

便検体の分離培地への直接塗抹により、目的の EHEC を検出する。そして、純粋培養を確認して、O 抗原の型別とベロ毒素遺伝子の有無を確認することにより比較的簡単に EHEC を推定することが可能で、早ければ培養開始から 2 日目には結果を得ることができる (図 1、検査手順①)。しかし、今回は、検出感度を上げるために、①便の増菌培養工程の追加、②免疫磁気ビーズ法による標的 EHEC の選択的濃縮工程、及び③ EHEC の高い酸耐性能力を利用した酸処理による濃縮工程を追加した (図 1、検査手順②③)。これらの結果と他県の情報を取りまとめ、最終的な患者数、患者から分離された EHEC 株及び重症患者 (脳症と HUS、ここで脳症を発症した患者はいずれも HUS を併発している) の関係をまとめたのが図 2 である。

ここでの大きな特徴は、102 名の患者から起因菌である EHEC が検出されていないことである。しかも、この中には死亡 1 名、HUS を呈した重症患者 13 名が含まれている。また、O111 VT-のみ検出された患者が 24 名、うち死亡 1 名、HUS 患者 1 名を含んでおり、極めて高い重症化率を示した事例であった。菌が分離できないあるいは O111 VT-のみしか分離できない患者に HUS 患者が多数含まれていることから、感染症法に基づく患者認定のために、血清中の大腸菌 LPS 抗体価の検査が実施されることになった。その結果については、詳細な報告がされている (磯部) が、患者血清の抗体価が上昇したのは、ほとんどは O111 に対するものであった。このことから、今回の食中毒では、O111 と O157 が検出されていたが、食中毒の起因菌は O111 であることを支持する結果であった。

## 2. O111VT2 と O111VT-株の関係

本食中毒事例で最初に実施した PFGE で、O111VT2 と O111VT-株は、1 つのバンドの移動度が増えているだけで、その他のバンドについてはすべて一致していることから、遺伝的にきわめて近いことが推定されていた (図 8. A. a1 と a5 を参照)。また、検査途中の疑いコロニーの VT2 遺伝子の PCR により、VT2 遺伝子の増幅量が極めて少ない株が存在すること (図 11. A 及び B)、O111VT2 と判定した単一コロニーから培養し、寒天中に穿刺した保存株を作成して、後日、PFGE を実施すると、a1 型を示す O111VT2 が O111VT-型である a5 型となっている株があることなど何度か経験した (データ未提示)。このような現象がどうして起こるのか当初全く説明できなかったため、検査工程が長くなることもしばしばであった。例えば、O111VT2 再検索作業のなかで、O111 と決定されたコロニーを PCR によって VT

遺伝子の有無を調べる際、容易に VT2 陽性株が分離できた検体 (表. TIH086、TIH122) と、便増菌液は PCR で VT2 陽性となっても、約 800 個のコロニーを検索しても VT2 陽性株が検出されなかった検体 (表 1. TIH050 の元平板と便検体からの検索) が観察された。

そこで、O111VT2 及び O111VT-のゲノム配列の解析 (関塚) が実施された結果、その違いは、VT2 プロフェージ配列の有無のみでその他の配列はほとんど一致していた。また、PFGE による 1 バンドの移動度の変化から推定される DNA サイズの変化は約 60K 程度であり、これまで報告されている VT2 フェージの大きさとはほぼ同じであり、今回の食中毒の O111VT-株は、VT2 プロフェージの配列以外は、O111VT2 株と遺伝的に極めて近いと考えられた。以上のことから、O111VT2 には、プロフェージの状態を安定に保つことができない不安定なプロフェージが存在することが示された。しかし、O111VT2 には安定に保持されているプロフェージとして存在している株も多数分離されている。このような 2 種類のプロフェージの存在は、VT2 の生産量にも影響し、図 5 の TIH029 検体の O111VT2 の生産量が低いのは、この実験中に VT2 プロフェージの脱落が起こっているためと推定された。また、その逆で O111VT-株であっても、一部不安定なプロフェージが残っていたため、わずかな VT2 の産生が検査途中に観察されるなど (表 4、TIH086 O111VT-の VT2 産生)、検査結果に影響し、その結果について苦慮することとなった。一方で安定なプロフェージであると推定される TIH005 及び TIH395 の O111VT2 株からは、効率よく VT2 が産生される。さらに、安定株と不安定株や O111VT-株の MMC 添加実験終了後の培養上清からは、生きた菌はほとんど回収されないことから、患者の大腸内で何らかの刺激により強いプロフェージ誘導が起こると、それに伴い溶菌、併せて大量の毒素が放出される可能性が推定される。今回の食中毒患者の 102 名からは菌が検出できなかったことの説明として、強い溶菌が関与していると推定された。しかし、重症化との関係と VT2 プロフェージの安定、不安定がどのように関連しているか、今後、さらに検討する必要がある。

## 3. 分離株の特徴

これまで EHEC の病原性因子のなかで特に HUS との関連が指摘されているのは、VT2 及び *eaeA* である。今回の O111 及び O157 については、どちらの因子も保持していることが当初から判明していたが、多数の死亡者を出した理由を考えると、これだけで説明しにくいことが指摘され、別な重症化因子の存在に興味を持たれていた。そ

ここで、病原性大腸菌を特徴づける病原因子として知られる遺伝子と最近報告された、2つの重症化関連遺伝子 (*norV* と *ospG*) の存在を PCR によって調べた (表 2)。NorV は、一酸化窒素(NO)還元酵素をコードする遺伝子で、ベロ毒素遺伝子の発現を阻害する NO を還元する酵素である。2006 年に米国で HUS の発症率が高かった EHEC 集団食中毒事例から分離された菌株の解析から、*norV* 遺伝子が重症化に関与する病原因子である可能性が示唆されていた (Kulasekara, et al. *Infect.Immun.* 77, 3713, 2009)。今回の食中毒事例から分離された株から *norV* 遺伝子については、O111 株に検出され、O157 株では検出されなかった。また、*ospG* 遺伝子については、もともと赤痢菌の 3 型分泌機構のエフェクターとして報告され、EHEC においては、O111 にのみその機能的遺伝子が高頻度に存在することが報告されており、O111 独自の病原性の可能性が指摘されていた (Nobe, et al. *Microbiol.*, 155,3214,2009)。しかし、今回 O111 だけでなく、O157 株も含めて、遺伝子が検出された。この病原性遺伝子の存在と、重症化要因との関連で興味があるが、PCR の結果は、その遺伝子が機能しているかどうかの判断ができないためさらに検討を要する。

本食中毒が発生しているときにドイツを中心に発生した EHEC O104 による集団感染事例では、CTX-M-15 型の ESBL を保持していたことが報告されていたが、今回、検査した菌株はそのような高度な耐性は検出されなかった (表 3)。

#### 4. 毒素産生性

MMC 15 $\mu$ g/mL という高濃度で誘導したときの生育曲線 (図 5) と培養後の培養液中の毒素量を測定した (表 5)。供試菌は、O111VT2、O111VT-、O157VT1,2 と肉から分離した O8 VT2 (図 5 及び図 6、Food3)である。O111 株については、全て、MMC により速やかに濁度が減少し、溶菌していることが示された。また、それと連動して、VT2 の産生量も増大するが、参照株である EC2429 と比べると、今回の食中毒の起因菌が特別、産生量が多いということではなかった。また、O157 株についても MMC 誘導により VT2 の産生量は増大するが、O111 株と比べると少なかった。しかし、今回、実験に使用した O111VT2 株のうち、TIH029 は、MMC 誘導でも VT2 の産生量はほとんど上昇しなかった。これは、不安定な VT2 のプロファージを持つ O111 株であると推定した。

#### 5. 集団発生株の遺伝的な関係

O111 株及び O157 株については、PFGE と一部は IS-Printing System (但し、O157 のみ) で型別を行った。PFGE によるパターン解析とその分布に

については、図 7 及び図 8 に示したが、O111 及び O157 で一部、パターンが異なる株も見られたが、いずれも同じ集団発生株であると推定した。従って、単一暴露からスタートして広がった可能性が考えられる。また、O157 株については、同一患者から、毒素型の異なる株が検出されている。これは、O157 に存在する VT1 プロファージ、VT2 プロファージも、O111 の VT2 プロファージと同様、脱落現象が起こっている可能性が考えられる。

