

大腸菌耐熱性毒素 EAST1 に対する免疫抗体の作製
及びリコンビナント EAST1 の大腸菌発現系構築の試み

大阪府立大学大学院

農学生命科学研究科 獣医学専攻

獣医公衆衛生学研究室

鎌田 洋一

【緒 言】

大腸菌は人を含むすべての哺乳動物の腸管に常在しており、その大半は人や動物に害を及ぼさない。しかし、一部には飲食物を介して下痢を起こす大腸菌がある。それらは非病原性大腸菌と区別して下痢原性大腸菌と呼ばれ、現在まで、腸管病原性大腸菌 (*Enteropathogenic Escherichia coli*, EPEC)、腸管侵入性大腸菌 (*Enteroinvasive Escherichia coli*, EIEC)、腸管毒素原性大腸菌 (*Enterotoxigenic Escherichia coli*, ETEC)、腸管出血性大腸菌 (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*, EHEC)、腸管凝集性大腸菌 (*Enterocoagulative Escherichia coli*, EAaggEC) の5種に分類されている(10)。近年、日本では下痢原性大腸菌 (EHECも含む) による食中毒事例が増え、全食中毒発生件数の約90%までになっている(25)。特にETECによる旅行者下痢症が増えてきた。そのような中、下痢原性大腸菌による食中毒事例において、*Enterocoagulative Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1, EAST1が原因として疑われる事例も増えてきた(16)。EAST1は当初、EAaggECの病原因子の1つとして考えられていたが、1995年SavarinoらはEAST1の遺伝子である*astA*がEPEC、ETEC、EHECからも検出されたことを報告し、EAST1がEAaggECに特定された病原因子でなく、その他の下痢原性大腸菌の下痢症発現に關与する可能性を示唆した(18、23)。これら分離された大腸菌すべてに*astA*だけでなく、他の病原因子の遺伝子も確認されたことから、EAST1が実際に下痢症に關与しているかどうかは不明のままであった。

1995年秋田県で発生した集団食中毒事例から分離されたEPEC(O126 NM)は、EPECの下痢原性機構に深く關与していると考えられている遺伝子*eaeA*、及びEPEC Adherence Factor (EAF) 遺伝子を保有していなかったか、*astA*は保有していた(7、9、24)。さらに、1996年大阪で発生した集団食中毒事例から分離された大腸菌(O166 H15)は下痢原性大腸菌の指標となる既知の病原遺伝子や腸管定着因子を保有していなかったか、*astA*を染色体とプラスミド上に保有していた(12)。その後、西川が3年間(1997-1999)の大阪市内散発下痢症患者における下痢原性大腸菌の分離状況を調査した結果、*astA*だけを持ち、他の病原因子遺伝子を持たない大腸菌が35%も占めることがわかった(13)。

EAST1はアミノ酸38個からなる分子量4,100のペプチドとして*astA*にコートされている。EAST1は分子内にシステインが4残基あり、2本のシスルフィド結合を持つ可能性があること、及びETECが産生する大腸菌耐熱性毒素(*E. coli* heat-stable enterotoxin, STI)とアミノ酸配列の一部に相同性があること、さらに腸管内のクアニ