

ウシの下痢症原因ともなる。そのエンテロトキシン LT と ST の毒性は家畜とヒトに共通のものが多い。しかし、腸粘膜への定着因子が異なるため、家畜の ETEC は家畜の間で、ヒトの ETEC はヒトの間だけで感染を循環させており相互の行き来はないとされている。今回健康なブタで見つかった ETEC がブタの ETEC であってヒトの汚染源となる可能性があるのか否か、検討してみる価値はある。

EHEC, EPEC, ETEC, 以上 3 タイプの DEC と異なり, EAEC の検出率は全体的に極めて低かったが, 由来別にみるとヒトの保菌率が高かった。したがって, ヒトの DEC はヒトに由来するという従来の定説は, EAEC については矛盾ないようだ。EAEC が希に集団発生を起こしていることからすると(14), 保菌者検索により集団発生を防ぐ対象としては DEC の中で EAEC こそがもっとも相応しい検査対象と言えるかもしれない。EIEC は全く検出されず本邦では問題となる可能性は極めて低いと判断される(15,16)。

#### E. 結論

マルチプレックス・リアルタイムPCR法を適用した増菌培養液のスクリーニングと, スクリーニングで陽性と判定された検体からDECを的確に釣菌分離する

HGMF-CH法の併用が, DECの網羅的な調査に有用であることを実証できた。調査の結果, 下痢原性大腸菌のなかでも腸管病原性大腸菌は腸管出血性大腸菌よりもはるかに高い率で家畜に分布することが判明したが, 分子疫学指標はウシ由来株と患者由来株の相関を示しており, ブタや健康者の分離株は下痢原性が低い可能性が示唆された。腸管侵入性大腸菌は検出されずわが国でのリスクは低いこと, 腸管凝集接着性大腸菌や分散接着性大腸菌の汚染源は家畜ではなくヒトである可能性が高いことが示された。腸管毒素原性大腸菌は低率ながらブタに保菌されている実態が明らかとなったが, ヒトの汚染源となり得るかどうか判断するにはさらに多くの分離菌株を検討する必要がある。

#### F. 文献

1. 光岡知足 (1990): 腸内菌叢の形成, 推移, 分布. p. 87-107. In 光岡知足, (ed.), 腸内細菌学. 朝倉書店, 東京.
2. Hidaka, A., Hokyō, T., Arikawa, K., et al. (2009): Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli*. J. Appl. Microbiol., 106, 410-420.
3. Wang, L., Wakushima, M., Kamata, Y., et al. (2011): Exhaustive isolation of diarrhoeagenic *Escherichia coli* by a colony hybridization method using

- hydrophobic grid-membrane filters in combination with multiplex real-time PCR. *Lett. Appl. Microbiol.*, 53, 264-270.
4. Clermont, O., Bonacorsi, S. and Bingen, E. (2000): Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 4555-4558.
  5. Afset, J. E., Bruant, G., Brousseau, R., et al. (2006): Identification of virulence genes linked with diarrhea due to atypical enteropathogenic *Escherichia coli* by DNA microarray analysis and PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 44, 3703-3711.
  6. Blanco, M., Schumacher, S., Tasara, T., et al. (2005): Serotypes, intimin variants and other virulence factors of eae positive *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle in Switzerland. Identification of a new intimin variant gene (*eae*-eta2). *BMC Microbiol.*, 5, 23.
  7. 甲斐明美 (2009): ETEC (腸管毒素原性大腸菌) . p. 269-280. In 仲西寿男, 丸山務, (ed.), 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規, 東京.
  8. 勢戸和子 (2009): STEC (志賀毒素産生性大腸菌) . p. 281-296. In 仲西寿男, 丸山務, (ed.), 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規, 東京.
  9. 西川禎一 and 麗麗, 王. (2012): 志賀毒素産生性大腸菌の疫学. 日本食品微生物学会雑誌, 29, 141-154.
  10. 伊藤健一郎 (2009): EPEC (腸管病原性大腸菌) . p. 252-262. In 仲西寿男, 丸山務, (ed.), 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規, 東京.
  11. Fujihara, S., Arikawa, K., Aota, T., et al. (2009): Prevalence and properties of diarrheagenic *Escherichia coli* among healthy individuals in Osaka City, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62, 318-323.
  12. Wang, L., Wakushima, M., Aota, T., et al. (2013): Specific properties of enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheal patients: comparison with the strains from foods and fecal specimens of cattle, pigs, healthy carriers in Osaka City, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79,
  13. Hernandez, R. T., Elias, W. P., Vieira, M. A., et al. (2009): An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 297, 137-149.
  14. 伊藤健一郎 (2009): EAaggEC (EAEC) (腸管凝集付着性大腸菌) . p. 297-305. In 仲西寿男, 丸山務, (ed.), 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規, 東京.
  15. 荒川英二 (2009): EIEC (腸管侵入性大腸菌) . p. 263-268. In 仲西寿男, 丸

山務, (ed.), 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規, 東京.