このように 2 つの血清群の EHEC の存在と多様な毒素型の存在も今回の食中毒の特徴の一つであるが、高い重症化率との関係は不明である。今後の検討が必要である。

#### 6. 便中ベロ毒素の産生

今回、毒素検出に用いた便検体は、重症患者の検体を中心に選定したが、検体の採便日、抗菌薬投与履歴等、必ずしも一定でなく、今回得られた結果をどのように取り扱うか慎重に判断する必要がある。毒素が検出されない検体のうち、5 検体は、便のメタゲノム解析が実施されており、いずれの検体からも O111 由来の配列断片が検出されていると報告された。菌が検出されないことと DNA 断片が検出されているということと、今回の O111 株を用いた強い溶菌現象と毒素産生様式との関連に興味を持たれる。今後、これらのデータをさらに検討することにより、菌が分離されない EHEC 感染症を疑った場合の新しい検査法の開発等に利用できる可能性がある。

#### E. 結論

集団食中毒事例の検体 (便検体、食品検体等) から、EHEC O111 及び EHEC O157 を検出し、細菌学的な解析を行った。その結果、O111 VT2 が起因菌であった。また、本菌は、毒素産生と連動した溶菌により、菌が分離できないことと VT2 プロファージとして安定に継代される株と脱落する不安定な VT2 プロファージが存在することも示された。さらに、PFGE 解析により、未開封の原料肉から分離された O111VT-を含めて、O111 及び O157 はそれぞれ共通の集団発生株であることが推定された。

このような多様性が今回の食中毒事例の特徴であるが、細菌学的な特徴からは高い重症化率の説明はまだ、出来ていない。今後、更なる検討が必要である。

#### F. 健康危険情報

とくになし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

## 2. 学会発表

- 1) 磯部順子 焼肉チェーン店で発生した腸管出血性大腸菌 O111 による集団食中毒の概要 第 15 回腸管出血性大腸菌感染症研究会 大阪北浜フォーラム 2011,7,19 大阪市
- 2) 綿引正則 腸管出血性大腸菌の最近の知見について 平成 23 年高岡厚生センター管内職域管理栄養士等研修会 2011,7,21 富山県高岡市 (高岡総合庁舎)
- 3) 磯部順子 焼肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒の概要 第 32 回日本食品微生物学会学術総会 2011,10,6-7 東京都 (東京都タワーホテル船堀)
- 4) 磯部順子 焼肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒の概要 第 60 回九州地区獣医師大会 2011,10,30, 長崎市 (長崎新聞ホール)
- 5) 磯部順子 富山県における EHEC 検査の実態 焼肉酒家えびすにおける集団食中毒事例の場合 第 38 回地方衛生研究所近畿支部細菌部会研究会 2011,11,2, 神戸市 (神戸市勤労会館)
- 6) 磯部順子 2011EHEC 市中アウトブレイクについて 第 18 回中部地区微生物検査研究班宿泊研修会 2011,11,19 富山県 (ウイングウイング高岡)
- 7) 磯部順子 生食用食肉を原因とする腸管出血性大腸菌による食中毒と検査 平成 23 年地域保健総合推進事業関東甲信越静岡ブロック専門家会議 2012,1,24 静岡市 (静岡県男女共同参加センター)
- 8) 磯部順子 富山県における O111 による集団食中毒事例での血清中の抗大腸菌 LPS 抗体価 平成 23 年度希少感染症診断技術研修 2012,2,23 東京都新宿区 (国立感染症研究所戸山庁舎)
- 9) 磯部順子 腸管出血性大腸菌集団感染 2011 年富山 O111 大阪病院機能向上研究会 2012,3,10 大阪市 (大阪オーバルホール)
- 10) 綿引正則、磯部順子、木全恵子、嶋智子、金谷潤一、山田三紀子、佐多徹太郎 志賀毒素産生性大腸菌 O111 による集団食中毒事例に関連した Stx2 プロファージの脱落現象の証拠 第 85 回日本細菌学会総会 2012,3,27 長崎市 (長崎ブリックホール)
- 11) 磯部順子、木全恵子、嶋智子、金谷潤一、綿引正則、佐多徹太郎 志賀毒素産生性大腸菌 O111 による集団食中毒事例を振り返って 技術講習会 第 85 回日本細菌学会総会 2012,3,27, 長崎市 (長崎ブリックホール)

## 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

表 1. 富山県衛生研究所で実施した EHEC 再検索結果

対象検体	検体No.	菌分離報告 <sup>(1)</sup>	菌検索目的	再検索結果 <sup>(2)</sup>
元平板 <sup>(3)</sup>	TIH004	陰性	O157, O111検索	O111VT-
	TIH009	陰性	O157, O111検索	未検出
	TIH017	陰性	O157, O111検索	未検出
	TIH050	O111VT-	O157, O111検索	未検出
	TIH058	陰性	O157, O111検索	O111VT2
便検体	TIH001	O157 VT1, O157 VT1,2	O111検索	O111 VT2, O111 VT-
	TIH002	O111 VT2, O111VT-, O157 VT1	O157検索	O111VT-
	TIH005	O111 VT2, O111VT-	O157検索	未検出
	TIH011	O157 VT1,2	O111検索	O111VT-
	TIH013, TIH022, TIH034	O111 VT2	O157検索	未検出
	TIH029	O111VT-, O157 VT1,2	O111検索	O111VT2
	TIH031	O111 VT2	O157検索	O111VT-
	TIH037	O111VT, O157 VT2, O157 VT1,2	O111検索	未検出
	TIH039	O111 VT2, O111VT-	O157検索	O157 VT1,2
	TIH040	O111 VT2, O111VT-	O157検索	未検出
	TIH044	O111VT-, O157 VT1,2	O111検索	未検出
	TIH048	O111 VT2, O111VT-	O157検索	未検出
	TIH057	O111 VT2	O157検索	O157 VT1,2
	TIH061	O157 VT1	O111検索	未検出
	TIH070	O111 VT2, O111VT-	O157検索	未検出
	TIH071	O111 VT2, O111VT-	O157検索	未検出
	TIH072	陰性	O157, O111検索	O111VT-
	TIH086	O111VT-	O157, O111検索	O111 VT2
	TIH088	O111 VT2, O111VT-	O157検索	未検出
	TIH093	O157 VT1,2	O111検索	O111VT-
	TIH099	陰性	O157, O111検索	O111 VT2, O111VT-
	TIH122	O111VT-	O157, O111検索	O111 VT2
		TIH018, TIH050, TIH106, TIH107, TIH111, TIH117, TIH123, TIH135, TIH214, TIH228, TIH327, TIH328, TIH392	O111VT-	O157, O111検索

(1) 検査機関の検査結果

(2) 新規の検索結果のみ記載。すでに報告されている分離菌が検出された場合も未検出と表示。

(3) 検査機関である厚生センター、保健所や医療機関で患者便から検索のために塗抹した寒天分離培地

表2. 病原性大腸菌の病原性因子、重症化関連遺伝子の PCR による検索

検体番号	血清群	毒素型	PCR														
			stx1	stx2	eaeA	CVD 432	aggR	invE	elt	esth	estp	bfp	EAF	astA	hlyA	ospG	norV
TIH084	O111	VT-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
TIH084	O111	VT2	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
TIH036	O157	VT1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
TIH096	O157	VT1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
TIH036	O157	VT1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
TIH046	O157	VT1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
TIH081	O157	VT1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
TIH081	O157	VT2	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
EC2429	O111	VT1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
EC3298	O111	VT1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
PCR法(*)			A,B,C	A,B,C	A,B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	C	A	A

(\*)判定に使用したPCRは以下の通りである。

- A. 単独PCRによる検出
- B. マルチプレックスPCR法
- C. IS-printing System (Toyobo) 但し、O157用キットを使用

表3. 分離株の薬剤感受性試験結果

検体番号	血清群	毒素型	TE	K	CF	GM	C	AM	MI	CZ	FF	S	CL	NA
			R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH001	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH006	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH029	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH047	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH051	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH084	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH086	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH097	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH102	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH122	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH395	O111	VT2	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH004	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH047	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH050	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH084	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH086	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH091	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH097	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH102	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH107	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH122	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH451	O111	VT-	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S
TIH029	O157	VT1,2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH036	O157	VT1,2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH046	O157	VT1,2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH052	O157	VT1,2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH081	O157	VT1,2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH097	O157	VT1,2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH036	O157	VT1	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH091	O157	VT1	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH095	O157	VT1	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH096	O157	VT1	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH097	O157	VT1	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH051	O157	VT2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S
TIH081	O157	VT2	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S

R:耐性 I: 中間 S:感性

TE:テトラサイクリン, K:カナマイシン, CF:シプロフロキサシン, GM:ゲンタマイシン, C:クロラムフェニコール, AM:アンピシリン, MI:ミノサイクリン, CZ:セファゾリン, FF:ホスホマイシン, S:ストレプトマイシン, CL:コリスチン, NA:ナリジクス酸

