

## おわりに

感染症法に基づいた発生動向調査から得られた資料をもとに、本邦における腸管感染症について概説した。紹介したデータは感染症発生動向調査の年報 <http://idsc.nih.gov/idwr/CDROM/Main.html> および週報 <http://idsc.nih.gov/idwr/index.html>、さらに食中毒統計から抜粋したものである。関係するすべての方々の調査事業への協力に対して、改めてここで感謝申し上げる。

## 文 献

- 1) Liu L, Johnson HL, Cousens S *et al.*: Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *Lancet* 379: 2151-2161, 2012.
- 2) 感染症法の改正 (2007年6月現在). 病原微生物検出情報 28: 185-188, 2007.
- 3) 国立感染症研究所: コレラ 2006~2010年. 病原微生物検出情報 32: 95-96, 2011.
- 4) 埼玉県衛生研究所, 埼玉県加須保健所: 飲食店を原因

施設とするコレラ集団発生事例. 病原体検出情報 30: 98-99, 2009.

- 5) 国立感染症研究所: 細菌性赤痢 2006~2009年. 病原微生物検出情報 30: 311-313, 2009.
- 6) Okame M, Adachi E, Sato H *et al.*: *Shigella sonnei* outbreak among men who have sex with men in Tokyo. *Jpn J Infect Dis* 65: 277-278, 2012.
- 7) 国立感染症研究所: 腸チフス・バラチフス 2005~2008年. 病原微生物検出情報 30: 91-92, 2009.
- 8) Morita M, Takai N, Terajima J *et al.*: Plasmid-mediated resistance to cephalosporins in *Salmonella enterica* serovar Typhi. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 3991-3992, 2010.
- 9) 国立感染症研究所: 腸管出血性大腸菌感染症 (2012年4月現在). 病原微生物検出情報 33: 115-116, 2012.
- 10) 国立感染症研究所: 下痢原性大腸菌. 病原微生物検出情報 33: 1-3, 2012.
- 11) 国立感染症研究所: クリプトスポリジウム症およびジアリジア症. 病原微生物検出情報 22: 159-160, 2001.
- 12) 国立感染症研究所: アメーバ赤痢 2003~2006年. 病原微生物検出情報 28: 103-104, 2007.

\* \* \*

# 0157 以外の志賀毒素産生性大腸菌の重要性

## Public Health Importance of Non-0157 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*

勢戸 和子

Kazuko Seto

大阪府立公衆衛生研究所感染症部細菌課

Bacteriology Division, Dept. of Infectious Diseases,  
Osaka Prefectural Institute of Public Health

coli, EIEC)、腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC)、志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *E. coli*, STEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (enteroaggregative adherent *E. coli*, EAEC) の5種類で、その特徴を表1に示した。

大腸菌は菌体抗原 (O抗原) と鞭毛抗原 (H抗原) を組み合わせた「血清型」で区別され、現在O抗原はO1からO186、H抗原はH1からH56まで発表されている。分類ごとに分離頻度の高い「主な血清型」が知られており、同定の目安となっていたこともあるが、検査法の改良に伴い、これまでに認識されていなかった血清型や型別できない株でも病原因子を持つことが明らかになってきた。その一方で、主な血清型の株であっても病原因子を欠く場合があり、血清型別だけで下痢原性大腸菌と同定することはできない。また、病原因子によっては、複数のタイプの下痢原性大腸菌に共通してみられる。

本稿では、下痢原性大腸菌の中でも特に病原性や感染力が強いと考えられるSTECについて概説するとともに、STEC感染症の発生状況について2011年に注目を集めた事例を含めて紹介し、問題点を考察したい。

## 2. STECの発見とSTEC感染症の歴史

1982年にアメリカでハンバーガーが原因と推定される2件の食中毒事例が発生し、疫学調査の結果から当時は珍しい血清型であったO157:H7が原因菌であると断定された。患者の主症状は激しい血便と腹痛で、その便は「all blood and no stool」と記載され、原因菌は腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) と名付けられた<sup>1)</sup>。まもなく、このEHEC O157:H7がすでにKonowalchukら<sup>2)</sup>によって報告されていたVero細胞に対する細胞毒 (Vero毒素) を産生することが明らかになり、EHECはVero毒素産生性大腸菌 (Verotoxin-producing *E. coli*, VTEC) とも呼ばれるようになった。またVero毒素は、*Shigella dysenteriae* 1の産生する志賀毒素と同じ生物活性を示すことから志賀毒素様毒素 (Shiga-like toxin) とも呼ばれ、菌名を志賀毒素様毒素産生性大腸菌 (Shiga-like toxin producing *E. coli*) と記載したものも見られる。名称の混乱を除くため、1996年に毒素名を志賀毒素 (Shiga toxin, Stx)、菌の呼称を志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *E. coli*, STEC) と統一することが提案されたが、現在も研究者によって呼称が異なる。Stx産生菌の総称をSTECとし、このうち出血性腸炎や合併症を引き起こす株をEHECと使い分ける研究者もある。

日本でのSTEC感染症は、1984年に大阪府で確認されたO157による兄弟感染事例と東京都で発生したO145による小学校集団事例が最初である<sup>3,4)</sup>。1986年には松山市の乳児院でO111による集団下痢症が発生し1名が死亡したが、1990年に埼玉県の子供園で園児2名が死亡したO157集団事例から社会的

に注目されるようになった<sup>5,6)</sup>。1996年には、5月に岡山県で発生した小学校事例に始まり、6月から7月にかけて幼稚園や小中学校で集団発生が続き、死者も出たことから日本中がパニックになった。特に7月の堺市学童事例では、児童や家族9,000名以上が発症し、溶血性尿毒症症候群 (HUS) で3名の児童が死亡した。同時に日本各地から散発事例も多数報告されるようになり、医療機関や行政機関はその対応に追われた。これを背景に、STEC感染症は1996年8月6日付で伝染病予防法の指定感染症となり、1999年4月からは感染症法に基づく3類感染症として、患者および無症状保菌者は届出が必要な全数把握疾患になっている。感染者は飲食物を取り扱う業務への就業制限があり、便の検査でSTEC陰性であることが確認できれば就業制限は解除される。

## 3. STEC感染症の特徴

STEC感染症の潜伏期間は最短1日から最長14日、平均3~8日と言われている。典型的な臨床経過は、激しい腹痛と水様性下痢で発症し、2~3病日には血便を呈する。重症例ではHUSや脳症などの合併症を引き起こし死に至る場合もあるが、血便を伴わない下痢症で終わる患者や無症状保菌者も多い。症状が消失した後も排菌は続き、5歳以下の年少者では発症後17日間排菌したと報告されている<sup>7)</sup>。

感染菌量が少ないことはSTECの特徴である。1996年11月に盛岡市で発生した小学校での集団事例では、保存されていた「シーフードソースとサラダ」のSTEC O157汚染菌数は100グラムあたり4~18個で、学童の推定摂取菌量は9~57個であった。米国のO157食中毒では、冷凍牛ひき肉パテ1グラム当たり0.3~15個、オーストラリアのO111食中毒ではソーセージ10グラム当たり1個以下の汚染菌数であったと報告されており、感染菌量は100個以下と推定されている<sup>8)</sup>。このため、ヒトからヒトへの二次感染も容易に成立し、汚染されたプールや井戸水の原因とする水系感染もしばしば発生している。

## 4. STECの病原因子

### 4-1. 志賀毒素 (Stx)

STECは大腸で粘膜上皮細胞に定着して増殖し、腸粘膜の水分吸収障害による下痢や、腸内で産生されたStxによる種々の細胞障害を引き起こす。

最も重要な病原因子であるStxは、志賀毒素とアミノ酸配列が同一のStx1とアミノ酸配列の相同性が約60%のStx2に大別され、それぞれに塩基配列がわずかに異なるサブタイプがある。Stx1とStx2はともに分子量約32,000のAサブユニット1分子と分子量約7,000のBサブユニット5分子から

なり、Bサブユニットの作用で上皮細胞表面にある糖脂質 (globotriaosylceramide, Gb3) へ結合する。ウシは腸管上皮細胞表面にGb3を持たず、そのため無症状で保菌動物になると考えられる<sup>9)</sup>。Gb3と結合したStxは細胞内へ移行し、Aサブユニットの作用でタンパク質合成を阻害する。さらに、Stxはマクロファージや腸管上皮細胞を刺激してサイトカイン産生を促し、サイトカインの作用により上皮細胞のGb3発現が増加して細胞障害性が高まるとともに、遊走してきた好中球に結合して腎臓や脳へ達する。Gb3は腎上皮細胞や血管内皮細胞の表面にも存在し、各部位でStxが結合してタンパク質合成を阻害し、さらにサイトカイン産生を誘導してGb3発現を亢進させ、種々の細胞障害を引き起こされる。

#### 4-2. 細胞付着因子

STECが腸管にたどり着いた際に、最初に粘膜上皮細胞へ付着する機序はわかっていない。O157の大腸粘膜上皮細胞への付着像は小腸におけるEPECと同様で、付着部分の微絨毛は消失して菌体は上皮細胞に密着し、その下部にはアクチン線維が集積して台座状に突出するattaching and effacing (A/E) 病変を示す。A/E病変の形成機序は分子レベルでの解明が進んでおり、STEC、EPECともに染色体上のlocus of enterocyte effacement (LEE) と呼ばれる遺伝子領域にコードされた多くのタンパク質が関与している<sup>10)</sup>。特に、菌の外膜タンパク質であるインチミンと3型分泌装置によって腸管上皮細胞へ移行するインチミン・レセプターの結合は、A/E病変に必須の反応である。O157以外のSTEC (non-O157 STEC) では、O26、O103、O111、O121、O145、O165などでインチミン遺伝子 (*eae*) 保有が確認されているが、O91やO113は*eae*陰性である<sup>11)</sup>。HUSや血便を呈した患者の分離株はStx2遺伝子とともに*eae*保有率が高いと報告されている<sup>12)</sup>。