16. Nishikawa, Y., Zhou, Z., Hase, A., et al. (2002): Diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka City, Japan between 1997 and 2000: prevalence of enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 gene-possessing *E. coli*. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 55, 183-190.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

Wang, L., Wakushima, M., Aota, T., Yoshida, Y., Kita, T., Maehara, T., Ogasawara, J., Choi, C., Kamata, Y., Hara-Kudo, Y. and Nishikawa, Y. Specific properties of enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheal patients: comparison between strains from foods, and fecal specimens from cattle, swine and healthy carriers in Osaka City, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:1232-1240, 2013.

2. 学会発表

Wang, L., Wakushima, M., Aota, T., Yoshida, Y., Kita, T., Maehara, T.,

Ogasawara, J., Choi, C., Kamata, Y., Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y. (2012) Specific properties of enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheal patients: comparison with the strains from foods and fecal specimens of cattle, pigs, healthy carriers in Osaka City, Japan. US-Japan Cooperative Medical Science Program Cholera and Other Bacterial Enteric Infections 47th Conference, Chiba, Japan.

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

EAECは人から人へ感染？  
EIECはほぼ消滅？

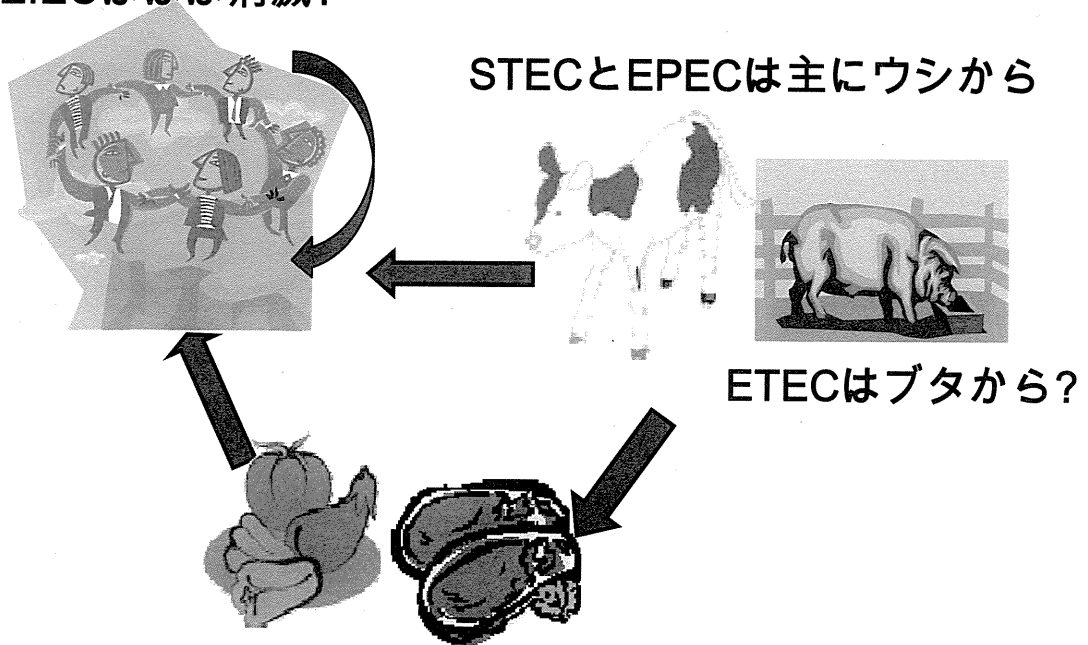


図1. 下痢原性大腸菌の5サブタイプの感染経路と汚染源

表 1. 各検体増菌液のマルチプレックス・リアルタイム PCR 法によるスクリーニング \*

	検体数	EPEC	STEC		ETEC		EAEC
		<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>elt</i>	<i>est-p</i>	<i>aggR</i>
食品・食材	333	25(7.5)	2(0.6)	2(0.6)	2(0.6)	1(0.3)	1(0.3)
ウシ	109	82(75)	29(27)	50(46)	0	0	1(0.9)
ブタ	118	69(59)	12(10)	0	4(3.4)	8(6.8)	0
家畜小計	227	151(67)	41(18)	50(22)	4(1.8)	8(3.5)	1(0.4)
健康者	119	8(6.7)	1(0.8)	1(0.8)	0	0	2(1.7)
総計	679	184(27)	44(6.5)	53(7.8)	6(0.9)	9(1.3)	4(0.6)