表4. 分離株のベロ毒素産生試験とコリシン活性

検体番号	血清群	毒素型	毒素産生性						コリシン活性 (*)
			CAYE		ポリミキシンB		MMC		
			VT1	VT2	VT1	VT2	VT1	VT2	
TIH001	O111	VT2	<2	64	<2	64			
TIH006	O111	VT2	<2	64	<2	64			
TIH029	O111	VT2	<2	64	<2	64			
TIH047	O111	VT2	<2	32	<2	32			
TIH051	O111	VT2	<2	<2	<2	<2			
TIH084	O111	VT2	<2	64	<2	16			
TIH086	O111	VT2	<2	64	<2	64			
TIH097	O111	VT2	<2	64	<2	64			
TIH102	O111	VT2	<2	<2	<2	2			
TIH122	O111	VT2	<2	<2	<2	2			
TIH395	O111	VT2	<2	32	<2	16	<2	16,384	+
TIH001	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH004	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH047	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH050	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH084	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH086	O111	VT-	<2	8	<2	8			
TIH091	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH097	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH102	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH107	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH122	O111	VT-	<2	<2	<2	<2			
TIH451	O111	VT-	<2	<2	<2	<2	<2	<2	+
TIH029	O157	VT1,2	32	32	1,024	64	32	2,048	-
TIH036	O157	VT1,2	32	64	1,024	256			
TIH046	O157	VT1,2	32	128	2,048	512			
TIH052	O157	VT1,2	64	256	4,096	1,024			
TIH081	O157	VT1,2	64	32	1,024	256			
TIH097	O157	VT1,2	64	16	256	256			
TIH036	O157	VT1	64	<2	1,024	<2	64	<2	-
TIH091	O157	VT1	64	<2	512	<2			
TIH095	O157	VT1	256	<2	256	<2			
TIH096	O157	VT1	64	<2	256	<2			
TIH097	O157	VT1	64	<2	2,048	<2			
TIH051	O157	VT2	<2	64	<2	256			
TIH081	O157	VT2	<2	128	<2	256	<2	8,192	-
EC2429	O111	VT1,2	64	8	2,048	128	256	8,192	-
EC3298	O111	VT1,2	32	64	512	256	256	32,768	+

(\*) コリシン活性の指示菌として大腸菌K-12 C600を用いた。+, 陽性; -, 陰性

表5. 分離株の MMC 添加誘導試験によるベロ毒素の産生

No.(*)	検体名	O血清群・毒素型	MMC添加	RPLA (titer)	
				VT1	VT2
1	TIH005	O111 VT2	-	<2	2
			+	<2	2,048
2	TIH395	O111 VT2	-	<2	2
			+	<2	2,048
3	TIH029	O111 VT2	-	<2	2
			+	<2	32
4	EC2429	O111 VT1,2	-	4	8
			+	256	8,192
5	TIH084	O111 VT-	-	<2	<2
			+	<2	<2
6	Food31	O8 VT2	-	<2	<2
			+	<2	2
7	TIH029	O157 VT1,2	-	4	2
			+	128	1,024
8	Sakai	O157 VT1,2	-	8	16
			+	512	1,024
9	EC2610	O157 VT1,2	-	8	8
			+	512	2,048

(\*) 図5中の検査検体 No と同一

表6. 本食中毒事例で分離された腸管出血性大腸菌 O111 及び O157 の IS-Printing による型別

検体番号	血清群 毒素型	IS Printing						PFGE
		IS Code-1	IS Code-2	eaeA	hlyA	stx1	stx2	
TIH004	O111 VT-	NA*	NA	-	+	-	-	a5
TIH050	O111 VT-	NA	NA	-	+	-	-	a5
TIH084	O111 VT-	NA	NA	-	+	-	-	a5
TIH001	O111 VT2	NA	NA	-	+	-	+	a1
TIH051	O111 VT2	NA	NA	-	+	-	+	a1
TIH084	O111 VT2	NA	NA	-	+	-	+	a1
TIH086	O111 VT2	NA	NA	-	+	-	+	a1
TIH097	O111 VT2	NA	NA	-	+	-	+	a1
TIH122	O111 VT2	NA	NA	-	+	-	+	a1
TIH029	O157 VT1,2	213577	610644	+	+	+	+	b1 b3
TIH036	O157 VT1,2	613577	610644	+	+	+	+	b2 b6
TIH046	O157 VT1,2	613577	610644	+	+	+	+	b6
TIH052	O157 VT1,2	613577	610644	+	+	+	+	b6
TIH081	O157 VT1,2	213577	610644	+	+	+	+	b3
TIH097	O157 VT1,2	213577	610644	+	+	+	+	b3
TIH036	O157 VT1	213577	610644	+	+	+	-	b3
TIH091	O157 VT1	213577	610644	+	+	+	-	b3
TIH095	O157 VT1	213577	610644	+	+	+	-	b3
TIH096	O157 VT1	213577	610644	+	+	+	-	b9
TIH097	O157 VT1	213577	610644	+	+	+	-	b3
TIH051	O157 VT2	613577	610644	+	+	-	+	b3
TIH081	O157 VT2	213577	610642	+	+	-	+	b3

\*) not accepted

腸管出血性大腸菌検査手順

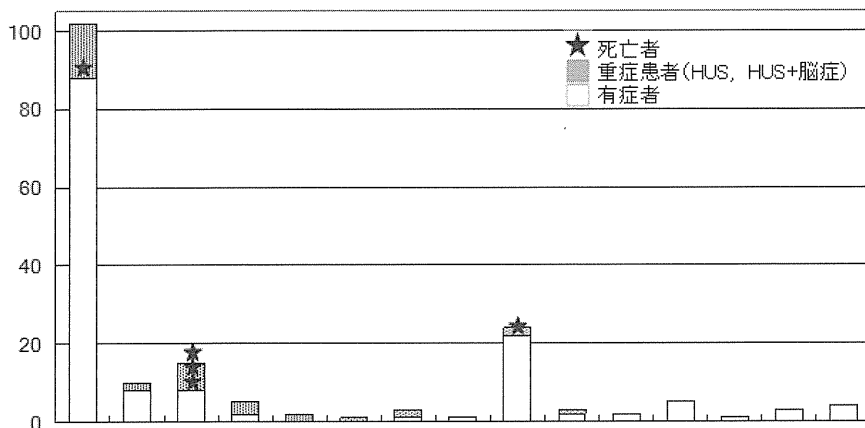
(時間)	検査手順①	(時間)	検査手順②	(時間)	検査手順③
1日目	検体(糞便) ↓ ↓ 分離培養 CT-SMAC平板 CT-SBMAC クロモアガーO157	1日目	検体(糞便)、分離平板等 ↓ ↓ 増菌培養 mEC培地、35°C	1日目	検体(食品) ↓ ↓ 増菌培養 mEC培地、ノビオシン加mEC培地 35°C、42°C
2日目	↓ 疑わしいコロニー5~6ヶ約菌 ↓ 大腸菌免疫血清とためし凝集反応 O157、O111 ↓ PCRでベロ毒素遺伝子検査 関係機関へ報告	2日目	↓ (PCRでベロ毒素遺伝子検査) ↓ 免疫磁気ビーズ法による濃縮 ↓ 酸処理 ↓ 分離培養 CT-SMAC平板 CT-SBMAC クロモアガーO157	2日目	↓ PCRでベロ毒素遺伝子検査 ↓ 免疫磁気ビーズ法による濃縮 ↓ 酸処理 ↓ 分離培養 CT-SMAC平板 CT-SBMAC クロモアガーO157
3日目	↓ 生化学的性状検査	3~4日目	↓ 疑わしいコロニー約菌 ↓ SMACorTSA	3~4日目	↓ 疑わしいコロニー約菌 ↓ SMACorTSA
4日目	確定 腸管出血性大腸菌確定	↓ 大腸菌免疫血清とためし凝集反応 O157、O111 ↓ PCRでベロ毒素遺伝子検査	↓ 大腸菌免疫血清とためし凝集反応 O157、O111 ↓ PCRでベロ毒素遺伝子検査	↓ 大腸菌免疫血清とためし凝集反応 O157、O111 ↓ PCRでベロ毒素遺伝子検査	
以降		4~5日目	↓ 生化学的性状検査 ↓ ためし凝集反応(O111,O157)	4~5日目	↓ 生化学的性状検査 ↓ ためし凝集反応(O111,O157)
		5~6日目	確定 ↓ 生化学的性状検査 腸管出血性大腸菌確定 関係機関へ報告	5~6日目	確定 ↓ 生化学的性状検査 腸管出血性大腸菌確定 関係機関へ報告