LEEを保有しないSTECにはインチミン以外の付着因子が存在するものと考えられ、これまでにSTEC autoagglutinating adhesin (Saa) と*E. coli* immunoglobulin-binding protein G (EibG) が報告されている<sup>13, 14)</sup>。SaaはHUS患者から分離されたO113:H21が保有するプラスミド上で発見された付着因子で、その後O113以外の株でもその存在が確認されている。EibGは、培養細胞に「鎖をつないだように」付着するSTECから同定された付着因子で、大阪府では保菌者由来のO91:HNMおよびO91:H14が保有していた。SaaもEibGもLEE保有株には見つからない。

#### 4-3. EHECヘモリシン (Ehly)

O157をはじめとする多くのSTECは、 $\alpha$ -ヘモリシンとは異なり、洗浄赤血球と塩化カルシウムを加えた培地だけに溶血を示すEHECヘモリシン (Ehly) を産生する。Ehlyは病原性に何らかの役割を持つと考えられたが、その機序は明らかになっていない。また、STECの保有する病原因子と臨床症状との関

連性では、*eae*の保有がリスク因子となることは一致した結果が示されているが、Ehlyと病原性の関連については意見が分かれている<sup>15, 16)</sup>。デンマークでの約6年間にわたる疫学調査では、HUSのリスク因子はStx2とインチミンであり、EhlyはHUSや血便のリスク因子ではないことが示された<sup>12)</sup>。

## 5. STECの生態と感染経路

### 5-1. 生態

STECの保菌動物はウシ、ヒツジ、ヤギ、シカなどの反芻動物であり、保菌動物の糞便で直接あるいは間接的に汚染された食品の摂取によりヒトに感染する。家畜の保菌率については多くの報告があるが、検出方法によって大きく異なり、non-O157 STECも含めると培養法で4.9~27.1%、PCR法では29.1~78.9%と高率である。2004~2006年に7自治体のと畜場に搬入されたウシ1,015頭を対象にしたO157およびO26の保菌調査では、O157陽性率が14.4%、O26陽性率が1.5%で、唾液からも検出されていた<sup>17)</sup>。また、2007~2008年に実施された406農場2,436頭の肉牛の調査でも、110農場 (27.1%) の218頭 (8.9%) からO157が、7農場 (1.7%) の10頭 (0.4%) からO26が分離された<sup>18)</sup>。O157陽性となった農場は35都道府県にわたっており、広く汚染されていることを示している。O157やO26以外のO抗原型については、ウシからはO103やO145など*eae*陽性でヒト由来株と同じタイプが分離され、ブタ由来株の多くは浮腫病の原因菌であるStx2e陽性菌で、ヒト由来株とはO抗原型が異なる<sup>19)</sup>。

ウシは離乳期にSTECに感染すると下痢を発症するが、成牛では無症状で保菌動物となる。実験的にO157を投与した場合、子牛で20週間、成牛で14週間排菌が認められている<sup>20)</sup>。また、個体数は少ないが、自然感染したウシの調査によると、O157保菌牛11頭のうち10頭は4~10週間後までO157が分離されたのに対し、O26保菌牛の保菌期間は長くて2週間で、14頭中7頭は1週間後には菌分離陰性になっており、O157の方がウシの腸管内に定着しやすいと考えられる<sup>20)</sup>。

ドイツでの調査では、ウシ (21.1%) よりもむしろヒツジ (66.6%) やヤギ (56.1%) で保菌率が高い<sup>18)</sup>。これ以外の動物では、イヌ、ネコ、ウマ、ニワトリ、水牛、野鳥からSTECが分離されている。

### 5-2. 感染経路

感染経路は大きく分けて、STECが付着した食肉および食肉製品、二次汚染した様々な食品や水、ヒトからヒト、動物からヒトへの4つが考えられる。

STEC感染は潜伏期間が長い原因食品の解明が困難な場合が多いが、食中毒や散発下痢症の推定原因食品は、加熱不十分な牛肉、ユッケ、牛生レバー、牛ホルモン、ミートパテナ

どの食肉類が多く、シカ肉も報告されている。また、海外ではチーズや未殺菌牛乳による事例も発生している。STECは環境中に長く生残り乾燥にも強いことから、牛肉や食肉製品とは関係のない食品を二次汚染するリスクは高く、日本ではカイワレ大根やキャベツ、メロン、サラダ、漬物、イクラなどが推定原因食品となった事例も多い。海外でもハウレン草やレタス、アップルジュースを原因とした食中毒が発生しており、肥料や灌漑水から耕作地を汚染したと考えられる事例もみられる。飲料水を原因とする水系感染事例もスコットランドや南アフリカで発生しており、日本でも1990年の幼稚園事例では井戸水が原因であったと推定されている。海外ではプールや湖での水泳による感染も報告されているが、日本では幼児の利用する簡易プールでの感染例が多い。

STEC患者および保菌者は重要な感染源であり、保育所での集団事例では職員や家族への二次感染もみられる。また、酪農体験学習や「ふれあい牧場」での動物との接触によると考えられる感染も発生している。

## 6. STEC感染症の発生状況

### 6-1. 日本の発生状況

伝染病予防法から感染症法へ改正された1999年4月以降の届出数は毎年3,000~4,000名で、減少傾向はみられない(図1)。2010年は、有症者2,719名、無症状保菌者1,416名の計4,135名で、HUS症例は92例あり有症者の3.4%であった<sup>22)</sup>。毎年夏季に流行のピークがみられる。食中毒としての届出は、1996年には87件で10,322名もの患者数が報告されたが、それ以降は30件以下で推移しており、2010年は27件で患者数は358名であっ

た。

2000~2010年の11年間に報告された菌分離陽性者数10人以上の集団事例は163事例で、原因菌の内訳は、O157によるものが80事例、O26が61事例、O111が12事例、O103とO121が各4事例、O145が3事例で、このうち1事例はO157とO121の重複感染であった。O157は、焼肉店や施設の給食などが原因と推定されることも多いが、O26やO111は、保育所で直接あるいはタオルやおもちゃを介して、ヒトからヒトへと感染したと考えられる事例が多いのが特徴である。有症者が50名以上の大規模集団事例を表2に示したが、保育所、学校、病院などの施設のほか、牧場などでの保菌動物との接触や海外への修学旅行で感染するケースが報告されており、non-O157 STECでも大規模な集団事例を起こしている。2011年には、ユッケによるO111食中毒事例が発生したが、それまではO111で食品媒介が明らか

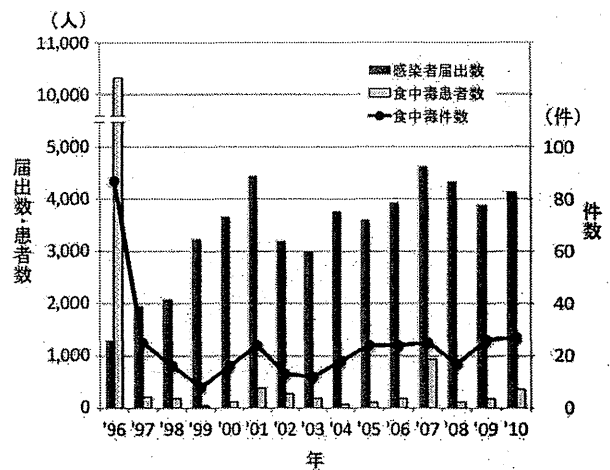


図1. 感染症法による届出数と食中毒件数および患者数の推移 (1996年と1997年の食中毒統計はO157のみの集計)

表2. 病原微生物検出情報に報告された有症者50名以上の集団事例 (2000~2010年)

年	月	発生地	(推定)原因	発生施設など	血清型	毒素型	有症者数
2000	6	神奈川県	不明	病院・老人保健施設	O157:H7	Stx2	56
2001	3~4	千葉県など1都6県	牛タタキ・ロースビーフ	家庭	O157:H7	Stx1, Stx2	195
2002	6~7	福岡市	キュウリの浅漬	保育所	O157:HNM	Stx2	74
2002	8	宇都宮市	香味和え	病院・老人保健施設	O157:H7	Stx1, Stx2	123
2003	9	横浜市	食品	幼稚園(センター方式給食)	O26:H11	Stx1	141
2004	6	千葉市	不明	小学校(酪農施設体験学習)	O121:H19 O157:H7	Stx2 Stx1, Stx2	63
2004	7	石川県	食品	高校(韓国修学旅行)	O111:HNM	Stx1, Stx2	107
2005	1~2	島根県	不明	保育所	O26:H11	Stx1	55
2006	8~9	富山県	ヒト→ヒト	保育所	O157:H7	Stx1, Stx2	72
2006	9	佐賀県	食品	高校(中国修学旅行)	O157:H7	Stx2	81
2007	5~6	東京都	食品	学校食堂	O157:H7	Stx2	467
2007	9~10	宮城県	食品	飲食店(仕出し弁当)	O157:H7	Stx1, Stx2	314
2008	3	佐賀県	食品	高校(オーストラリア修学旅行)	O26:H11	Stx1	91
2008	6	長崎市	不明	病院	O111:HNM	Stx1, Stx2	67
2008	6	神奈川県	不明	高校(北海道修学旅行)	O26:H11	Stx1	52
2008	10	東京都	ヒト→ヒト	保育所	O111:HNM	Stx1, Stx2	61
2010	5	三重県	給食	高校	O157:H7	Stx2	138
2010	5	三重県	給食	中高一貫校	O157:H7	Stx2	100

な事例は、2004年の高校修学旅行事例のみであった。この事例では、修学旅行に参加した高校生、教職員、旅行会社添乗員の計378人のうち107名が発症し、76名からO111が分離されたほか、1~7名からO169、O26、O103など9タイプのSTECが分離され、2タイプ分離された感染者もみられたが重症者はなかった<sup>23)</sup>。