\*PCR 陽性検体数 (%)

表 2 . PCR 陽性検体からの下痢原性大腸菌分離の成功率:従来法と HGMF-CH 法の比較

検査法	EPEC	STEC		ETEC		EAEC
	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>elt</i>	<i>est</i>	<i>aggR</i>
従来法	26/184	1/44	4/53	0/6	0/9	1/4
	14%	0.0	0.1	0.0	0.0	25%
HGMF-CH 法	109/184	25/44	25/53	4/6	4/9	2/4
	59%	57%	47%	67%	44%	50%

\* 下痢原性大腸菌が分離された検体数 / 調べた PCR 陽性検体数.

表 3 . EPEC の由来別に見た各系統発生群の菌株数とその割合および菌株の O 抗原

	A	B1	B2	D	小計
食品	7(35.0) <sup>1)</sup> (O18, O115, UT(5) <sup>2)</sup> )	7(35.0) (O103(2), UT(5))	3(15.0) (O20, UT(2))	3(15.0) (O8, UT(2))	20
ウシ	6(14.0) (O15, UT(5))	34(79.1) (O26, O74, O153(3), UT(29))	0	3(7.0) (O157(2), O169)	43
ブタ	23(53.5) (O8, O26(3), O74(2), O115, UT(16))	10(23.3) (O103, UT(9))	8(18.6) (O74(3), UT(5))	2(4.7) (O145, UT)	43
健康	7(18.9) (O27, O74, O145, UT(4))	6(16.2) (O74, O103, O168, UT(3))	20(54.1) (O15, O74, O127a, O128, O166, UT(15))	4(10.8) (O55, O124, O167, UT)	37
患者	1(6.3) (UT)	8(50.0) (O119(2), O153(2), UT(4))	3(18.8) (O63, UT(2))	4(25.0) (O55, O157, UT(2))	16
合計	44(27.7) (O8, O15, O18, O26(3), O27, O74(3), O115(2), O145, UT(31))	65(40.9) (O26, O74(2), O103(4), O119(2), O153(5), O168, UT(50))	34(21.4) (O15, O20, O63, O74(4), O127a, O128, O166, UT(24))	16(10.1) (O8, O55(2), O124, O145, O157(3), O167, O169, UT(6))	159

1): 括弧内の数値は各群の株が占める割合 ( % ) を示す.

2): 括弧内の数値は菌株数を示す. UT; 市販血清による型別不能.

表4 . EPECの由来別に見た各病原性プロフィール群の菌株数とその割合

由来	病原性プロフィール群				小計
	la	lb	II	型別不能	
ウシ	8(18.6) <sup>1)</sup>	31(72.1)	3(7.0)	1(2.3)	43
ブタ	0	14(32.6)	18(41.9)	11(25.6)	43
食品	1(5.0)	8(40.0)	5(25.0)	6(30.0)	20
健康者	2(5.4)	8(21.6)	20(54.1)	7(18.9)	37
患者	7(43.8)	6(37.5)	3(18.8)	0	16
合計	18	67	49	25	159

1): 括弧内の数値は各病原性プロフィール群の株が同一由来株の中で占める割合(%)を示す。



表5. 由来別に見た各インチミン型 EPEC の菌株数とその系統発生群 つづく

インチ ミン型	食品		ウシ		ブタ		健康者		患者		小計	
	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群
α1	1 (5.0) <sup>1)</sup>	B2	0		1 (2.3)	B2	3 (8.1)	B2(3)	0		5 (3.1)	B2(5)
α2	0		0		0		1 (2.7)	D	1 (6.3)	B2	2 (1.3)	B2, D
β1	8 (40.0)	A(3) <sup>2)</sup> , B1(3), D(2)	12 (27.9)	A, B1(11)	5 (11.6)	A, B1, B2(3)	2 (5.4)	B1, D	5 (31.3)	B1(4), B2	32 (20.1)	A(5), B1(20), B2(4), D(3)
ξR/β2B	1 (5.0)	B2	0		0		4 (10.8)	B2(4)	1 (6.3)	B2	6 (3.8)	B2(6)
δ/k/B2O	0		0		11 (25.6)	A(11)	4 (10.8)	A, B2(3)	0		15 (9.4)	A(12), B2(3)
γ1	0		2 (4.7)	D(2)	1 (2.3)	D	2 (5.4)	A,D	3 (18.8)	D(3)	8 (5.0)	A, D(7)