図1. 腸管出血性大腸菌の検査手順の概要

検査手順①: 主に厚生センター等の検査機関で結果を急ぐときの手順

検査手順②: 今回の食中毒事例で、富山県衛生研究所で便検体等の臨床分離株から EHEC の検出感度を重視した手順

検査手順③: 今回の食中毒事例で、主に食肉から EHEC 検索を行う場合に採用した手順



	VT2	VT1	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	VT1,2	合計
<b>O111</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52
<b>O157</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<b>死亡者 (脳症)</b>	1	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	5
	(1)		(3)						(1)						(5)
<b>HUS (脳症)</b>	13	2	4	3	2	1	2	0	1	1	0	0	0	0	29
	(6)	(1)	(3)	(2)	(2)	(1)	(1)								(16)
<b>有症者</b>	88	8	8	2	0	0	1	1	22	2	2	5	1	3	147
<b>合計 (脳症)</b>	102	10	15	5	2	1	3	1	24	3	2	5	1	3	181
	(7)	(1)	(6)	(2)	(2)	(1)	(1)		(1)						(21)

図2. 食中毒患者から検出された腸管出血性大腸菌の組合せと患者数



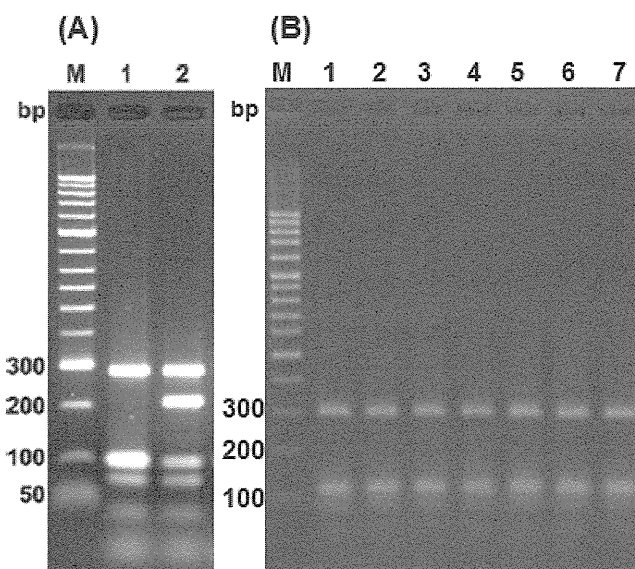


図3. PCR-RFLP による EHEC O111 株の H 抗原型の決定

A. *J.Clin.Microbiol.*, 45:333-339(2007)中の Fig.2 から一部抜粋

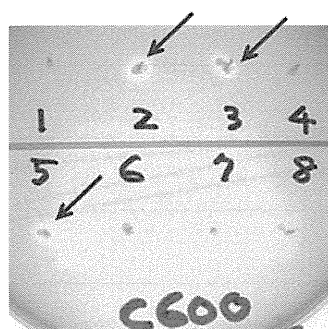
Lanes: M 100-bp 分子量マーカー 1.H8a 型 2.H8b 型

B. 制限酵素 *HhaI* 消化により得られた EHECO111 の PCR-RFLP パターン

Lanes: M 100-bp 分子量マーカー

1.TIH086 2.TIH097 3.TIH084 4.TIH395 5.TIH451

6.EC2429 7.EC3298



- |                             |                             |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1. E.coli C600              | 5. EC3298: E.coli O111VT1,2 |
| 2. E489: E.coli O111VT2     | 6. E045: E.coli O157VT1,2   |
| 3. E488: E.coli O111VT-     | 7. E123: E.coli O157VT1     |
| 4. EC2429: E.coli O111VT1,2 | 8. E452: E.coli O157VT2     |