感染者から分離されるSTECのO抗原型は、約70%がO157、約20%がO26で、残りの10%は、年によって割合は異なるが、O103、O111、O91、O121、O145などが報告されている。2000~2010年に国立感染症情報センターに報告されたSTECのO抗原は型別できたものだけで60タイプにのぼる(表3)。1996~1999年の報告では29タイプであったことから、わが国で分離されるSTECのO抗原型は多様化していると言えるが、HUS患者から分離されたのはO型別不能(OOUT)を除くと8タイプに限られる。

## 6-2. 世界の発生状況

世界各国でヒトから分離されたSTECのO抗原型はすでに130以上報告されており、このうち67タイプはHUS患者から分離されている<sup>24)</sup>。北米やイギリスでは、日本と同様にO157が多

表3. 病原微生物検出情報に報告されたSTECのO抗原型(2000~2010年)

O1	O25	O64	O88	O114	O128	O153	O174
O2	<u>O26</u> <sup>a)</sup>	O65	O89	O115	O138	O156	<u>O177</u>
O6	O28	O69	O91	O118	O140	<u>O157</u>	O178
O8	O36	O71	O103	O119	<u>O145</u>	O161	O179
O11	O45	O74	O110	<u>O121</u>	O146	<u>O165</u>	Orough <sup>b)</sup>
O15	O48	O79	<u>O111</u>	O124	O148	O166	<u>OUT</u> <sup>c)</sup>
O18	O55	O84	O112 <sup>ac</sup>	O126	O150	O168	
O23	O63	O86	O113	O127a	O152	<u>O169</u>	

a) アンダーラインはHUS患者から分離されたO抗原型

b) ラフ型

c) O型別不能

いが、ヨーロッパ大陸やオーストラリア、アルゼンチンではnon-O157が多いと言われており、2011年5~6月にはドイツを中心にO104のアウトブレイクが起きている。検査法の進歩により、どの国でもnon-O157 STECの分離報告が増加し、重症例や集団事例の原因となっている(表4)<sup>25)</sup>。アメリカでは2001年から積極的にnon-O157 STECのサーベイランスを実施しており、2005年の報告数は2000年の3倍以上になっている。主なO抗原型はO26、O111、O103、O121、O45、O145で、この6タイプでnon-O157 STECの82%を占めると報告されている<sup>26)</sup>。O157に比べnon-O157感染では症状が穏やかだとの報告もあるが、non-O157 STECは保有する病原因子が菌株によって様々であり単純に比較できない。

## 6-3. 焼肉チェーン店集団食中毒

2011年4月下旬から富山県を中心に発生した飲食チェーン「焼肉酒家えびす」の集団食中毒事例は、富山、福井、石川、神奈川の4県で181名の患者と、死者5名を出した。O111による死者はこの事例が初めてではなく、1986年には松山市の乳児院でO111による集団下痢症が発生し、22名の患者のうちHUSを発症した2歳9カ月の女児が亡くなっている<sup>9)</sup>。「えびす」事例では、HUS発症者が32名(17.7%)と高いうえ、急性脳症の発症率も高かったと報告されているが、その理由はわかっていない。

富山県の調査によると、県内の3店舗を利用した175名が発症し29名がHUSを呈したが、これまでの定説よりもHUS発症者の年齢が高く、16~20歳にピークがみられた。患者の喫食状況や疫学調査から、食中毒の原因食材はユッケで、原因菌はO111:HNM(Stx2陽性)であると断定されたが、患者や同行者、接触者からはO111:HNM(Stx陰性)、O157:H7(Stx1, Stx2陽性)、O157:H7(Stx1陽性)、O157:H7(Stx2陽性)も分離され、多い人ではO111:HNM(Stx2陽性)を含む4種類が分離された。

表4. non-O157 STECによる主な集団事例

年	血清型	国	有症者数	HUS	(推定)原因
1990	O111	アメリカ	55	有	不明
1994	O104:H21	アメリカ	18	有	牛乳
1995	O111:HNM	オーストラリア	158	23	ソーセージ
1998	O121	アメリカ	40	不明	不明
1999	O121	アメリカ	11	有	湖水
1999	O111:H8	アメリカ	56	2	サラダバー
2000	O103	アメリカ	18	有	パンチ
2000	O26:H11	ドイツ	11	0	デイケア
2004	O111 <sup>a)</sup>	アメリカ	213	0	アップルサイダー
2005	O45	アメリカ	52	0	従事者
2006	O121:H19	アメリカ	73	3	レタス
2006	O103:H25	ノルウェー	17	11	ラムソーセージ
2007	O145, O26	ベルギー	12	5	アイスクリーム
2007	O26:H11	デンマーク	20	不明	ビーフソーセージ
2008	O111	アメリカ	341	有	レストラン

a) 患者から *Cryptosporidium* も分離された

その一方で、HUSや血便を呈しているにもかかわらず O111:HNM (Stx陰性) だけが分離される、あるいは、O111や O157が全く分離されないといった症例もみられた。PFGEによる分子疫学解析により、分離されたO111とO157はStx遺伝子の有無や型別に関係なく、それぞれ同一のクローンであると考えられ、製品の加工段階や患者の体内、培養検査途中でStx遺伝子が脱落したものと推察される。しかし、何百株と調べてもStx遺伝子陽性株が分離できないなどStx遺伝子脱落の頻度が高い理由やStx陰性のO111:HNMの病原性など、解明すべき課題は多い。

#### 6-4. ヨーロッパのO104アウトブレイク

2011年はヨーロッパでもSTECの大規模なアウトブレイクがあり、原因菌はO104:H4という聞き慣れない血清型であった。端緒は5月19日にドイツのハンブルクで3例のHUS患者が探知されたことで、翌日には、患者がドイツの北部を中心に各地で増加していることが判明した。5月30日までに、スウェーデンやデンマーク、英国、オランダでもHUS患者が確認され、EU各国に被害が拡大した。その後の調査で、発症者は5月8日から急増し、ピークは5月22～23日で1日に200人以上が発症したことが報告されている<sup>26)</sup>。7月26日にロベルト・コッホ研究所(ドイツ)が終息宣言をおこなったが、WHOの発表によると7月21日18時における患者数は、ヨーロッパ14ヵ国と北米で4,075名、うちHUS患者は908名、死者は50名である(表5)。ドイツ以外の国から報告された患者の多くは、ドイツへの旅行者であった。本事例は、HUS発症率が約22%と高く、HUS患者の多くが成人であったこと、患者に女性が多かったことが特徴であった。また、潜伏期間は平均8日と報告されている<sup>26)</sup>。

感染源については、当初スペイン産キュウリが疑われたが、患者の疫学情報や、食品の出荷リスト、流通経路などについて

表5. STEC O104:H4感染者数 (WHO, 2011年7月21日)

国名	HUS		STEC	
	患者数	死亡者数	患者数	死亡者数
オーストリア	1	0	4	0
チェコ	0	0	1	0
デンマーク	10	0	15	0
フランス	7	0	10	0
ドイツ	857	32	3,078	16
ギリシャ	0	0	1	0
ルクセンブルク	1	0	1	0
オランダ	4	0	7	0
ノルウェー	0	0	1	0
ポーランド	2	0	1	0
スペイン	1	0	1	0
スウェーデン	18	1	35	0
スイス	0	0	5	0
英国	3	0	4	0
カナダ	0	0	1	0
米国	4	1	2	0
合計	908	34	3,167	16

検討した結果、ニーダーザクセン州の園芸農家が栽培したスプラウトが原因と考えられている。また、フランスでは6月15～21日にボルドー近郊でO104感染が発生したが、この事例の患者は自家栽培用の種子のブレンドから生産されたスプラウトを喫食していた。この両方に含まれていたのがフェヌグreek (fenugreek) のスプラウトのみであったことから、フランスで使用されたフェヌグreekの種子のバッチを遡って追跡調査が実施され、2009年にドイツの輸入業者がエジプトから輸入したものであることが判明した。同一バッチの種子はすべて使用済みであったため培養検査は実施されていないが、European Food Safety Authority (EFSA) と European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) のリスクアセスメントの結果は、スプラウト栽培に1種類またはブレンドで使用されたエジプト由来のフェヌグreekの種子がヒトの健康リスクとなっていることは明らかだとしている<sup>27)</sup>。

原因菌となったO104:H4は、そのO抗原型がまれであるだけでなく、これまでHUSなど重症化のリスク因子と考えられていたeaeを保有せず、EAECの細胞凝集付着性に関わる遺伝子を保有していた。さらに、ペニシリン系およびセフェム系の抗生物質に耐性を示すESBL産生菌で、CTX-M-15遺伝子のほかTEM-1遺伝子も陽性であった<sup>28)</sup>。すでに複数のグループによってゲノム解析が実施されているが、この大規模なアウトブレイクでHUS発症者が多かった理由はまだわかっていない。

培養細胞に凝集付着性を示すSTECは、日本では1999年にHUSと脳症を発症して死亡した3歳男児からStx2産生性のEAEC O86:HNMが分離された。しかし、家族からはStx陰性のEAEC O86:HNMのみの分離であった<sup>29)</sup>。また、1992年にはフランスで地域流行と考えられる集団事例が発生し、小児HUS患者から分離されたStx2産生性 O111:H2が凝集付着性を示したことが報告されているが、このような「凝集付着性STEC」は非常にまれである<sup>30)</sup>。

## 7. ゲノム解析

STEC O157:H7のゲノム解読は、日本の堺市学童集団事例株 (Sakai株) とアメリカのEDL933株について2001年に報告された<sup>31, 32)</sup>。Sakai株の全ゲノム配列 (約5.5 Mb) と1997年に全ゲノム配列が決定されていた非病原性大腸菌K-12株 (約4.6 Mb) との比較から、全長で4.1 Mbの領域が大腸菌の基本骨格であり、Sakai株は、この基本骨格に菌株特異的な配列の大小のDNA断片 (合計1.4 Mb) が挿入されていることが明らかになった。このO157特異的配列は、その塩基組成の特徴から、多くは外来性で、中でも大きなものはプロフェージやファージ様の配列であり、Stx遺伝子もファージ配列上に存在する。LEEや病原遺伝子の発現調節にかかわる遺伝子もファージ配列上にあり、それぞれ独立に獲得された外来性遺伝子群が別の遺伝子群の