つづき 表5. 由来別に見た各インチミン型 EPEC の菌株数とその系統発生群 つづく

インチ ミン型	食品		ウシ		ブタ		健康者		患者		小計	
	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群
θ/γ2	3 (15.0)	A, B1, B2	9 (20.9)	A, B1(8)	11 (25.6)	A(5), B1(6)	7 (18.9)	A(2), B1(3), D(2)	2 (12.5)	B1(2)	32 (20.1)	A(9), B1(20), B2, D(2)
ε1	2 (10.0)	A, B1	5 (11.6)	B1(5)	3 (7.0)	A(3)	4 (10.8)	A, B1, B2(2)	0		14 (8.8)	A(5), B1(7), B2(2)
vR/ε2	0		6 (14.0)	B1(6)	0		1 (2.7)	B1	0		7 (4.4)	B1(7)
ζ	0		5 (11.6)	B1(5)	1 (2.3)	B2	2 (5.4)	A, B2	0		8 (5.0)	A, B1(5), B2(2)
η	0		0		0		2 (5.4)	B2(2)	0		2 (1.3)	B2(2)
ι1	1 (5.0)	B1	3 (7.0)	A(2), B1	3 (7.0)	B2(3)	5 (13.5)	A, B1, B2(3)	3 (18.8)	A, B1(2)	15 (9.4)	A(4), B1(5), B2(6)

つづき 表5. 由来別に見た各インチミン型 EPEC の菌株数とその系統発生群

インチ ミン型	食品		ウシ		ブタ		健康者		患者		小計	
	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群	菌株 数	系統 発生群
μR/12	0						0		0		0	
λ	0						0		0		0	
μB	0						1 (2.7)	B2	0		1 (0.6)	B2
vB	0						0		0		0	
ξB	0						0		0		0	
UT <sup>3)</sup>	4 (20.0)	A(2), B1, D	6 (14.0)	A(2), B1(3), D	7 (16.3)	A(3), B1(3), D	6 (16.2)	A(2), B2(4)	1 (6.3)	D	24 (15.1)	A(9), B1(7), B2(4), D(4)
合計	20		48 <sup>4)</sup>		43		44 <sup>5)</sup>		16		171	

1): 括弧内の数値は各インチミン型の株が同一由来株の中で占める割合(%)を示す。

2): 括弧内の数値は各系統発生群の菌株数を示す。数値の無いものは1株のみ分離されたことを意味する。

3): 型別不能

4), 5): ウシ由来の5株と健康者由来の7株は2セット型別用プライマーと反応した。

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Iguchi, A., Iyoda, S., Ohnishi, M.	Molecular characterization reveals three distinct clonal groups among clinical Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> strains of serogroup O103.	J. Clin. Microbiol.	50	2894-2900	2012
Ohnishi, T., Goto, K., Kanda, T., Kanazawa, Y., Ozawa, K., Sugiyama, K., Watanabe, M., Konuma, H., Hara-Kudo, Y.	Microbial contamination by procedures of consumption and the growth in beverage.	J. Environ. Sci. Health, Part A.	48	781-790	2013
Wang, L. Wakushima, M., Aota, T., Yoshida, Y., Kita, T., Maehara, T., Ogasawara, J., Choi, C., Kamata, Y., Hara-Kudo, Y. and Nishikawa, Y.	Specific properties of enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> strains isolated from diarrheal patients: comparison between strains from foods, and fecal specimens from cattle, swine and healthy carriers in Osaka City, Japan.	Appl. Environ. Microbiol.	79	1232-1240	2013
Hara-Kudo, Y., Kumagai, S., Konuma, H., Miwa, N., Masuda, T., Ozawa, K., Nishina, T.	Decontamination of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in fish by washing with hygienic seawater and impacts of the high level contamination in the gills and viscera.	J. Vet. Med. Sci.	75	589-596	2013