図4. 分離菌のコリシン活性試験

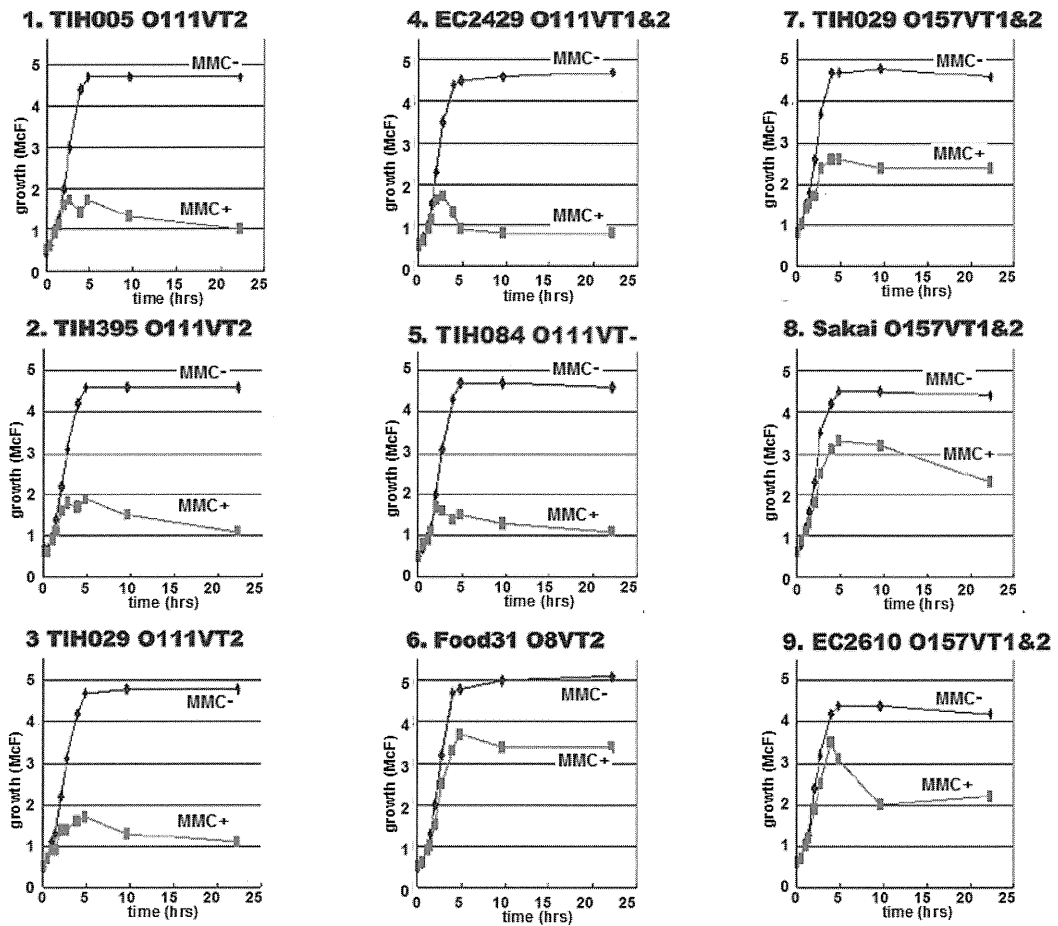


図5. 分離菌の MMC 添加による生育に対する影響  
 MMC-:MMC 無添加、MMC+:MMC 濃度 15 $\mu$ g/mL

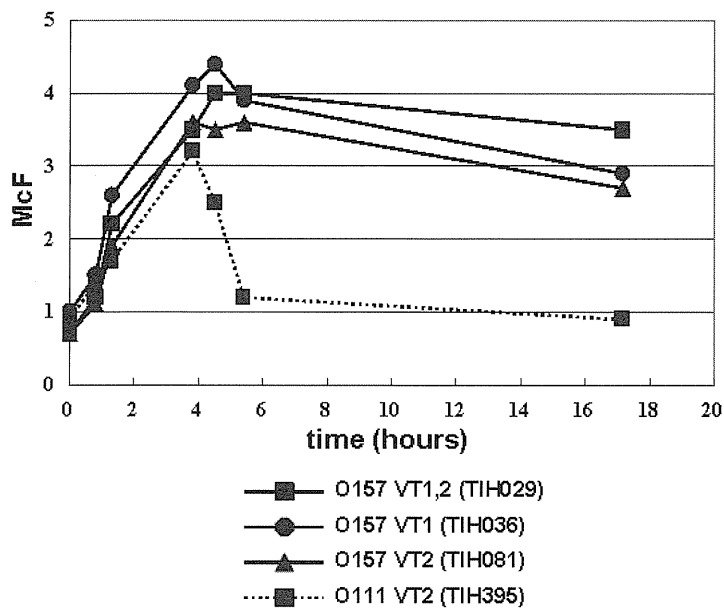


図6. 本事例分離 EHEC の MMC 添加による生育に対する影響  
 MMC の添加量は、2 $\mu$ g/mL とした。

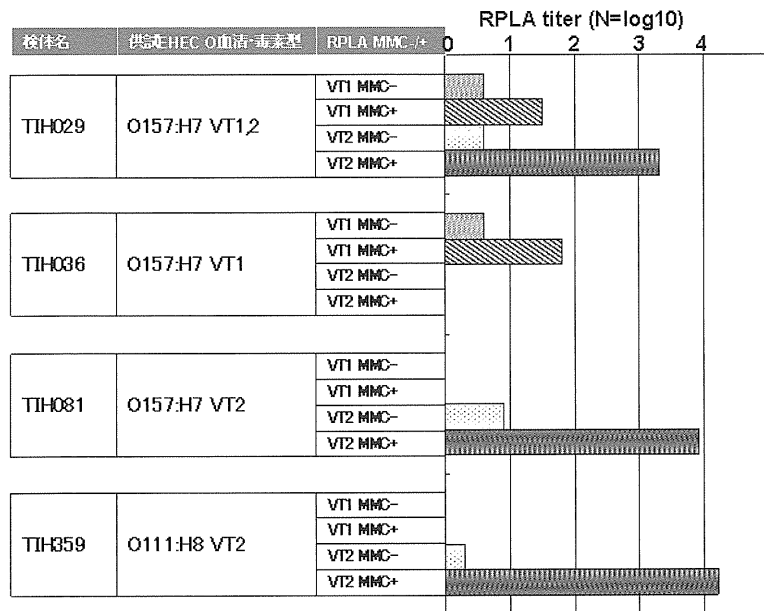
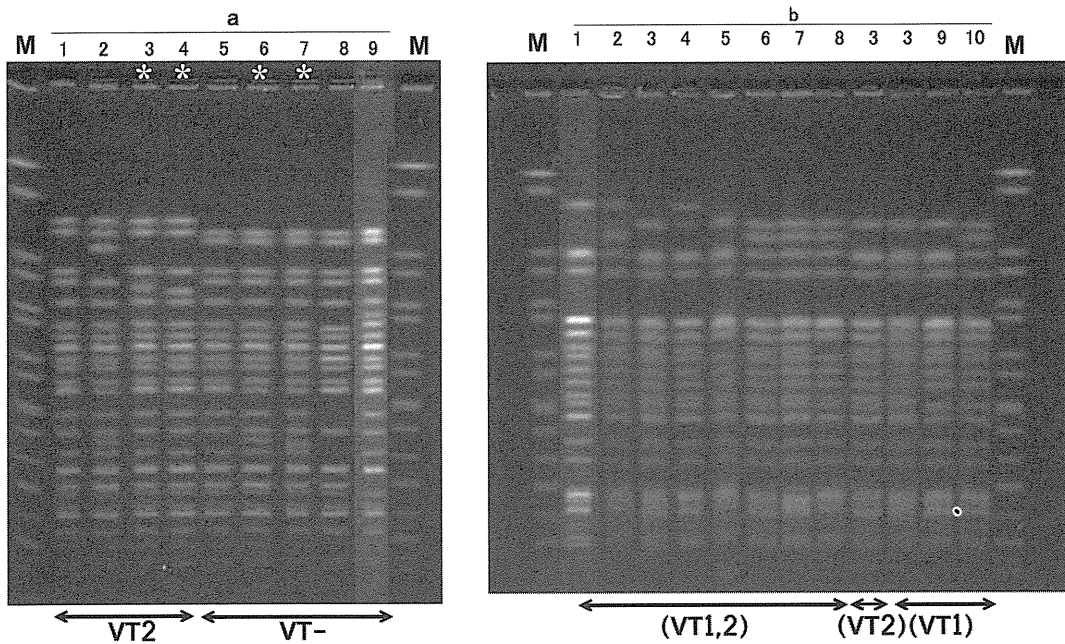


図7. 本事例分離 EHEC の MMC 添加による培養上清中のペロ毒素量



A. EHEC O111 分離株

B. EHEC O157 分離株

図8. 本食中毒事例で分離された腸管出血性大腸菌 O111 及び O157 の PFGE 型

\*) a3, a4, a6 及び a7 型については、検体から検出された最初の型とは異なり、分離株培養中に検出されたバリエーション型である。

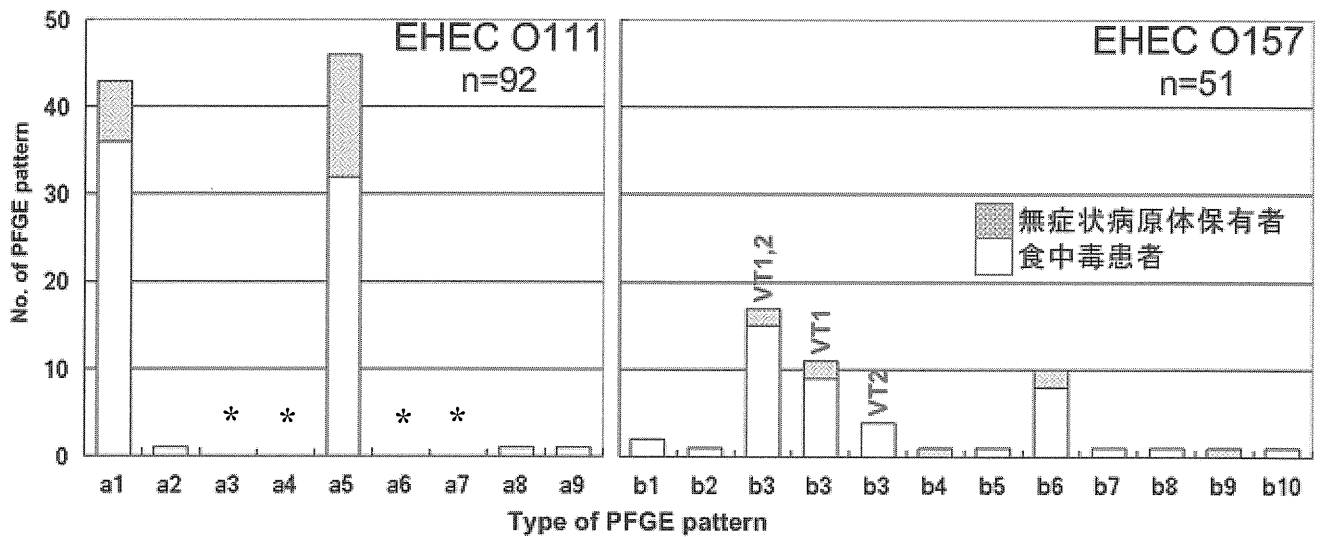


図 9. 本食中毒事例で分離された EHEC 株の PFGE 型の検出頻度

\*) a3, a4, a6 及び a7 型については、検体から最初に検出された型と異なり、分離株培養中に検出されたバリエーション型であり、ここでの集計から除外した。

検体番号	症状	分離株	喫食日	発病日	採便日	メタゲノム解析	ベロ毒素 ELISA OD			
							0	1	2	3
TIH036	下痢、腹痛、血便、嘔吐	O157(VT1), O157(VT1,2), O111(VT-)	4/23	4/26	4/27	○	0	1	2	3
TIH004 (重症)	腹痛、血便、HUS	O111(VT-)	4/23	4/27	4/27	○	0	1	2	3
TIH017 (重症)	下痢、腹痛、血便、嘔吐	No detect	4/22	4/25	5/2		0	1	2	3
TIH039	下痢、腹痛、血便、嘔吐	O157(VT1,2), O111(VT2), O111(VT-)	4/23	4/27	4/28	○	0	1	2	3
TIH050 (重症)	下痢、血便	O111(VT-)	4/22	4/29	4/30	○	0	1	2	3
TIH092 (重症)	下痢、腹痛、嘔吐、HUS、脳症	No detect	4/23	4/27	4/30	○	0	1	2	3
TIH010 (重症)	下痢、腹痛、HUS	O157(VT1,2), O111(VT2), O111(VT-)	4/22	4/25	4/27		0	1	2	3
TIH034	下痢、腹痛、血便	O111(VT2)	4/23	4/25	4/28		0	1	2	3