発現を制御する、あるいは大腸菌の基本骨格に存在する遺伝子発現調節にも関与するなど、興味深い知見が次々と発表されている<sup>33,34)</sup>。

O26、O111、O103についても全ゲノム配列が解読され、大腸菌の基本骨格は非常に良く保存されているが、それ以外の部分は血清型特異的で、O157と同様に多数のプロフェージが存在することが明らかになった<sup>35)</sup>。また、O157とは明らかに異なる進化系統に属するものの、Stx遺伝子やLEE遺伝子群、LEE以外の領域にコードされているエフェクターなどは共通していた。

## 8. 検査法とその問題点

### 8-1. 培養法

STECの分離は、選択分離培地を用いて疑わしいコロニーを釣菌し、確認培地で大腸菌であることを確かめるとともにStx産生性あるいはStx遺伝子を確認して同定する。

#### 8-1-1. 増菌培養

食品からのSTEC分離には増菌培養が必要であり、わが国の「通知法」はノボピオシン加mEC培地を用いて42±1℃で22±2時間培養するよう指示している。海外では、ノボピオシン加mTSBやEHEC enrichment broth、またはピルビン酸や選択剤を加えた変法緩衝ペプトン水が使用されており、2011年のアウトブレイク株であるO104については緩衝ペプトン水を用いて37±1℃で18~24時間培養するよう薦められている<sup>36)</sup>。増菌培地の種類や培養条件については多数の報告があるが、O157など分離頻度の高いO抗原型を目的としたものが主で、すべてのSTECに最適とは限らない。また、食品が冷凍あるいは加熱されている場合は、非選択性の増菌培地が望ましい。

目的とするSTECのO抗原型が明らか場合は、免疫磁気ビーズを用いて増菌培養液から集菌し分離培地に塗抹する。また、STECの酸耐性を利用して、試料懸濁液や増菌培養液を等量の0.125 mol/L 塩酸加0.5%食塩水と30秒間混合してから分離培地に接種する方法や、pH3に調整したTSBに試料を加えて30分間静置し酵母エキスなどを加えたTSBを加えて42℃で増菌する方法が、O抗原型にかかわらずSTECの分離に有用であると報告されている<sup>37,38)</sup>。

#### 8-1-2. 分離培養

分離頻度の高いO抗原型については、その特徴的性状を利用した製品が市販されており、β-グルクロニダーゼやβ-ガラクトシダーゼに特異的な発色基質を利用する合成基質培地も数種類ある。しかし、どの培地を使用した場合でも、特徴的な色調のコロニーがすべてSTECではない。また、市販培地の多くはO157やO26など「主なO抗原型のSTEC」は発育するがその

他の大腸菌は発育しないよう選択剤が加えられており、O91やO113、O165などは発育できない。すべてのnon-O157 STECを分離するには、選択分離培地と一般的な大腸菌分離培地を併用し、多数のコロニーについて、Stx産生性またはStx遺伝子を調べる必要がある。

STECのスクリーニングにEhly産生性をみるエンテロヘモリジン培地が使用されることがあるが、あくまでもEhly産生性は指標であり、Stx産生性と一致しない。

### 8-2. 同定とO抗原型別

確認培地にはTSI寒天培地、LIM培地に加えてセロピオース加LIG (CLIG) 培地を使用するとよい。CLIG培地はUVを照射してβ-グルクロニダーゼ活性を判定できるうえ、セロピオース分解能(斜面部、大腸菌は陰性)で大腸菌以外の*Escherichia*属菌や*Kluyvera*属菌を鑑別できる。

大腸菌の多くは、乳糖分解性、リジン脱炭酸酵素陽性、インドール陽性、運動性陽性、β-グルクロニダーゼ陽性を示すが、いずれの性状も5~15%は例外があり、O157はβ-グルクロニダーゼ陰性である。大阪府で分離されたO111 (19株)とO165 (10株)は全株リジン脱炭酸酵素陰性で、ほとんどが運動性陰性であった。2007年にはリジン脱炭酸酵素陰性のO157も分離されている。

O抗原の型別は、加熱死菌液を抗原液とする。大腸菌のO抗原は大腸菌以外の腸内細菌科細菌と共通または同一抗原を示す場合があり、必ず大腸菌と同定された株について実施する。特に*Citrobacter freundii*の中には、O157と同一抗原を持つ株がある<sup>39)</sup>。O157やO26などSTECの代表的なO抗原型を示す株であってもStx陰性株は存在し、たとえばO157:H45は典型的なEPECの性状を示しStxは産生しない。一方、市販血清で型別できないO型別不能 (OUT) のSTECも多い。

### 8-3. Stx検出法

免疫学的にStxを検出する方法は、逆受身ラテックス凝集反応 (RPLA) 法、イムノクロマト (IC) 法、酵素抗体 (EIA) 法がある。Stx1とStx2を型別する試薬と型別しない試薬があるが、感染症法ではStxを産生する大腸菌をSTECとしており、毒素型の決定までは求めていない。試薬によって被検液の調整法は若干異なるが、検出感度は、EIA法、RPLA法、IC法の順に高い。Stx2のサブタイプによっても検出感度に差があり、O157に多いStx2cはStx2に比べてRPLA法の検出感度が低く、IC法では検出されないことがある。また、いずれの方法でも被検液の菌濃度が高い場合には疑陽性を示す場合がある。

### 8-4. Stx遺伝子検出法

Stx遺伝子を検出する方法は、免疫学的にStxを検出する方法に比べて検出感度、迅速性および特異性に優れている。従来からのPCR法はStx1遺伝子とStx2遺伝子を型別するもの、共通



部分を増幅するもの、サブタイプを特異的に検出するものなど多数報告されている。免疫学的検出法と同様に、プライマーによっては特定のサブタイプを検出しない場合があるので、注意を要する。菌株によってはプライマー結合部分の塩基配列に変異が見られ偽陰性を示す可能性や、偶然同じサイズのDNAが増幅される可能性のあることを考慮し、別のプライマーや増幅産物の確認方法（制限酵素切断パターンの確認など）を準備しておくことが望ましい。

Stx遺伝子検出法は、Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法やリアルタイムPCR法など、感度と特異性の高い方法が使われるようになってきたが、増菌培養液や分離培地の濃厚発育部位がStx遺伝子陽性であっても、Stx遺伝子陽性の大腸菌を分離するのは容易ではない。

## 9. おわりに

これまで述べてきたように、STECには非常に多様な株が含まれる。non-O157 STECの病原性については、保有するStx以外の病原因子との関連性が検討されてきたが、2011年の「凝集附着性STEC O104:H4」アウトブレイクにより、ますます複雑になったといえる。また、選択性の高い分離培地に発育しないnon-O157 STECは分離に手間がかかるため、食品従事者などの保菌者検便はもちろん、散発下痢症患者の検査でも一般的には検出対象とされない場合が多いと考えられ、感染者数が低く見積もられている可能性がある。たとえば、大阪府ではこれまでに10名のO165感染者が報告されているが、2名のHUS患者を含む9名は細菌検査室をもつ総合病院などで分離されており、その臨床症状からSTECを強く疑って検査したことが同える。

STECの発見から約30年がたち、一部のSTECについては、多くの外来遺伝子の挿入によってヒトへの病原性を獲得してきたことが明らかにされた。とはいえ、わからないことはまだまだ多い。治療や感染予防対策の助けとなるよう、HUSや脳症の発症要因、保菌動物および環境中での消長や抵抗性など解明すべき課題は多い。