図 10. 患者便検体のベロ毒素の検出

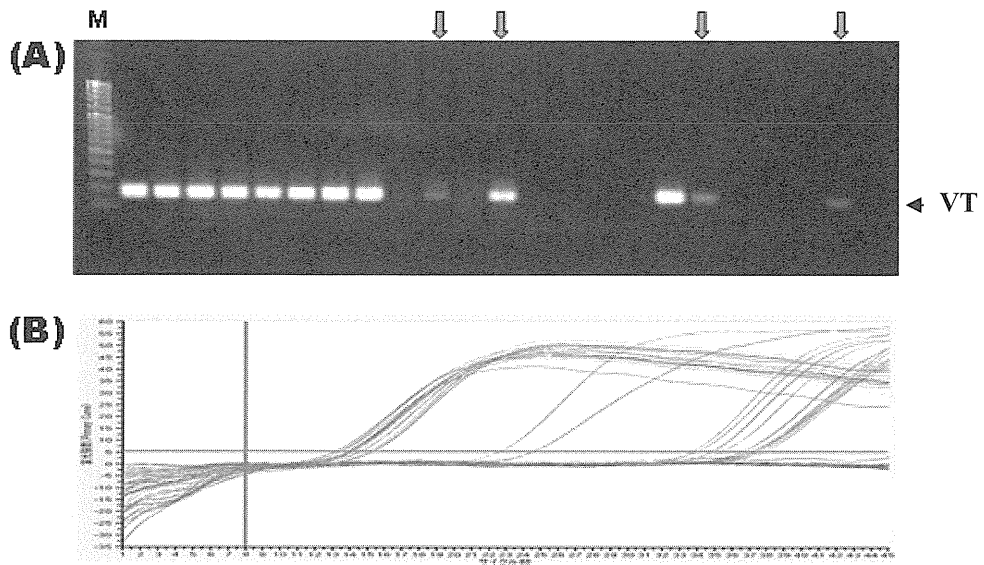


図 11. O111 株の VT 遺伝子の PCR によるスクリーニング試験

(A)ベロ毒素遺伝子の PCR 産物のアガロース電気泳動

(B)ベロ毒素遺伝子のリアルタイム PCR によるスクリーニング

# 分離株の病原特異性解明のための集団遺伝学的統計解析

研究協力者 小西良子、工藤由起子、山崎朗子（国立医薬品食品衛生研究所）

**研究要旨** えびす食中毒由来の腸管出血性大腸菌 O111 の病原特異性解明を目的として、集団遺伝学的統計解析を行った。その結果、えびす食中毒由来の O111 株は、以前の感染事例での O111 株と同じ遺伝型であり、特異的な特徴は認められなかった。ただし、以前の感染事例では、VT 遺伝子を保有しない O111 株は VT を保有する株とは異なる遺伝型である結果であったが、えびす食中毒由来の O111 株は VT 遺伝子の保有の有無にかかわらず同一の遺伝型であり、VT 遺伝子以外の病原因子が菌を特徴づける重要な要素であると思われる。また、えびす食中毒の死者が多く発生した地域の株に特異的な性質は特に示されなかった。

## A. 研究目的

平成 23 年 4 月に発生した焼肉チェーン店「焼肉酒家えびす」で提供されたユッケを原因とする腸管出血性大腸菌 O111 および O157 食中毒（以下、えびす食中毒）では、患者数 181 人、うち死者が 5 人発生し重篤な症状を伴う患者が多数報告された。血清群 O157 は一部患者から分離されたものであり、主要な原因菌としては血清群 O111 であるとされた。このため、本研究では、血清群 O111 を対象とし、えびす食中毒での患者およびユッケ原料肉分離株を他事例等からの分離株と比較し、本食中毒由来株の特異性について検討した。

## B. 研究方法

えびす食中毒由来の腸管出血性大腸菌 O111 の病原性について、腸管出血性大腸菌について以前より報告されている既知の病原因子遺伝子を標的とした集団遺伝解析法により検討した。

### 1. 供試菌株

本研究で用いた腸管出血性大腸菌 O111 菌株を表 1 に示した。えびす食中毒の発生した 4 地方自治体（石川県、富山県、福井県、横浜市）および他 2 地方自治体（愛知県、埼玉県）からえびす食中毒由来株およびその他食中毒由来株の計 49 株の分与を受けた。また、牛肉から分離された 1 株を加え、計 50 株を供試した。

### 2. 病原因子遺伝子の検出

表 2 に示された病原因子遺伝子 15 種類を標的遺伝子とした。

TSB 培地を用いて増菌した分離株の菌液を遠心分離し得られた沈渣を蒸留水または Tris-EDTA 緩衝液で懸濁し、100℃にて 10 分間加熱したのち、氷上で急冷し、遠心分離した上清をゲノム DNA 試料とした。保存は -20℃で行なった。

各病原因子遺伝子は polymerase chain reaction (PCR)法による標的遺伝子の増幅の後、アガロース

ゲル電気泳動法で検出した。15 種類の病原因子遺伝子のうち、*saa*、*espP*、*subA* については multiplex PCR 法を用いたが、*espP* については個別にも PCR 法を行い、標的遺伝子の増幅を確認した。

### 3. 集団遺伝解析法を用いた病原性解析

えびす食中毒由来株について、表 2 の 15 種類の各病原因子遺伝子保有の有無から structure (<http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>)、CLUMPP (<http://www.stanford.edu/group/rosenberglab/clumppDownload.html>)、distruct (<http://www.stanford.edu/group/rosenberglab/distruct.html>)を用いた集団遺伝解析手法により、その他食中毒由来株との病原性に関する相違を遺伝学的に検討した。

なお、VT 遺伝子(*stx variants*)に関しては、菌培養の際に遺伝子の脱落が起こることが知られているため、集団遺伝解析には VT 遺伝子 6 種類を除外した 9 種類の病原因子遺伝子を用いた解析も行った。

### 4. 食中毒発生地域間における病原性相違の検討

えびす食中毒に関して、臨床事例において発生地域による重症度の相違が報告されたため、えびす食中毒由来株間での各病原因子遺伝子の保有率を由来地域別に検討した。

（倫理面への配慮）

本研究では、患者個人の情報を対象にしないため、倫理上の問題は発生しない。

## C. 研究結果

表 1 に示された分離株の由来と VT 遺伝子保有の情報から、えびす食中毒由来 VT 遺伝子保有株 3 株、えびす食中毒由来 VT 遺伝子非保有株 14 株、その他食中毒由来 VT 遺伝子保有株 14 株、その他食中毒由来 VT 遺伝子非保有株 19 株の 4 集

団に分類し、標的病原因子遺伝子の保有率を比較した。

VT 遺伝子保有株においてはえびす食中毒由来株で *stx2* 遺伝子のみが、一方、その他食中毒由来株では *stx1*、*stx2*、または *stx1*・*stx2* の保有が認められ、表 1 における VT 遺伝子保有が確認された。*stx2c*、*stx2d*、*stx2e*、*stx2f* についてはどの集団にも保有が認められなかった(表 3)。

VT 遺伝子以外の毒素関連遺伝子である *subA* については、VT 遺伝子非保有のえびす食中毒由来、その他食中毒由来株の両株にそれぞれ 21.4%、36.8% の保有率で認められ、*ehxA* については VT 遺伝子保有の有無にかかわらず、えびす食中毒由来株すべてに認められた。一方、その他食中毒由来株では、VT 遺伝子の保有株の 64.3% が *ehxA* 遺伝子を保有していたが、VT 遺伝子非保有株には 5.3% の保有率であった。

付着因子については、すべてのえびす食中毒由来株と、VT 遺伝子保有のその他食中毒由来株の 3 集団での *eae*、*saa*、*iha* 各遺伝子保有率は同様の相を呈し、*eae*、*iha* は 100%、*saa* は 0% であったのに対し、VT 遺伝子非保有のその他食中毒由来株では、*eae*、*iha* の保有は 5.3% にとどまった。

III 型分泌装置関連遺伝子については、えびす食中毒由来株において *espP* 遺伝子の保有に関して、VT 遺伝子非保有株にのみ 7.1% の保有が見られたことのみが相違したが、*espB*、*espD*、*tir* については同様に 100% の保有率であった。その他食中毒由来株については、VT 遺伝子保有株ではえびす食中毒由来株と類似し、*espB*、*espD*、*tir* について、それぞれ 100%、85.7%、100% の保有率を示し、*espP* については 7.1% であった。一方、VT 遺伝子非保有株では、*espB*、*espD*、*tir* で 5.3%、*espP* で 10.5% の保有率が認められ、ほかの 3 集団に比べ異なる傾向を示した(表 4)。

以上の 15 種類の病原因子遺伝子保有の有無から考えられる遺伝型について、集団遺伝解析法を用いて供試菌株 50 株すべてを用いてクラスター分類を行ったところ、保有遺伝子の組み合わせから、二つのクラスター(クラスター1およびクラスター2)に分類された(図 1)。各集団におけるクラスターの分布を *distrupt* を用いて図示したところ、えびす食中毒由来株は VT 遺伝子保有の有無に関わらず同一のクラスター(クラスター1)に分類された。さらに、その他食中毒由来株との比較結果から、えびす食中毒由来株はその他食中毒由来株の中でも、VT 遺伝子保有株と同じクラスター(クラスター1)に分類されることが示された。

また、えびす食中毒由来株では VT 遺伝子が菌の培養中または保存中に脱落する可能性が地方衛生研究所から報告されていることから、分離株培養中の遺伝子脱落を考慮し、VT 遺伝子 6 種を除