## 引用文献

- 1) L. W. Riley, R. B. Remis, S. D. Helgerson, H. B. McGee, J. G. Wells, B. R. Davis, R. J. Hebert, E. S. Olcott, L. M. Johnson, N. T. Hargrett, P. A. Blake and M. L. Cohen, *N. Engl. J. Med.*, **308**, 681-685(1983).
- 2) J. Konowalchuk, J. Speirs and S. Stavric, *Infect. Immun.*, **18**, 775-779(1977).
- 3) 小林一寛, 原田七寛, 中務光人, 神野逸郎, 石井経康, 下辻常介, 田村和満, 坂崎利一, *感染症誌*, **59**, 1056-1060(1985).
- 4) 伊藤武, 甲斐明美, 斎藤香彦, 柳川義勢, 稲葉美佐子, 高橋正樹, 高野伊知郎, 松下秀, 工藤泰雄, 寺山武, 大橋誠, 唐木一守, 山下征洋, 池上重明, 佐藤穂積, 関友次, 加藤喜市, 弘岡淑夫, 山田幸正, 秋山博, 大関哲也, 大茂豊, 山之内淳, 土谷啓文, 網川敏夫, 田崎達明, *東京都立衛生研究所年報*, **36**, 16-22(1985).
- 5) 田中博, 大瀬戸光明, 山下育孝, 篠原信之, 井上博雄, 佐々木嘉忠, 柿原良俊, 塚本定三, 湯通堂隆, 奥裕一, 竹田美文, *感染症誌*, **63**, 1187-1194(1989).
- 6) 城宏輔, *臨床と微生物*, **18**, 457-465(1991).
- 7) P. S. Mead and P. M. Griffin, *Lancet*, **352**, 1207-1212(1998).
- 8) J. Meng, M. P. Doyle, T. Zhao and S. Zhao, "Food microbiology: Fundamentals and Frontiers, 3rd ed.", M. P. Doyle and L. R. Beuchat eds., ASM Press, Washington, D. C., 2007, pp. 249-269.
- 9) I. M. Pruijboom-Brees, T. W. Morgan, M. R. Ackemann, E. D. Nystrom, J. E. Samuel, N. A. Cornick and H. W. Moon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 10325-10329(2000).
- 10) J. Garmendia, G. Frankel and V. F. Crepin, *Infect. Immun.*, **73**, 2573-2585(2005).
- 11) K. Seto, M. Taguchi, K. Kobayashi and S. Kozaki, *J. Vet. Med. Sci.*, **69**, 1215-1222(2007).
- 12) S. Ethelberg, K. E. P. Olsen, F. Scheutz, C. Jensen, P. Schiellerup, J. Engberg, A. M. Petersen, B. Olesem, P. Gerner-Smidt and K. Molbak, *Emerg. Infect. Dis.*, **10**, 842-847(2004).
- 13) A. W. Paton, P. Srimanote, M. C. Woodrow and J. C. Paton, *Infect. Immun.*, **69**, 6999-7009(2001).
- 14) Y. Lu, S. Iyoda, H. Satou, H. Satou, K. Itoh, T. Saitoh and H. Watanabe, *Infect. Immun.*, **74**, 5747-5755(2006).
- 15) L. Beutin, G. Krause, S. Zimmermann, S. Kaulfuss and K. Gleier, *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 1099-1108(2004).
- 16) P. Boerlin, S. A. McEwen, F. Boerlin-Petzold, J. B. Wilson, R. P. Johnson and C. L. Gyles, *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 497-503(1999).
- 17) 重茂克彦, 品川邦汎, *獣医畜産新報*, **62**, 807-811(2009).
- 18) Y. Sasaki, Y. Tsujiyama, M. Kusakawa, M. Murakami, S. Katayama, Y. Yamada, *Vet. Microbiol.*, **150**, 140-145(2011).
- 19) M. Kijima-Tanaka, K. Ishihara, A. Kojima, A. Morioka, R. Nagata, M. Kawanishi, M. Nakazawa, Y. Tamura and T. Takahashi, *J. Vet. Med.*, **B52**, 230-237(2005).
- 20) W. C. Cray and H. W. Moon, *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 1586-1590(1995).
- 21) D. A. Widiasih, N. Ido, K. Omoe, S. Sugii and K. Shinagawa, *Epidemiol. Infect.*, **132**, 67-75(2004).
- 22) 病原微生物検出情報, **32**, 1-2(2011).
- 23) K. Kato, R. Shimoura, K. Nashimura, K. Yoshifuzi, K. Shieoshita, N. Sakurai, H. Kodama and S. Kuramoto, *Jpn. J. Infect. Dis.*, **58**, 332-333(2005).
- 24) F. Scheutz and N. A. Strockbine, "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed. Volume Two, Part B", G. M. Garrity, D. J. Brenner, N. R. Kreig and J. T. Staley eds., Springer, New York, 2005, pp. 607-624.
- 25) E. C. Mathusa, Y. Chen, E. Enache and L. Hontz, *J. Food Prot.*, **73**, 1721-1736(2010).
- 26) C. Frank, D. Werber, J. P. Cramer, M. Askar, M. Faber, M. A. Heiden, H. Bernard, A. Fruth, R. Prager, A. Spode, M. Wadl, A. Zoufaly, S. Jordan, K. Stark and G. Krause; the HUS Investigation Team, *N. Engl. J. Med.*, **365**, 1771-1780(2011).
- 27) "High probability of responsibility of fenugreek seeds for EHEC O104:H4 outbreak", Bundesinstitut für Risikobewertung,

URL: [http://www.bfr.bund.de/cm/349/high\\_probability\\_of\\_responsibility\\_of\\_fenugreek\\_seeds\\_for\\_ehec\\_o104\\_h4\\_outbreak.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/349/high_probability_of_responsibility_of_fenugreek_seeds_for_ehec_o104_h4_outbreak.pdf) (Oct 10. 2011).

- 28) "Characterization of EHEC O104:H4", RKI Homepage, URL: [http://www.rki.de/cln\\_151/nn\\_217400/EN/Home/EHECO104\\_templateId=raw,property=publicationFile.pdf/EHECO104.pdf](http://www.rki.de/cln_151/nn_217400/EN/Home/EHECO104_templateId=raw,property=publicationFile.pdf/EHECO104.pdf) (Jun 4. 2011).
- 29) S. Iyoda, K. Tamura, K. Itoh, H. Izumiya, N. Ueno, K. Nagata, M. Togo, J. Terajima and H. Watanabe, *FEMS Microbiol. Lett.*, **191**, 7-10(2000).
- 30) S. Morabito, H. Karch, P. Mariani-Kurkdjian, H. Schmidt, F. Minelli, E. Bingen and A. Caprioli, *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 840-842(1998).
- 31) T. Hayashi, K. Makino, M. Ohnishi, K. Kurokawa, K. Ishii, K. Yokoyama, C. G. Han, E. Ohtsubo, K. Nakayama, T. Murata, M. Tanaka, T. Tobe, T. Iida, H. Takami, T. Honda, C. Sasakawa, N. Ogasawara, T. Yasunaga, S. Kuhara, T. Shiba, M. Hattori and H. Shinagawa, *DNA Res.*, **8**, 11-22(2001).
- 32) N. T. Perna, G. 3rd. Plunkett, V. Burland, B. Mau, J. D. Glasner, D. J. Rose, G. F. Mayhew, P. S. Evans, J. Gregor, H. A. Kirkpatrick, G. Posfai, J. Hackett, S. Klink, A. Boutin, Y. Shao, L. Miller, E. J. Grotbeck, N. W. Davis, A. Lim, E. T. Dimalanta, K. D. Potamouisis, J. Apodaca, T. S. Anantharaman, J. Lin, G. Yen, D. C. Schwartz, R. A. Welch and F. R. Blattner, *Nature*, **409**, 529-533(2001).
- 33) S. Iyoda and H. Watanabe, *Microbiology*, **150**, 2357-2371 (2004).
- 34) T. Tobe, H. Ando, H. Ishikawa, H. Abe, K. Tashiro, T. Hayashi, S. Kuhara and N. Sugimoto, *Mol. Microbiol.*, **58**, 320-333(2005).
- 35) Y. Ogura, T. Ooka, A. Iguchi, H. Toh, M. Asadulghani, K. Oshima, T. Kodama, H. Abe, K. Nakayama, K. Kurokawa, T. Tobe, M. Hattori and T. Hayashi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 17939-17944(2009).
- 36) F. Scheutz, E. M. Nielsen, J. Frimodt-Møller, N. Boise, S. Morabito, R. Tozzoli, J. P. Nataro and A. Caprioli, *Euro Surveill.*, **16**, 19889(2011).
- 37) H. Fukushima and R. Seki, *FEMS Microbiol. Lett.*, **238**, 189-197(2004).
- 38) J. Hu, D. Green, J. Swoveland and M. Grant, D. S. Boyle, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **65**, 21-26(2009).
- 39) K. A. Bettelheim, H. Evangelidis, J. L. Pearce, E. Sowers and N. A. Ströckbine, *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 760-761(1993).

---

## PROFILE



### 勢戸 和子

大阪府立公衆衛生研究所感染症部細菌課  
主任研究員  
獣医師、博士 (獣医学)

1985年大阪府立大学農学研究科博士前期課程獣医学専攻修了、同年大阪府立公衆衛生研究所研究員、1996年同主任研究員、現在に至る。

消化管感染症

# 腸管出血性大腸菌の確定診断と迅速診断法

勢戸 和子<sup>※1</sup>・伊豫田 淳<sup>※2</sup>・寺嶋 淳<sup>※2</sup>

※1：大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

※2：国立感染症研究所 細菌第一部

**小児科臨床** 別刷

65：2012—12

2. 消化管感染症

4) 腸管出血性大腸菌の確定診断と迅速診断法

せとかずこ 勢戸和子<sup>※1</sup>

いよだすなお 伊豫田淳<sup>※2</sup>

てらじま じゅん 寺嶋 淳<sup>※2</sup>



KEY WORDS

腸管出血性大腸菌, EHEC, ベロ毒素, VT, 志賀毒素

I. EHEC 感染症の現状

2008年から2010年までに国内において確認された腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) による感染者数は総計12,344名で、このうち有症者は8,144名 (66%) であった。有症者のうち9歳以下の小児は全体の39.8%を占め、溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) 発症者に限定すると69.9% (269名中188名) を占めた<sup>1)</sup>。

国立感染症研究所 (以下、感染研) 細菌第一部における解析では、血便または HUS 発症者 (重症者) 由来の EHEC のうち、O157 (全体の80%以上を占める)、O26, O121, O111, O145, O103, O165の順に分離数が多く、これら7大O血清群で重症者由来 EHEC の99%を占めている。

II. EHEC 感染症の確定診断

EHEC の確定診断には、臨床検体からの

志賀毒素 (ベロ毒素: Vero toxin [VT]) 産生性または VT 遺伝子を保有する大腸菌 (EHEC) の分離が必要であるが、HUS 症例に限っては、菌が分離されない場合においても便中の VT 検出、または患者血清中の抗大腸菌抗体価の検出によって届け出が可能である。以下にその詳細について述べる。

1. EHEC の分離同定

1) 検体の採取

EHEC 分離のための糞便検体は自然排泄便が望ましいが、採取できない場合は直腸粘液をスワブで採取する。採取後ただちに検査できない場合は Cary-Blair 培地等に保存して輸送する。激しい下痢を呈している場合は下痢便を遠心し、沈渣を検査に供する。

2) 分離培養

分離頻度の高い O157 と O26 については、それぞれの生化学的性状を利用した分離培地が市販されている。すなわち、O157 がソルビトール遅発酵であることや O26 がラムノース非発酵であることを利用し、選択剤 (セ

※1: 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課 (〒537-0025 大阪府大阪市東成区中道1-3-69)

※2: 国立感染症研究所 細菌第一部

フィキシム0.05 mg/L および亜テルル酸カリウム2.5 mg/L) を加えたソルビトール・マッコンキー寒天培地(CT-SMAC)やラムノース・マッコンキー寒天培地(CT-RMAC) がそれぞれ汎用されている。最近では、 $\beta$ -ガラクトシダーゼや $\beta$ -グルクロニダーゼに特異的な発色基質を利用する合成基質培地が使用されることも多い。製品によってコロニーの色調は異なるが、どの培地においてもコロニーの密集した部分では説明書どおりの色調を示さないことがある。また、特徴的な色調のコロニーがすべてEHECであるとは限らない。

CT-SMAC/RMAC と合成基質培地はおおむね同程度の選択性を示し、O157, O26, O111のほかO103やO121, O145の多くは発育する。しかし、小児のHUS患者から分離例のあるO165やO177などは選択性の高い培地には発育しない株もあるため、EHEC感染が強く疑われる場合は、一般的な大腸菌分離培地も併用した方がよい。なお、EHECのスクリーニングにenterohemolysin (E-hly) 産生性をみるエンテロヘモリジン培地が使用されることがあるが、あくまでもE-hly産生性は指標であり、VT産生性と一致しない。

### 3) 同定とO抗原型別

EHECが疑われるコロニーをTSI寒天培地、LIM培地、CLIG培地、トリプトソイ寒天斜面培地などに釣菌する。CLIG培地はUVを照射して $\beta$ -グルクロニダーゼ活性を判定できるうえ、セロビオース分解能(斜面部、大腸菌は陰性)で大腸菌以外の*Escherichia*属菌や*Kluyvera*属菌を鑑別できる。

大腸菌の多くは、乳糖分解性、リジン脱炭酸酵素陽性、インドール陽性、運動性陽性、 $\beta$ -グルクロニダーゼ陽性を示すが、いずれの性状も5~15%は例外があり、EHEC O157は $\beta$ -グルクロニダーゼ陰性である。し

かし、ドイツなどで分離されるEHEC O157: HNMはソルビトール陽性・ $\beta$ -グルクロニダーゼ陽性を示すことが多く、日本でも $\beta$ -グルクロニダーゼ陽性のEHEC O157が分離されている<sup>2)</sup>。O111やO165はリジン脱炭酸酵素陰性、運動性陰性が多い。

O抗原の型別は、加熱死菌液を抗原とし、スライド凝集反応で実施する。O157についてはラテックスに抗O157抗体を感作させた大腸菌O157検出試薬UNI (UNI, OXOID) があり、特異性、感度ともに優れている。大腸菌のO抗原は大腸菌以外の腸内細菌科細菌と共通または同一抗原を示す場合があり、O157抗原は*Salmonella* O30および一部の*Citrobacter freundii*と血清学的に一致することから、大腸菌と同定された菌株で実施しなければならない。

大腸菌のO抗原はO1からO187まで(O31, O47, O67, O72, O94, O122は欠番)、H抗原はH1からH56まで(H13, H22, H50は欠番)が定義されている。世界各国でヒトから分離されたO抗原型は130以上あり、このうち67タイプはHUS患者から分離されている<sup>3)</sup>。日本においてもO157以外(non-O157)のEHECによる感染が増加しており、O抗原型別不能(OUT)株も毎年20~40株程度報告されている。O抗原型は接触者や感染源の調査に有益な情報となるが、EHECの分離同定はVT産生性またはVT遺伝子の検出を指標にするべきである。

### 4) VT検出法

免疫学的にVTを検出する方法は、イムノクロマト(IC)法、逆受身ラテックス凝集反応(RPLA)法、酵素抗体(EIA)法があり、体外診断用医薬品としてDuopath® Verotoxins (Merck Millipore)、キャピリア®VT (株式会社タウンズ)、VTEC-RPLA (デンカ生研株式会社)、オーソ®VT1/VT2® (オーソ・クリニカル・ダイアグノス

表 VT 検出法の比較

Subtype	EIA <sup>a)</sup>			RPLA <sup>b)</sup>			Duopath VT <sup>c)</sup>		
	被検株数	陽性	陰性 <sup>d)</sup>	被検株数	陽性	陰性 <sup>d)</sup>	被検株数	陽性	陰性 <sup>d)</sup>
1a	3	3		8	8		4	4	
1c	1	1		3	3		3	3	
1d	5	3	2	3	3		3	3	
2a	3	3		9	9		4	4	
2b	2		2	8	6	2	8		8
2c	10	4	6	13	12	1	12	7	5
2d	6	6		6	6		6	3	3
2e	7		7	10		10	6		6
2f	12		12	12	11	1	12		12
2g	2		2	2	1	1	2	1	1
Total	51	20	31	74	59	15	60	25	35

a) オーツ®VT1/VT2®を使用. TSB 発育菌50  $\mu$ L を検体希釈液200  $\mu$ L に加えて混和後100  $\mu$ L を被検液とした.

b) VTE-RPLA を使用. CAYE 培養液をポリミキシンB処理して被検液とした.

c) Duopath® Verotoxins を使用. CAYE 培養液をポリミキシンB処理して被検液とした.

d) 実施ごとに判定が異なるは陰性とした.

ティックス株式会社) が市販されている。VT は志賀毒素と同一の抗原性をもつ VT1 と免疫学的に異なる VT2があるが、感染症法では VT を産生する大腸菌を EHEC としており、毒素型の決定までは求めている。上記製品のうち Duopath® Verotoxins と VTEC-RPLA は VT1, VT2の型別が可能である。

IC 法は、試料滴下部に100  $\mu$ L または160  $\mu$ L の被検液を滴下後15~20分後に判定できることから、迅速で簡便な方法として優れているが、検出感度は RPLA 法に比べ4倍程度低い。RPLA 法は安価なうえ、検出感度は約1 ng/mL と高いが、被検液と試薬を混合後、判定までに16時間以上静置する必要がある。EIA 法は RPLA 法と同程度かやや高い感度を有し、約3時間で判定できる。測定波長 (450 nm) と対照波長 (630 nm) で測定可能なマイクロプレートリーダーが必要であり、4ステップの反応と洗浄操作が煩雑であるが、多検体処理能力に優れている。

いずれの製品も被検液の調整には、寒天培

地発育菌をポリミキシンB溶液や検体希釈液にかき取る方法と、液体培地を用いる方法があり、製品によって菌量や培養条件が多少異なっている。IC 法や EIA 法では、菌の濃度が極端に濃いと偽陽性を示す場合がある。

VT2サブタイプのうち、O157に多い VT2c は VT2に比べ RPLA 法の検出感度が低く、IC 法や EIA 法では検出されないことがある。ソルビトール陰性・ $\beta$ -グルクロニダーゼ陰性の典型的な性状を示す O157で VT 陰性の場合、VT 遺伝子を確認することが望ましい。このほかのサブタイプについては、ヒト由来株での分離頻度は不明であるが、免疫学的に検出できないことも多い (表)。

IC 法と RPLA 法は大腸菌と同定された菌株について検査する試薬であるが、分離培地上のコロニーから実施して良好な結果が得られたとの報告がある<sup>4)5)</sup>。大阪府立公衆衛生研究所における日常検査でも、分離培地の濃厚発育部位をかき取って被検液を作製し、RPLA 法を実施している。4~5時間静置

後に凝集の有無が推定できるので、陽性となった場合は多数のコロニーを釣菌する。釣菌時に確認培地に加えて CAYE 培地でも培養することにより、翌日大腸菌の性状確認と同時に IC 法で VT を確認できる。

EIA 法は糞便から直接 VT 検出を実施できる。保存糞便47検体を用いた検討では、EIA 法陽性が23検体あり、このうち22検体は直接分離培養で、残りの1検体は増菌培養で、O157またはO103が分離された。一方、EIA 法陰性検体のうち18検体から直接分離培養でO157が分離され、糞便中のVT量が検出感度以下の場合も多いと考えられた。

#### 5) VT 遺伝子の PCR による検出

PCR による VT 遺伝子の検出法は感度が高く、VT の有無を確認するには有効な手段である。感染研ホームページから入手可能な「EHEC 検査マニュアル」<sup>6)</sup>では、特異性に優れ、VT1およびVT2のサブタイプ (1a, 1c, 1d, 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, 2f, 2g) が検出可能なプライマーおよびPCR反応系について記載されており、詳細についてはそちらを参考にされたい。

#### 6) EHEC 分離同定の問題点

EHEC 感染症の届出には、大腸菌の分離と分離株のVT産生性またはVT遺伝子の確認が必要であり、早くても3日を要する。強い腹痛や血便など疑わしい症例では、選択分離培地からVTまたはVT遺伝子の検出を実施し、推定的な判定を行うことが望ましい。

検査法の進歩により、どの国でも non-O157 EHEC の分離報告が増加し、重症例や集団事例の原因となっている<sup>7)</sup>。しかし、non-O157 EHEC の多くは非病原性の大腸菌と同じ性状を示し、その分離には手間がかかる。日本では、食品従事者等の保菌者検便はもちろん、散発下痢症患者の検査でも一般的には検出対象とされない場合が多いと考えら

れ、感染者数が低く見積もられている可能性がある。

## 2. 血清学的診断法

大腸菌のO抗原凝集抗体価は下痢発症後2～6日目に上昇することがわかっており、菌が分離できないHUS症例では血清診断が有効な確定診断の手法となる。検査に用いる血清は発症直後と数日後のペア血清で抗体価の上昇を確認することが望ましく、HUS発症後でも複数の血清について測定した方がよい。HUSと診断される前に採血される症例は少ないので、発症日・血清採取日は重要な情報となる。HUSの起因菌として最も多いO157のLPS抗体については、O157チェック「LPS抗体」(三菱化学メディエンス株式会社)が市販されており、ラテックス・スライド凝集反応により簡便に検出できる。