いた 9 種類の病原因子遺伝子の保有から、クラスター分類を試みた。その結果、15 種類の遺伝子を用いて行った解析と同様のクラスター分類が認められた(図 2)。

えびす食中毒由来の食中毒事例では、富山県で重症例が多く報告されるなど、発生地域により重症度に相違がみられたため、えびす食中毒由来株についての各病原因子遺伝子の保有率を発生地域別に比較した。その結果、富山県由来株に特異的な遺伝子としては、*espP* を 25% の保有率で認めた他は、他地域由来株との間に大きな相違は見られず、毒素関連遺伝子である *ehxA*、付着因子である *eae*、*iha*、III 型分泌装置関連である *espB*、*espD*、*tir* はすべて 100% の保有率であった一方、*saa* は 0% であった(表 5)。

表 4 において、えびす食中毒由来株と、その他食中毒由来株に最も大きな保有率の差が見られた *ehxA* について、その保有率が VT 遺伝子非保有株と保有株で異なる理由として、VT 遺伝子脱落の有無を基準とすると、菌株分離の新旧が関連することが予想された。そのため、64.3% の *ehxA* 遺伝子保有率を示したその他食中毒由来の VT 遺伝子保有株における各株の分離年および発生地域と *ehxA* 遺伝子保有との関連について検討した。

その結果、食中毒発生の各年における分離株での *ehxA* 遺伝子の保有状況は、1996 年は 2 株中 0 株、2000 年は 2 株中 1 株、2005 年は 2 株中 2 株、2006 年は 1 株中 0 株、2008 年は 1 株中 0 株、2009 年は 5 株中 5 株、2011 年は 1 株中 1 株であった(図 3)。

#### D. 考察

Karmali ら (J. Clin. Microbiol. 41: 4930–4940, 2003) は、腸管出血性大腸菌の血清群を患者発生数や症状等の疫学情報から 5 つのグループ (seropathotype A-E) に分類している。O111 は、O157 の属する seropathotype A の次に病原性が高いとされる seropathotype B に属するが、えびす食中毒では、死者および重傷者が O157 の事例や O111 の他の事例に比べて多い傾向にあり、O111 の病原性がこれまでの株と異なる可能性が考えられる。このため、本研究では、えびす食中毒由来 O111 株とその他食中毒由来 O111 株の差異を明らかにすることを目的とし、集団遺伝学的解析を行った。腸管出血性大腸菌の集団遺伝学的解析に関する研究は、血清群 O157 では報告があるが、O111 についてはこれまでに報告がない。

えびす食中毒由来株における病原性について、既知の病原因子遺伝子保有の有無から集団遺伝学的手法を用いて、遺伝学的な面から解析を試みた結果、えびす食中毒由来株は、VT 遺伝子保有の有無に関わらず、その他食中毒由来株の中でも

VT 遺伝子を保有する株と同様の遺伝型であることが分かった。しかし、その他食中毒由来の VT 遺伝子を保有しない株とは遺伝型を異にしていた。

この傾向は、分離株の培養中に起こる VT 遺伝子の脱落を考慮して、本研究で用いた集団遺伝解析手法のパラメータから VT 遺伝子を除外して再度遺伝解析を試みた場合にも同じ結果が得られたため、えびす食中毒由来株の遺伝型がその他食中毒由来株と類似性を示したことは、VT 遺伝子のみによるものでなく、むしろ VT 遺伝子以外の毒素関連遺伝子や、付着因子、III 型分泌装置関連遺伝子などの病原因子遺伝子保有の類似性に依存したものと考えられる。

また、えびす食中毒事例には発生地域により重症度に違いがあることが報告されたが、発生地域別に病原因子遺伝子の保有率を比較検討した結果、重症例が多く報告された富山県において特異的に *espP* が 25% の保有率で認められたが、分離株 4 株中の 1 株と、母集団数が少ないため、この病原因子遺伝子が臨床事例で確認された重症度の決定因子となりうることは断定しきれない。

えびす食中毒由来株とその他食中毒由来株との間で遺伝子保有率に最も大きな差が認められた *ehxA* については、その他食中毒由来株のなかでも VT 遺伝子の保有株と非保有株で 64.5%、5.3% と保有率に大きく差が見られた。VT 遺伝子が分離培養の際にも脱落しやすいことを考慮すると、VT 遺伝子保有株と非保有株の間には分離時期に相違があることが予想される。つまり、比較的分離時期の新しい株に *ehxA* 保有株が多く含まれると考えられるため、その他食中毒由来株における *ehxA* の保有状況を、株分離年ごとに比較検討した結果、1996 から 2011 年までに分離された菌株 14 株では、1996 年に分離された 2 株はどちらも *ehxA* 非保有株であったが、2000 年には分離菌株 2 株中 1 株、2005 年には分離された 2 株の両方に *ehxA* 保有株が認められた。2006 年および 2008 年に分離された各 1 株のどちらも *ehxA* の保有は見られなかったが、2009 年および 2011 年に分離された計 6 株はすべて *ehxA* 保有株であった。また、えびす食中毒由来

株も 17 株すべてが *ehxA* を保有していることから、近年の食中毒事例で分離された株には *ehxA* 遺伝子保有株の割合が高い傾向が認められるため、食中毒を引き起こす腸管出血性大腸菌 O111 の流行株に共通な遺伝子として *ehxA* に着目する価値があることが示唆され、今後の展開として本遺伝子の病原性に関わる機能的な面の解明を目指すアプローチの必要性が考えられる。

## E. 結論

えびす食中毒由来の O111 株は、病原因子の保有の特徴からの集団遺伝解析では、これまでの感染事例での O111 株と同じ遺伝型であり、特異的な特徴は認められなかった。ただし、これまでの感染事例では、VT 遺伝子を保有しない O111 株は VT を保有する株とは異なる遺伝型である結果であったが、えびす食中毒由来の O111 株は VT 遺伝子の保有の有無にかかわらず同一の遺伝型であり、VT 遺伝子以外の病原因子が菌を特徴づける重要な要素であると思われる。また、えびす食中毒の死者および重症者が多く発生した地域の株に特異的な性質は特に示されなかった。

## F. 健康危険情報

とくになし

## G. 研究発表

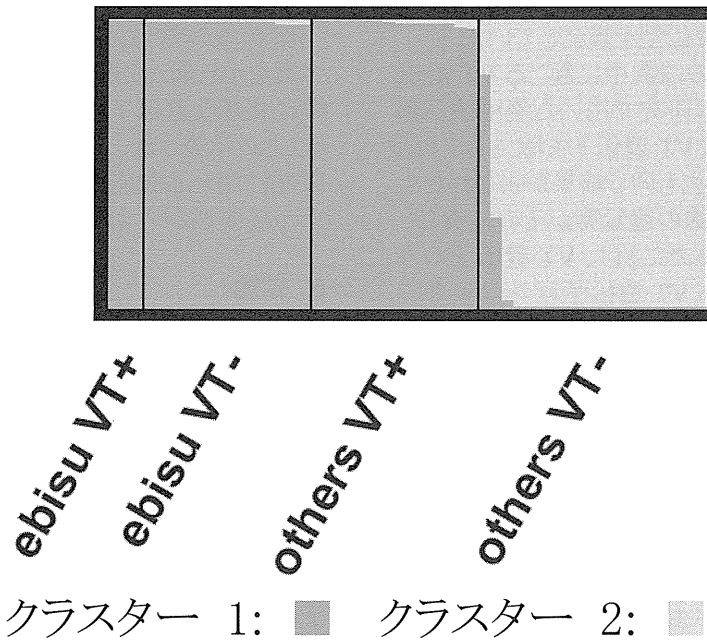
1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

## 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

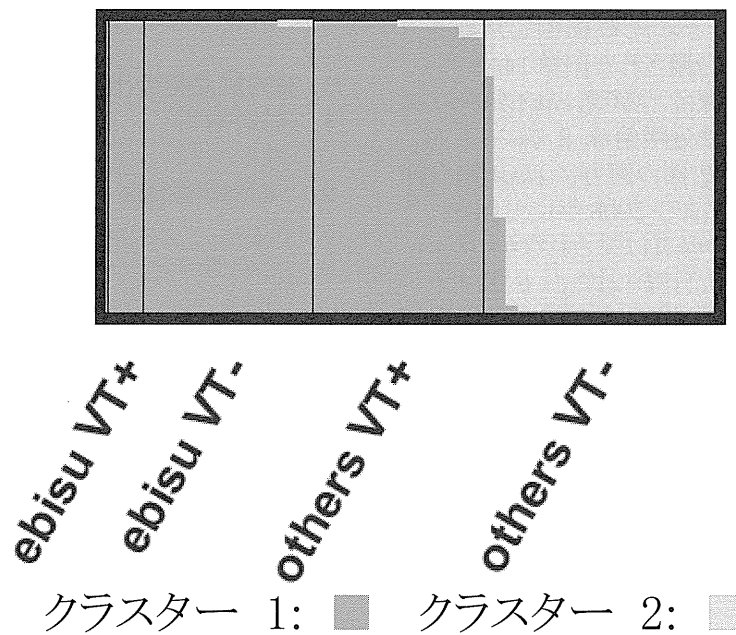


図 1. 15 遺伝子を用いた病原因子遺伝子群型によるクラスター分類



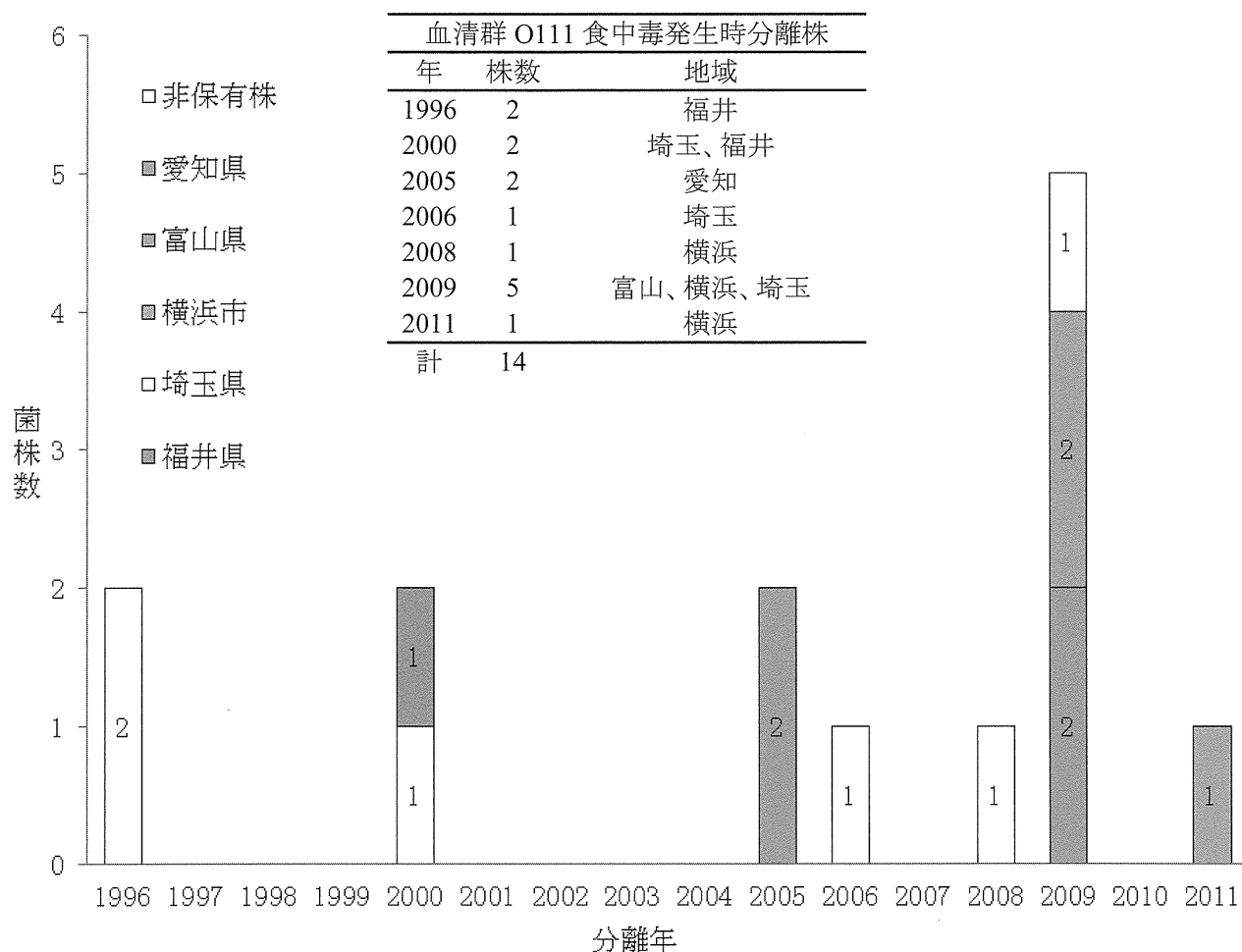
ebisu VT+ : えびす食中毒由来 VT 遺伝子保有株 n=3  
 ebisu VT- : えびす食中毒由来 VT 遺伝子非保有株 n=14  
 others VT+ : その他食中毒由来 VT 遺伝子保有株 n=14  
 others VT- : その他食中毒由来 VT 遺伝子非保有株 n=19

図 2. 9 遺伝子を用いた病原因子遺伝子群型によるクラスター分類



ebisu VT+ : えびす食中毒由来 VT 遺伝子保有株 n=3  
 ebisu VT- : えびす食中毒由来 VT 遺伝子非保有株 n=14  
 others VT+ : その他食中毒由来 VT 遺伝子保有株 n=14  
 others VT- : その他食中毒由来 VT 遺伝子非保有株 n=19

図 3. 腸管出血性大腸菌 O111 による食中毒発生年における *ehxA* 遺伝子保有株分離状況



その他食中毒由来の VT 遺伝子保有株 (n=14)

図中の表は、腸管出血性大腸菌 O111 のその他食中毒由来 VT 遺伝子保有株について、分離年、株数および由来地域を示す。棒グラフの中の数字は、株数を示す。

表 1. 供試腸管出血性大腸菌血清群 O111 分離株

菌株番号	由来	毒素型	分離源	分離年	分離地域		
1	えびす食中毒	VT2	患者	2011	富山県		
2			患者	2011	富山県		
3			患者	2011	福井県		
4			VT-	患者	2011	石川県	
5				患者	2011	富山県	
6				患者	2011	富山県	
7				患者	2011	福井県	
8				患者	2011	福井県	
9				患者	2011	福井県	
10				患者	2011	福井県	
11				患者	2011	福井県	
12				患者	2011	福井県	
13				患者	2011	福井県	
14			牛肉	2011	横浜市		
15			牛肉	2011	横浜市		
16			牛肉	2011	横浜市		
17			牛肉	2011	横浜市		
18			その他食中毒	VT1	患者	1996	福井県
19					患者	1996	福井県
20					患者	2000	埼玉県
21	患者	2000			福井県		
22	患者	2005			愛知県		
23	患者	2008			横浜市		
24	患者	2009			富山県		
25	患者	2009			富山県		
26	患者	2009			横浜市		
27		VT1・2			患者	2005	愛知県
28					患者	2006	埼玉県
29					患者	2009	埼玉県
30					患者	2009	横浜市
31			患者	2011	横浜市		
32		VT-	患者	1996	石川県		
33			患者	1997	石川県		
34			患者	2003	石川県		
35			患者	2008	横浜市		
36			患者	2009	福井県		
37			患者	2009	福井県		
38			患者	2009	福井県		
39			患者	2009	横浜市		
40			患者	2010	富山県		
41			患者	2010	富山県		
42			患者	2010	福井県		
43			患者	2010	福井県		
44			患者	2010	横浜市		
45			患者	2011	福井県		
46			患者	2011	福井県		
47			患者	2011	福井県		
48			患者	2011	福井県		
49			患者	2011	横浜市		
50					牛肉	2011	国内

表 2. 検出病原因子

病原因子	遺伝子	機能
志賀毒素	<i>stx1</i>	志賀毒素
	<i>stx2</i>	志賀毒素
	<i>stx2c</i>	志賀毒素
	<i>stx2d</i>	志賀毒素
	<i>stx2e</i>	志賀毒素
	<i>stx2f</i>	志賀毒素
付着因子	<i>eae</i>	インチミン
	<i>saa</i>	自己凝集性付着因子
	<i>iha</i>	付着因子
III 型分泌装置関連	<i>espB</i>	III 型分泌装置構成タンパク
	<i>espD</i>	III 型分泌装置構成タンパク
	<i>espP</i>	セリンプロテアーゼ
	<i>tir</i>	インチミン受容体
毒素関連	<i>ehxA</i>	エンテロヘモリシン
	<i>subA</i>	細胞傷害性毒素

表 3. 病原因子遺伝子保有率 (VT 遺伝子保有別 えびす食中毒由来 VS その他)

由来 (菌株数)	病原因子遺伝子保有率 (%)					
	<i>stx</i> variants					
	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2e</i>	<i>stx2f</i>
えびす食中毒 VT+ (3) <sup>a</sup>	0	100	0	0	0	0
えびす食中毒 VT- (14) <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0
その他食中毒 VT+ (14) <sup>c</sup>	85.7	35.7	0	0	0	0
その他食中毒 VT- (19) <sup>d</sup>	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup> えびす食中毒由来 VT 遺伝子保有株

<sup>b</sup> えびす食中毒由来 VT 遺伝子非保有株

<sup>c</sup> その他食中毒由来 VT 遺伝子保有株

<sup>d</sup> その他食中毒由来 VT 遺伝子非保有株