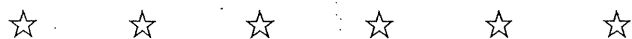
EHEC感染が疑われるHUS患者から分離されるEHECのうち、国内で起因菌として分離頻度が高い7種類の大腸菌O血清群(O157, O111, O26, O103, O145, O121, O165)の分離株を用いる。患者血清は56℃30分で非働化して希釈したものを上記の抗原と混合し、凝集を確認する。詳細については感染研ホームページから入手可能な「EHEC検査マニュアル」<sup>6)</sup>を参照されたい。重症例において血清診断で特定のO抗原陽性と判明した場合、特定のO抗原に絞って菌分離を行うことが可能となる。

なお、HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価の測定はEHECの分離・不分離にかかわらず感染研・細菌第一部に依頼することが可能である。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所・感染症発生動向調査週報のまとめ (<http://idsc.nih.go.jp/disease/ehec/idwr11week36.html>, <http://idsc.nih.go.jp/disease/ehec/idwr10week29.html>, <http://idsc.nih.go.jp/disease/ehec/idwr09week35.html>)

- 2) Nagano H, Okui T, Fujiwara O, Uchiyama Y et al : Clonal structure of Shiga toxin (Stx) -producing and  $\beta$ -D-glucuronidase positive *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from outbreaks and sporadic cases in Hokkaido, Japan. J Med Microbiol 51 : 405~416, 2002
- 3) Scheutz F, Strockbine NA : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed. Volume Two, Part B, Genus I. Escherichia., Springer, New York, p.607~624, 2005
- 4) Park CH, Kim HJ, Hixon DL et al : Evaluation of Duopath Verotoxin Test for detection of Shiga toxins in cultures of human stools. J Clin Microbiol 41 : 2650~2653, 2003
- 5) Beutin L, Zimmermann S, Gleier K : Evaluation of the VTEC-Screen "Seiken" test for detection of different types of Shiga toxin (verotoxin) -producing *Escherichia coli* (STEC) in human stool samples. Diagn Microbiol Infect Dis 42 : 1~8, 2002
- 6) EHEC 検査マニュアル. (<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC.pdf>)
- 7) Mathusa EC, Chen Y, Enache E, Hontz L : Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. J Food Protect 73 : 1721~1736, 2010





# Human Gastroenteritis Outbreak Associated with *Escherichia albertii*, Japan

Tadasuke Ooka, Eisuke Tokuoka, Masato Furukawa, Tetsuya Nagamura, Yoshitoshi Ogura, Kokichi Arisawa, Seiya Harada, and Tetsuya Hayashi

Although *Escherichia albertii* is an emerging intestinal pathogen, it has been associated only with sporadic human infections. In this study, we determined that a human gastroenteritis outbreak at a restaurant in Japan had *E. albertii* as the major causative agent.

*Escherichia albertii* is an emerging human and bird pathogen that belongs to the attaching and effacing group of pathogens. This group of pathogens forms lesions on intestinal epithelial cell surfaces by the combined action of intimin, an *eae* gene-encoded outer membrane protein, and type III secretion system effectors (1–4).

Recently, we found that *E. albertii* represents a substantial proportion of the strains that had previously been identified as *eae*-positive *Escherichia coli*, enteropathogenic *E. coli* or enterohemorrhagic *E. coli*; 26 of the 179 *eae*-positive strains analyzed were found to be *E. albertii* (5). Furthermore, *E. albertii* is also a potential Shiga toxin 2f (Stx2f)-producing bacterial species (5). However, no *E. albertii*-associated gastroenteritis outbreak has been reported, which generates doubts regarding the clinical role of this microorganism. In this study, we revisited an outbreak of gastroenteritis that was presumed to have been caused by *eae*-positive atypical *E. coli* OUT:HNM (6) to determine if it was actually caused by *E. albertii*.

## The Study

An outbreak of gastroenteritis occurred at the end of May 2011 in Kumamoto, Japan, among persons who attended 1 of 2 parties held in a Japanese restaurant on May 29. We

Author affiliations: University of Miyazaki, Miyazaki, Japan (T. Ooka, Y. Ogura, T. Hayashi); Kumamoto Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Kumamoto, Japan (E. Tokuoka, M. Furukawa, T. Nagamura, S. Harada); and University of Tokushima, Tokushima, Japan (K. Arisawa)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1901.120646>

reviewed case records for the 94 persons who attended the parties. A total of 48 persons became ill; 43 of them attended the first party (a total of 86 attended), and 5 attended the second party (a total of 8 attended). The ill participants had not eaten any food in common except for the meals served at the restaurant. The main symptoms of the patients were diarrhea (83%), abdominal pain (69%), fever (44%; mean temperature 37.2°C), and nausea (29%). The mean incubation period was 19 h.

A routine protocol to identify bacteria and viruses (online Technical Appendix, [wwwnc.cdc.gov/EID/pdfs/12-0646-Techapp.pdf](http://wwwnc.cdc.gov/EID/pdfs/12-0646-Techapp.pdf)) was used by our laboratory to examine 54 fecal specimens from 44 party participants and 10 members of the restaurant kitchen staff (7 party participants and all of the kitchen staff were asymptomatic). Atypical *E. coli* (lactose negative; OUT:HNM) strains harboring the *stx2d* and *astA* (but not *eae*) genes were isolated from 24 and 3 specimens, respectively; 7 specimens yielded both strains (Table 1). The *stx2*-positive/*eae*-negative *E. coli* strains were found to be serotype O183 (a recently described O serotype) by agglutination testing with O183-specific antiserum (S. Iyoda, M. Ohnishi, unpub. data).

All atypical *E. coli* strains showed identical or nearly identical *Xba*I-digested DNA banding patterns by pulsed-field gel electrophoresis, and the 10 *E. coli* O183:H18 strains also exhibited identical patterns (Figure). The source of the infection was most likely the meals served in the restaurant, but a bacteriological examination of the meal or of the ingredients used to prepare the meal was not possible because none of the food was preserved for analysis.

The lactose-negative/*eae*-positive features of the OUT:HNM strains suggested that these strains might be *E. albertii*. We examined additional biochemical properties of these strains and found that they exhibited the *E. albertii*-specific features described (4,5). These features include nonmotility, inability to ferment xylose and lactose, and inability to produce  $\beta$ -D-glucuronidase. The *E. coli* O183:H18 strains demonstrated common phenotypic and biochemical properties of *E. coli* (7).

To determine whether the *E. albertii*-like OUT:HNM strains were *E. albertii*, we randomly selected 6 strains and determined their phylogeny by multilocus sequence analysis as described (5) (online Technical Appendix Table). Results indicated that although the *E. coli* O183:H18 strain analyzed in parallel belongs to *E. coli sensu stricto*, the *E. albertii*-like OUT:HNM strains belong to the *E. albertii* lineage; all 6 strains showed identical sequences (online Technical Appendix Figure).

We further examined the intimin subtype by sequencing the *eae* gene, the chromosome integration site of the locus of enterocyte effacement encoding the *eae* gene and a

Table 1. Isolates from fecal specimens of party participants during outbreak of gastroenteritis associated with *Escherichia albertii*, Japan\*

Isolate	Origin of isolates				
	Participants, n = 44			Kitchen staff, n = 10	
	Symptomatic	Asymptomatic	No information	Symptomatic	Asymptomatic
<i>E. albertii</i> †	21	1	0	0	2
<i>E. albertii</i> † and <i>E. coli</i> O183:H18‡	7	0	0	0	0
<i>E. coli</i> O183:H18‡	3	0	0	0	0
None	6	5	1	0	8

\*None, negative for both pathogens.

†Initially identified as atypical (lactose negative) *E. coli* OUT:HNM harboring the intimin (*eae*) gene.‡Initially identified as *eae* negative *E. coli* OUT:H18 harboring the Shiga toxin 2d and enteroaggregative *E. coli* heat-stable toxin genes.

set of type III secretion system genes, and the presence and subtype of the *cdtB* gene as described (5). Results showed that the *E. albertii* strains had intimin  $\sigma$ , which is rarely identified in enteropathogenic *E. coli* or enterohemorrhagic *E. coli*; the locus of enterocyte effacement was integrated into the *pheU* tRNA gene; and the *cdtB* gene of the II/III/V subtype group was present. These features are consistent with recently described genetic features of *E. albertii* (5).

We divided the party participants into 4 groups according to strain isolation patterns and statistically assessed the association of strain isolation patterns with incidence of clinical symptoms (Table 2). The results indicated that persons infected with only *E. albertii* or persons infected with *E. albertii* and *E. coli* O183:H18 had diarrhea and abdominal pain more frequently than did uninfected persons ( $p < 0.05$ ) and that the incidence of asymptomatic carriers was lower among persons infected only with *E. albertii*.

Nucleotide sequences obtained in this study have been deposited in the DNA Data Bank of Japan/European Molecular Biology Laboratory/GenBank database. Accession numbers and other information on sequence analyses are shown in the online Technical Appendix.

### Conclusions

In this gastroenteritis outbreak, *E. albertii* or *stx2*-positive *E. coli* O183:H18 was isolated from 24 ill patients; both strains were isolated from 7 patients. Thus, although the responsible meal or food was not identified, it was most likely contaminated with these 2 microorganisms. The contribution or involvement of *E. coli* O183:H18 in this outbreak is unknown because there were 3 patients from whom only *E. coli* O183:H18 was isolated and because there were no differences in clinical symptoms between persons infected with *E. coli* O183:H18 and persons not infected (Tables 1, 2). In contrast, *E. albertii* was isolated

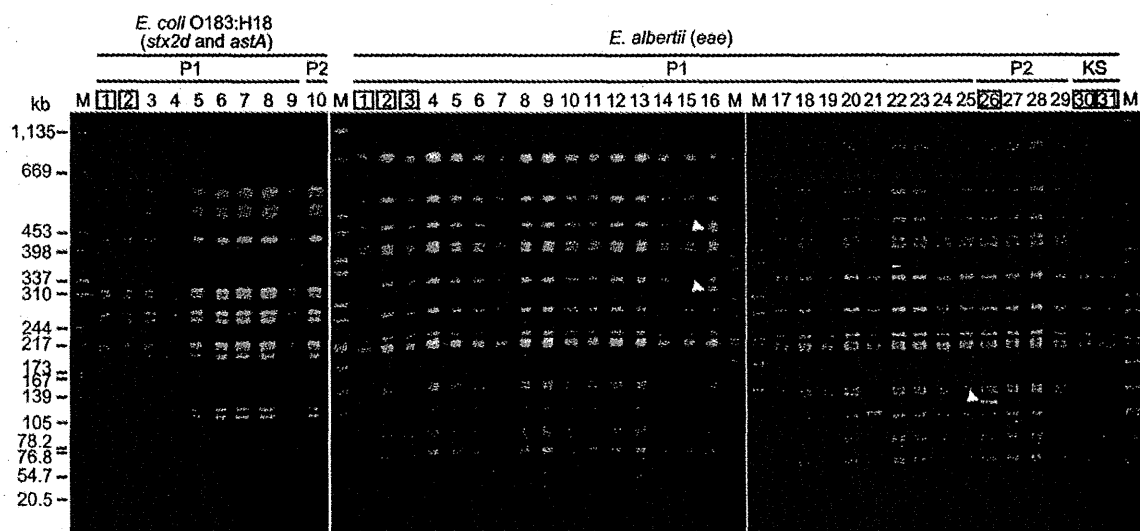


Figure. XbaI-digested pulsed-field gel electrophoresis profiles of isolates from fecal specimens collected from patients during an outbreak of human gastroenteritis associated with *Escherichia albertii*, Japan. Extra bands observed in 2 *E. albertii* isolates are indicated by arrowheads (only 1 or 2 band differences). The 2 *E. coli* O183:H18 and 6 *E. albertii* isolates indicated by numbers in boxes were subjected to multilocus sequence analysis (see text and online Technical Appendix, [wwwnc.cdc.gov/EID/pdfs/12-0646-Techapp.pdf](http://wwwnc.cdc.gov/EID/pdfs/12-0646-Techapp.pdf)). *stx2d*, Shiga toxin 2d gene; *astA*, enteroaggregative *E. coli* heat-stable toxin gene; *eae*, intimin gene. Lane M, *Salmonella enterica* serovar Braenderup strain H9812 (used as a DNA size standard); lanes P1, Party 1; lanes P2, Party 2; lanes KS, kitchen staff.

Table 2. Clinical symptoms of party participants during outbreak of gastroenteritis associated with *Escherichia albertii*, by pathogen identified, Japan\*

Symptom	<i>E. albertii</i> , n = 21†	<i>E. albertii</i> and <i>E. coli</i> O183:H18, n = 7	<i>E. coli</i> O183:H18, n = 3	None,‡ n = 11§
Diarrhea	17 (81)¶	7 (100)§	1 (33)	4 (36)
Abdominal pain	16 (76)¶	6 (86)§	2 (67)	3 (27)
Nausea	5 (24)	5 (71)§	0	1 (9)
Fever	8 (38)	4 (57)	2 (67)	4 (36)
None	1 (5)¶	0	0	5 (45)

\*Values are no. (%). None, negative for both pathogens.

†One symptomatic person was excluded because no clinical record was available.

‡Negative for both pathogens.

§One person was excluded because no clinical record was available.

¶A 2-tailed Fisher exact test ( $p < 0.05$ ) showed significant differences between the groups from which *E. albertii* or *E. coli* O183:H18 was isolated and the groups from which they were not isolated.

from a larger number of patients, and many fecal specimens yielded only *E. albertii* (Table 1).

The proportion of persons who had clinical symptoms was also higher for *E. albertii*-positive party participants than for uninfected persons (Table 2). Therefore, it is plausible that *E. albertii* was the major causative pathogen of this outbreak. This information indicates that *E. albertii* can cause gastroenteritis outbreaks among humans (5).

More attention should be given to sporadic cases and outbreak cases caused by this emerging pathogen. It may also be informative to revisit past outbreak cases caused by *eae*-positive atypical *E. coli* if pathogens were recorded as being nonmotile, unable to ferment lactose and xylose, and unable to produce  $\beta$ -D-glucuronidase.

#### Acknowledgments

We thank Sunao Iyoda and Makoto Ohnishi for sharing their unpublished results of *E. coli* serotyping and Keigo Ekinaga, Haruki Tokunaga, and Ryuusei Higashi for providing materials and epidemiologic information.

This study was supported by a grant-in-aid for scientific research from MEXT Japan (Wakate-B, 23790480) to T.O. and a grant from the Yakult Foundation.

Dr Ooka is an assistant professor in the Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan. His research interests include bacterial genomics and pathogenicity.

#### References

- Albert MJ, Alam K, Islam M, Montanaro J, Rahman AS, Haider K, et al. *Hafnia alvei*, a probable cause of diarrhea in humans. *Infect Immun*. 1991;59:1507-13.
- Albert MJ, Faruque SM, Ansaruzzaman M, Islam MM, Haider K, Alam K, et al. Sharing of virulence-associated properties at the phenotypic and genetic levels between enteropathogenic *Escherichia coli* and *Hafnia alvei*. *J Med Microbiol*. 1992;37:310-4. <http://dx.doi.org/10.1099/00222615-37-5-310>
- Huys G, Cnockaert M, Janda JM, Swings J. *Escherichia albertii* sp. nov., a diarrhoeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2003;53:807-10. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.02475-0>
- Oaks JL, Besser TE, Walk ST, Gordon DM, Beckmen KB, Burek KA, et al. *Escherichia albertii* in wild and domestic birds. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:638-46. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1604.090695>
- Ooka T, Seto K, Kawano K, Kobayashi H, Etoh Y, Ichihara S, et al. Clinical significance of *Escherichia albertii*. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:488-92. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1803.111401>
- Tokuoka E, Furukawa M, Nagamura T, Harada S, Ekinaga K, Tokunaga H, et al. Food poisoning outbreak due to atypical EPEC OUT:HNM, May 2011—Kumamoto. *Infectious Agents Surveillance Report*. 2012;33:8-9.
- Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: Murray PR, Baron EJ, Tenover JC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. Washington (DC): American Society for Microbiology Press; 2007. p. 670-87.

Address for correspondence: Tetsuya Hayashi, Division of Bioenvironmental Science, Frontier Science Research Center, University of Miyazaki, 5200 Kiyotake, Miyazaki 889-1692, Japan; email: thayash@med.miyazaki-u.ac.jp

PubMed In PubMed Central  
All EMERGING INFECTIOUS DISEASES content is in the  
National Library of Medicine's digital archive.

## 同じ病原菌種内での菌株の違いをゲノムからみる ：病原性大腸菌を例として

林 哲也

【要旨】細菌のゲノム解析は極めて急速に進展しており、新型シーケンサーの登場によって、この流れは一段と加速されつつある。完全な全ゲノム配列が公表されている菌種・菌株は既に1000を優に超え、概要配列(ドラフト配列)の決定されているものはその数倍にのぼる。細菌の全ゲノム解析が開始された当初から、病原細菌は最も重要なゲノム解析の対象となってきたが、現在、病原細菌に関しては、大部分の主要病原菌種において、少なくとも1株の代表菌株のゲノム解析が終了したといえる状況となっている。さらに最近では、1)マイナーな病原菌種やヒト常在菌種等への解析対象の拡大、2)同一菌種内での多様な菌株を対象とした大規模なゲノム比較、3)常在細菌叢などの対象としたゲノム解析(メタゲノム解析)などの新しい流れが生じてきている。本稿では、2)の研究に焦点を絞り、その例として、私たちの研究室の主な解析対象である腸管出血性大腸菌を取り上げる。具体的には、腸管出血性大腸菌 O157と非病原性大腸菌K-12株とのゲノム比較、O157とO157以外の血清型のEHEC(O26, O111, O103)との比較解析、さらには同じO157菌株間でのゲノム比較やその結果を応用したO157菌株の迅速識別キット開発などについて紹介する。

Key words: ゲノム比較、ゲノム多様性、進化、腸管出血性大腸菌、病原性

### はじめに

細菌のゲノム解析は極めて急速に進展しており、短時間で大量の配列データが取得できる新型シーケンサーの登場によって、この流れは一段と加速されつつある。完全な全ゲノム配列が公表されている菌種・菌株は既に1000を優に超え、概要配列(ドラフト配列)の決定されているものはその数倍にのぼる。このような状況の中で、最近では様々な環境細菌や有用細菌なども幅広くゲノム解析の対象となってきているが、細菌の全ゲノム解析が開始された当初(1990年代半ば)から、病原菌は常に最も重要なゲノム解析の対象となってきた。このことは病原菌あるいは感染症の研究における全ゲノム情報の必要性あるいは有用性をよく表している。

現在、病原細菌のゲノム解析に関しては、大部分の主要病原菌種において、少なくとも1株の代表菌

株のゲノム解析が終了したといえる状況となっており、病原菌のゲノム解析あるいは医学系の細菌ゲノム研究においては、新しい流れが生じてきている。それらは以下の3点に要約できる。

- (1) マイナーな病原菌種(日和見感染菌など)やヒト常在菌種等へのゲノム解析対象の拡大
- (2) 同一菌種内での、血清型、病原型、進化系統あるいは分離由来(ヒト/動物/環境・重症度・分離地域・場所など)等が異なる多数の菌株のゲノム比較
- (3) 常在細菌叢などの難培養性微生物を含む細菌集団全体を対象としたゲノム解析(メタゲノム解析)

本稿では、(2)の研究に焦点を絞り、その例として、私たちの研究室の主な解析対象である大腸菌、特に種々の病原性大腸菌の中でも臨床的・社会的に最も重要な腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic