

A. 目的

大腸菌 (*Escherichia coli*) は、恒温動物の腸内に広く分布しており、ヒトにおいても出生と同時に腸管内へと急速に広がり常在菌として定着する(1)。しかしながら、大腸菌の一部には特殊な病原因子によって人に下痢症を起こすものがあり、行政的には病原大腸菌、学術的には下痢原性大腸菌 (Diarrheagenic *E. coli*, 以後 DEC と略す) と呼ばれる。

DEC は、その病原機構に基づいて①腸管病原性大腸菌 (Enteropathogenic *E. coli*, EPEC), ②腸管毒素原性大腸菌 (Enterotoxigenic *E. coli*, ETEC), ③志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *E. coli*; STEC), ④腸管侵入性大腸菌 (Enteroinvasive *E. coli*, EIEC), 以上4群に長らく大別されてきたが、2012年1月からは⑤腸管凝集接着性大腸菌 (Enteroadherent *E. coli*, EAEC), も DEC に認定された。他にも分散接着性大腸菌 (Diffusely adherent *E. coli*, DAEC), 細胞膨化致死毒素産生性大腸菌 (CTEC), 腸管凝集接着性大腸菌耐熱性腸管毒素 (EAST1) 遺伝子保有大腸菌 (EAST1EC), 細胞剥脱性大腸菌 (CDEC) など、新たな DEC の候補とされるサブグループが複数存在する。

食中毒事件の調査に際しては、これらすべてを調査対象に含めることが望ましいとされるが、DEC と常在大腸菌を識別することは極めて難しく、培養法を中心とする日常的な検査業務では看過されがちである。我々は、これら DEC の多くを網羅的に検出する方法として、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手法(2)

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手法として疎水性格子膜 (HGMP) を用いたコロニー・ハイブリダイゼーション法 (HGMP-CH 法) を開発した(3)。

本研究は、上記の手法を用いてヒト、家畜、食肉等における各種病原大腸菌の汚染実態を調査し、ヒト病原大腸菌の汚染源を推定することで効率的かつ的確な予防措置に資する情報提供を目的とする。

昨年度は、上記のマルチプレックス・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手法と、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 HGMP-CH 法の併用が、ヒト、家畜、食肉等から各種 DEC を網羅的に検出する上で有用であることを報告し、検出された EPEC 株の分子疫学解析を実施した。その結果、ヒト下痢症患者から分離される EPEC は主としてウシに由来し、健康者の EPEC はヒトからヒトへと広がっている可能性を示唆することができた。

今年度は、これまでデータの少なかった食用鶏の DEC 保菌実態を調査するとともに、ヒト ETEC の汚染源としての家畜の役割を分子疫学的に検討することを第一目的として、患者、健康者、そして以前に当研究室が実施した調査で ETEC 保菌率の高かったブタを中心にできるだけ多くの試料を収集しリアルタイム PCR によるスクリーニングを試みた。陽性と判定された検体からの菌分離には HGMP-CH 法を用いた。

B. 方法

1. 供試検体

平成 24・25 両年度にわたり国立病院機構大阪南医療センターから搬入された下痢症患者便 595 検体、大阪市立環境科学研究所から提出された健康者便 313 検体、平成 25 年度から提供開始された兵庫県食肉衛生検査センターの食用鶏の盲腸便 200 検体とブタの便 60 検体、および大阪市食肉衛生検査所から提供されたブタ便 50 検体、合計 1218 検体を検査に供した。

解析にあたっては、本調査研究に先立って大阪市内の食品店から購入、あるいは大阪市中心卸売市場食品衛生検査所から提供されていた各種食品検体 333 件、大阪市食肉衛生検査所から提供された家畜糞便 227 検体（ウシ 109 頭、ブタ 118 匹）、および大阪市立環境科学研究所から提供された健康者便 119 検体、合計 679 検体(4)の調査結果を合わせた。総計 1897 検体である。

2. 増菌培養法

BGLB ブイヨンあるいは EC ブイヨンで増菌された後に提供された検体も調査の対象として加えたが、食品の増菌培養には基本的に FDA の二段培養法を用い、以下の手順で実施した。

滅菌ストマフィルター(GSI クレオス, 東京)に検体を無菌的に約 10 g とり、システム・ダイリューター (GSI クレオス) を用いて BHI を 10 倍希釈量加えた。マステイケーター (GSI クレオス) を用いて 90 秒間よく混和させ、37° C 3 時間静置した。培養後、フィルターを通して残渣を除きながら別の滅菌ストマフィルター (GSI クレオス) に移し、再びシステム・ダイリューターを用いて等量のトリプトン・フォスフェート・ブイヨンを加え、混和させ

てから 44° C の水浴で 20 時間培養した。培養後のサンプル液は、トリコロール寒天平板に画線塗抹し、37° C 一晚培養して大腸菌および大腸菌群の有無を調べた。

糞便検体はブレインハートインヒュージョン・ブイヨンに接種して 42° C で 20 時間増菌培養したものを試料とした。

3. DNA 抽出

増菌済みの培養液から菌体を回収、PUREGENE Cell and Tissue DNA Isolation kit (Gentra Systems, Minnesota, USA) を用いて以下の手順で DNA を抽出した。

1) 500 μ l の菌懸濁液 (TSB, 37° C 18 時間培養, 約 109cfu/ml) を 1.5ml マイクロチューブにとり、15,000 \times g で 5 分間遠心し、上清を取り除いた。

2) 300 μ l の Cell Lysis Solution を加え、ピペティングして沈殿とよく混合し 80° C 5 分インキュベートした。

3) さらに、ときどき転倒混和しながら 37° C で 30 分インキュベートした。1 分間氷上に置き室温に戻し、軽く遠心して壁に付着した試薬等を落とした。

4) 100 μ l の Protein Precipitation Solution を加え、ボルテックスでハイスピード 20 秒間激しく混和した。

5) タンパク質の沈殿を強固なペレットにするため、15,000 \times g で 4 分間遠心した。

6) 上清を 300 μ l の 100%イソプロパノール (2-Propanol; 和光純薬工業) が入った新しい 1.5ml チューブに移し、穏やかに 50 回転倒混和した。

7) 15,000 \times g で 1 分間遠心し、ペーパーの上に上清を捨て、300 μ l の 70%エタノール

(v/v)を加えて数回転倒させ DNA を洗浄した。

8) さらに 15,000×g で 1 分間遠心し、エタノールを注意深く捨て、ペーパーの上にチューブを伏せてペレットを乾燥した。

9) 50 μl の DNA Hydration Solution を加え、65° C 1 分間インキュベートまたは室温で一晩静置し、途中数回タッピングを行った。DNA は -20° C で保存した。10 target enterovirulence genes (eae, stx1, stx2, elt, est for STh, est for STp, virB, aggR, astA, and afaB) using our multiplex real-time PCR method (2)

4. リアルタイム PCR によるスクリーニング

リアルタイム PCR は stx (Stx1・Stx2)・eae トリプレックス, stx1・stx2 デュプレックス, est (STp・STh)・elt トリプレックス, est (STp)・est (STh)デュプレックス, aggR・astA デュプレックス, virB・afaB デュプレックスの組み合わせで行なった。リアルタイム PCR で使用した afaB プライマーおよびプローブは、Afa/Dr+の DAEC が持つ afaB のみを標的とする。

単一のプライマーを使用する際は Realtime PCR Master Mix (東洋紡)を、マルチプレックスの場合は QuantiTect Multiplex PCR kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)を使用した。用いたプライマーやプローブの詳細は先に報告したとおりである(2)。

PCR 反応液は 96 ウェルプレート (B-96-AB-RT; イナ・オプティカ, 大阪) に分注し、テンプレート DNA 2 μl を添加した。プレートは ThermalSeal RT film (50 μm-thick; EXCEL Scientific, California, USA) でシールし、Optical Adhesive Cover (ABI) で覆った。PCR 条件は、Realtime PCR Master Mix (東洋紡)

の場合は、95° C 1 分の熱変性ステップの後、95° C 15 秒, 60° C 1 分を 40 サイクル行い、QuantiTect Multiplex PCR kit (Qiagen GmbH) の場合は、始めの熱変性を 95° C 15 分行い、95° C 1 分, 60° C 1 分を 40 サイクル行った。

リアルタイム PCR 装置は ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (ABI) を使用し、添付のプロトコールに従い PCR およびデータ解析を行なった。

5. HGMF-CH 法

リアルタイム PCR によるスクリーニングによって DEC 陽性と判定された増菌培養液には先に報告済みの HGMF-CH 法(3)を適用し DEC の分離を試みた。

1) HGMF Spreadfilter (Filtaflex Ltd., Almonte, Canada) にセットした Iso-Grid HGMF (QA Lifesciences Inc., San Diego, CA, USA) 上に PCR で陽性と判定された増菌培養液 1 ml を載せ、全面に広げ、その後 HGMF Spreadfilter を用いてろ過した。HGMF をマッコンキー寒天培地もしくはトリプトソーヤ寒天培地上に置き 37° C で一夜培養した。

2) 培養後の HGMF を原本とし、生じたコロニーを Microbial Colony Replicator (Filtaflex Ltd.) を用いて新しい HGMF に必要枚数転写し培養することでコピーを作製した。

3) 前処理液 (5 mM リン酸ナトリウム緩衝液 [pH 6.0], 100 mM 重炭酸ナトリウム, 0.0066% ポリエチレンイミン) を含ませたワットマン 3MM ろ紙 (GE ヘルスケア, 東京) の上に複製培養した HGMF を置き、室温で 30 分反応させた。

4) 余剰の液を除き 10 分間乾燥させてから、

溶菌液(70% エタノール水溶液に水酸化ナトリウムを 150 mM 溶解)を HGMF 1 枚あたり 3 ml 含ませたワットマンろ紙上に置き、電子レンジで 30 秒間加熱した。

5) 加熱処理後の HGMF を Proteinase-K (和光純薬) を 0.01% , SDS を 0.1% 加えた 20 ml の 2×SSC に浸し最低 1 時間 37° C の温浴中で反応させた。その後、0.1% SDS 加 2×SSC で 5 分間洗浄、さらに 2×SSC (50 ml/HGMF) で 5 分間洗浄した。キムワイプで HGMF を拭い、分解された菌体の残渣を除去した。

6) HGMF をペーパータオル上に置き 30 分間自然乾燥させた。その後、クロスリンカーを用いて 120 mJ の UV 照射により DNA を HGMF に固定した。

7) 非特異的な反応を抑えるためにハイブリダイゼーション・バッグ (Roche Diagnostics) に HGMF と 6 ml DIG Easy Hyb (Roche Diagnostics) を入れ、39° C で 1 時間 振盪してから、10 µl の DIG-probe を加えた新しい DIG Easy Hyb 6 ml に置換した。その後、39° C で 24 時間振盪した。

8) DIG-probe の結合を可視化するために DIG Wash and Block Buffer Set で HGMF を処理した。その後、抗 DIG 抗体溶液と、BCIP (375 µg/ml) および NBT (188 µg/ml) を溶かした検出液 (Roche Diagnostics) を用いて酵素抗体法の原理に基づき発色させた。

9) HGMF 上の 1600 の升目の中で、抗 DIG 抗体に反応して発色した枡を調べ、これに該当する HGMF 原本上の枡のコロニーをマッコンキーに画線培養し、生じたコロニーを釣菌して純培養を得た。これを再度 PCR して目的の遺伝子を保有しているかどうか確認した。

C. 結果

平成 25 年度に食肉衛生検査所で採取されたブタ検便 (兵庫県食肉衛生検査センター 60 検体、大阪市食肉衛生検査所 50 検体)、食用鶏の盲腸便 200 検体 (全て兵庫県食肉衛生検査センター)、国立病院機構大阪南医療センターから搬入された下痢症患者便 検体 (平成 24 年度 300 検体、平成 25 年度 295 検体)、大阪市立環境科学研究所から提供された健康者便 313 検体 (平成 24 年度 213 検体、平成 25 年度 100 検体) についてマルチプレックス・リアルタイム PCR 法による DEC のための網羅的スクリーニングを実施した (表 1 - 4)。

EPEC は、先に報告したウシやブタと同程度の高い頻度で食用鶏の盲腸便から検出された (表 3, 5)。人の保菌率は当研究室の先行調査と大きな違いは無く、家畜家禽に比べると 1/10 以下であった。また、健康者と下痢症患者の間で検出率に大差ない点もこれまでと同様であった (表 1, 2, 5)。

STEC は 24-25 年度の健康者便からは検出されなかったが、患者では 2 検体 (No. 350, 372) が陽性となった (表 1, 5)。これら 2 検体は *eae* 陰性であり、0157 などの定型的な腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) とは異なっていた。

ETEC はブタとニワトリからの検出率が高く、ST 遺伝子 (*est*) はブタ検体から、LT 遺伝子 (*eIt*) はニワトリからより多く検出される傾向が見られた。ブタの 6 検体 (No. 28, 29, 67-70) は ETEC の毒素遺伝子と EPEC の *eae* が同時に陽性となっていた。ヒト健康者からは全く検出されず低率ではあるが下痢症患者か

らのみ検出された (表 3 - 5).

耐熱性エンテロトキシンの可能性が疑われている EAST1 の遺伝子 (*astA*) はニワトリの陽性率も先行調査で見られたウシと同様に極めて高かった (表 3, 5). ヒトの保菌率は動物に比べて低かったが, 他の DEC に比べるとヒトにおいても検出率の高い遺伝子であった. 患者よりも健康者において検出率が高い傾向が認められた (表 5).

以上の 4 タイプの DEC とは異なり, EAEC の指標である *aggR* と DAEC の *afaB* 両遺伝子は動物の検便において検出は希であり, もっぱらヒトから検出された (表 1, 2, 5). 24・25 年度で見ると *afaB* の検出率は *aggR* の約 3 倍高く, また両遺伝子とも患者における検出率が健康者の 1.5 倍であった. 患者の 2 検体 (No. 79, 220) は ETEC の毒素遺伝子と EAEC の *aggR* 両方ともに陽性であった.

ETEC の毒素遺伝子 3 種類の内訳を見たところ, ST2 種に LT の遺伝子を合わせて 3 種全て検出された検体はブタに多かったが, ST2 種のみ陽性の検体がブタではさらに多くかった (表 6). ブタでは LT 遺伝子のみが検出された検体はなかった. 一方, ニワトリでは ETEC 遺伝子陽性検体のうち LT 遺伝子のみ陽性の検体が最も多く 2/3 に達した.

D. 考察

従来, DEC は人から人へ感染すると考えられていた (5). しかしながら, ウシなどの反芻獣が STEC を高率に保菌することが腸管出血性大腸菌 O157 などの調査を通じて明らかにされてきた (6, 7). 本調査結果は, EPEC や ETEC そして EAST1EC についても家畜が高率に保菌

することを示している. STEC のみならず, これらの DEC に関しても家畜が汚染源として重要な役割を果たしている可能性がありそうだと (図 1).

今回の調査では特にこれまで手薄となっていたニワトリを調査対象に含めた. ニワトリに *eae* 陽性大腸菌が感染することは実験的にも自然症例としても報告があり, 保菌鶏の調査報告もある (8-11) (12, 13). 野鳥の DEC 保菌調査もあるが (14), わが国の食鳥にどれくらい広がっているのかこれまで知られていない. 本調査は, ウシやブタのみならず食用のニワトリも高率に EPEC に汚染されていることを示唆している.

eae を保有する大腸菌は, EPEC として分類されるが, 近年分離される EPEC は集束線毛 (BFP) や付着に関わる EAF プラスミドを保有しない非定型 EPEC がほとんどである (15). 我々が先に行った調査でも今回の調査でも, これらの EPEC については患者と健康者の間で分離率に有意な差が出ず, 下痢原性の確証を得られなかった (16).

当研究室の Wang らは, 食品, 家畜, 健康者, 下痢患者から多数分離された EPEC 株について分子疫学手法による解析を試みた (4). その結果, 系統発生群 B1, 病原性プロフィール Ia 型, インチミン型 $\beta 1$ と $\gamma 1$ 型の株が患者由来株に多く, ウシ由来株と一致する傾向が示された. 一方, 健康者やブタ由来株は病原性が低いとされる病原性プロフィール II 型に多く見られたが, その系統発生群はブタ由来株が A 群を主としたのに対し, 健康者由来株は B2 群であり異なっていた. また, 健康者由来株のインチミン型は多様性が高く特定の型に

偏っていなかった。すなわち、患者由来株は健康者やブタ由来株とは異なるクラスターに属しており、ウシ由来株と同じクラスターに属していた。以上の結果は、ヒトに病原性を示すEPECがウシに由来することを示唆している(4)。一方、健康者に見られるEPEC株の多くは、ヒトに下痢原性を示さない常在菌の一種である可能性もあると考えられる。今回の調査で得られたニワトリ由来のEPECがウシや患者由来株と類似のタイプに分類されるのか、今後の解析が期待される。

ETECはヒトのみならずブタや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ことが多い。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。今回健康なブタから比較的高率に検出されたETEC遺伝子陽性検体が、ブタのみに感染するETECに由来するものか、あるいはヒトの汚染源となる可能性があるのか否か、今後検討する必要がある。

以前からニワトリに下痢症を起こすETECがあることは報告されていたが(13, 17, 18)、今回の調査において健康な食鳥の盲腸便から予期したよりも高い率でETEC遺伝子が検出された。トリの検体でLT遺伝子が単独で検出される率が高かったことも先行研究と関連する可能性がある(19, 20)。また、ニワトリのETECは変異型LT遺伝子を保有しているとの報告もある(21)。今後はこれら陽性検体からETECの分離を試みる予定だが、ニワトリに病原性を示すタイプのETECのみが分離されるのか、ヒトと共通して感染しうる菌が見つかるのか興

味あるところである。これまでニワトリとヒトの間で共通の大腸菌が病原性を示すという認識は強くなかったが、尿路病原性大腸菌などトリに由来すると推定された人症例も報告が出ており予断を許さない(22)。

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(23)、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。

DAECもEAECと同様に動物の保菌は低くヒトが汚染源となっていると判断される。しかしながら、DAECの病原性については未だ不明な点が多く(24)、対策の優先度は低いと判断して良いであろう。EAST1ECは家畜の保菌率が極めて高く、ヒトの保菌が他のDECで多い一因と考えられる。本菌についてもその病原性は不明な点が多く、現時点では問題となる可能性は低い(25)。しかしながら、EAST1ECのO166:H15については複数の集団事例において関与が報告されており未だ完全に無視することは難しいようだ(26, 27)。本菌の動物における検出率から推察すると、EAST1は盲腸の発達した動物に大腸菌が定着する上で何らかの役割を果たしているのかもしれない。なお、昨年度に引き続きEIECは全く検出されず、本邦で問題となる可能性は目下のところ極めて低いと判断される(28, 29)。

E. 結論

DECの網羅的な調査に有用であることを実証できたマルチプレックス・リアルタイムPCR法を適用し、昨年度に続けて調査した。今年度は特に家禽とブタ検体数の増加に勤めたところ、DECのなかでもEPECはEHECよりもはるかに高い率で家畜から家禽にいたるまで分布することが判明した。EPECの分子疫学指標はウシ由来株と患者由来株の関連を示しており、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。家禽由来株の病因学的意義は来年度の分子疫学解析で結論を出す予定である。

健康者ではETECの保菌は見つからず、今年度の調査ではブタのみならず食鳥が想定以上に高い率でETECを保菌している実態が明らかとなった。これら家畜家禽がヒトの汚染源となっているのかどうか、次年度に予定している動物由来株と患者由来株との分子疫学解析で結論を出す予定である。EIECは検出されずわが国でのリスクは低いこと、EAECやDAECも汚染源はもっぱらヒトであり家畜が関与している可能性は低いことが示された。

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. 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,
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Sueyoshi, M. and Nakazawa, M. (1994): Experimental infection of young chicks with attaching and effacing *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 62, 4066-4071.
9. Fukui, H., Sueyoshi, M., Haritani, M., et al. (1995): Natural infection with attaching and effacing *Escherichia coli* (O 103:H-) in chicks. *Avian Dis*, 39, 912-918.
10. La Ragione, R. M., McLaren, I. M., Foster, G., et al. (2002): Phenotypic and genotypic characterization of avian *Escherichia coli* O86:K61 isolates possessing a gamma-like intimin. *Appl Environ Microbiol*, 68, 4932-4942.
11. Pakpinyo, S., Ley, D. H., Barnes, H. J., et al. (2002): Prevalence of enteropathogenic *Escherichia coli* in naturally occurring cases of poult enteritis-mortality syndrome. *Avian Dis*, 46, 360-369.
12. Oh, J. Y., Kang, M. S., An, B. K., et al. (2012): Prevalence and characteristics of intimin-producing *Escherichia coli* strains isolated from healthy chickens in Korea. *Poult. Sci.*, 91, 2438-2443.
13. Kariuki, S., Gilks, C., Kimari, J., et al. (2002): Carriage of potentially pathogenic *Escherichia coli* in chickens.

- Avian Dis, 46, 721-724.
14. Chandran, A. and Mazumder, A. (2014): Occurrence of Diarrheagenic Virulence Genes and Genetic Diversity in *Escherichia coli* Isolates from Fecal Material of Various Avian Hosts: British Columbia, Canada. *Appl Environ Microbiol*,
 15. 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.
 16. 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.
 17. Joya, J. E., Tsuji, T., Jacalne, A. V., et al. (1990): Demonstration of enterotoxigenic *Escherichia coli* in diarrheic broiler chicks. *Eur J Epidemiol*, 6, 88-90.
 18. Akashi, N., Hitotsubashi, S., Yamanaka, H., et al. (1993): Production of heat-stable enterotoxin II by chicken clinical isolates of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*, 109, 311-315.
 19. Tsuji, T., Joya, J. E., Honda, T., et al. (1990): A heat-labile enterotoxin (LT) purified from chicken enterotoxigenic *Escherichia coli* is identical to porcine LT. *FEMS Microbiol Lett*, 55, 329-332.
 20. Inoue, T., Tsuji, T., Koto, M., et al. (1993): Amino acid sequence of heat-labile enterotoxin from chicken enterotoxigenic *Escherichia coli* is identical to that of human strain H 10407. *FEMS Microbiol Lett*, 108, 157-161.
 21. Nawar, H. F., King-Lyons, N. D., Hu, J. C., et al. (2010): LT-IIc, a new member of the type II heat-labile enterotoxin family encoded by an *Escherichia coli* strain obtained from a nonmammalian host. *Infect Immun*, 78, 4705-4713.
 22. Bergeron, C. R., Prussing, C., Boerlin, P., et al. (2012): Chicken as Reservoir for Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in Humans, Canada. *Emerg Infect Dis*, 18, 415-421.
 23. 伊藤健一郎 (2009): EA_ggEC (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.
 24. 有川健太郎 and 西川禎一 (2011): 非定型下痢病原性大腸菌について 2 —不均一菌群からなる分散接着性大腸菌 (DAEC) の下痢病原性について—. *生活衛生*, 55, 15-22.
 25. 涌嶋三津子, 麗麗, 王., 日高あゆみ, et al. (2010): 非定型下痢病原性大腸菌について 1 —腸管凝集接着性大腸菌耐熱性腸管毒素 (EAST1) 遺伝子保有大腸菌—. *生活衛生*, 54, 271-284.
 26. Nishikawa, Y., Ogasawara, J., Helander, A., et al. (1999): An outbreak of gastroenteritis in Japan due to *Escherichia coli* O166. *Emerg. Infect. Dis.*, 5, 300.
 27. Ishiguro, F., Kyota, Y., Mochizuki, M., et al. (2005): An outbreak of diarrhea caused by *Escherichia coli* serogroup O169:HNM harboring a coding gene for enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 (astA) in Fukui Prefecture. *Jpn J Infect Dis*, 58, 119-120.
 28. 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.
 29. 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
Komura, T., Ikeda, T., Yasui, C., Saeki, S., and Nishikawa, Y. (2013) Mechanism underlying prolongevity induced by bifidobacteria in *Caenorhabditis elegans*. *Biogerontology* 14: 73-87.

doi: 10.1007_s10522-012-9411-6

Nakamura, H., Takakura, K., Sone, Y., Itanol, Y., and Nishikawa, Y. (2013) Biofilm formation and resistance to benzalkonium chloride in *Listeria monocytogenes* isolated from a fish processing plant. J. Food Prot. 76 (7) : 1179-1186.

菊田英明、涌嶋三津子、西川禎一. (2013) 小児の散発性下痢症から分離され、O群血清型分類が可能であった大腸菌の病原遺伝子保有率の評価. 小児感染免疫25 (4) : 413-419.

Yaguchi, Y., Komura, T., Kashima, N., Tamura, M., Kage-Nakadai, E., Saeki, S., Terao, K., Nishikawa, Y. (2014) Influence of oral supplementation with sesamin on longevity of *Caenorhabditis elegans* and the host defense. Eur. J. Nut. DOI: 10.1007/ s00394-014-0671-6

2. 学会発表

Ban, E., Yoshida, Y., Wada, T., Ichikawa, N., Hamabata, T., Wajima, T., and Nishikawa, Y. (2013) DNA sequence and analysis of virulence plasmid of enterotoxigenic *Escherichia coli* O169:H41 that adhere to HEp-2 cells in unique aggregative manner. Federation of European Microbiological Societies (FEMS) 2013: 5th Congress of European Microbiologists, Leipzig, Germany, Abstract: 124. 2013/7/21-25

Matsuzaki, T., Tanimoto, Y., and Nishikawa Y. (2013) IL-8 secretion induced by flagellin in HEK-293 cells and the inhibition by diffuse adherent

Escherichia coli. Federation of European Microbiological Societies (FEMS) 2013: 5th Congress of European Microbiologists, Leipzig, Germany, Abstract: 298. 2013/7/21-25

坂 瑛里香、吉田優香、和田崇之、市川直樹、濱端 崇、輪島文明、西川禎一. HEp-2細胞に対して特異な凝集接着を示す腸管毒素原性大腸菌O169:H41の病原性プラスミドのDNAシーケンス、第34回日本食品微生物学会学術総会、平成25年10月3-4日 東京 p. 42

矢口由紀恵、小村智美、加嶋倫子、田村美帆、寺尾啓二、西川禎一. 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) におけるセサミンの寿命延長機構に関する研究、日本栄養・食糧学会第52回近畿支部大会、平成25年10月26日 滋賀県立大学 p. 34

田村美帆、小村智美、加嶋倫子、矢口由紀恵、西川禎一. 抗酸化物質が線虫 (*Caenorhabditis elegans*) の酸化ストレスに与える影響、日本栄養・食糧学会第52回近畿支部大会、平成25年10月26日 滋賀県立大学 p. 34

藤原翔吾、鍋島明日香、寺尾啓二、西川禎一. 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) におけるアスタキサンチンの寿命延長効果、日本栄養・食糧学会第52回近畿支部大会、平成25年10月26日 滋賀県立大学 p. 41

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1 下痢症患者の下痢原性大腸菌遺伝子スクリーニング成績

検体番号	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>est</i> (STp)	<i>est</i> (STh)	<i>elt</i>	<i>aggR</i>	<i>astA</i>	<i>afaB</i>	<i>virB</i>
患者-8	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-24	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
患者-26	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-30	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-37	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-38	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-41	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-45	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-52	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
患者-56	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-57	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-74	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
患者-78	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-79	-	-	±	+	-	+	+	+	±	-
患者-81	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
患者-85	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
患者-86	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-100	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-103	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
患者-107	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-112	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-118	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
患者-122	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
患者-128	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-135	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-141	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-144	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
患者-146	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-149	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-151	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
患者-155	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-157	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-159	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-171	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
患者-180	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-181	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-182	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-193	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-216	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-217	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-220	-	-	-	±	±	+	+	+	-	-
患者-221	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-223	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-235	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-253	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
患者-259	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-261	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-265	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-269	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
患者-280	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-282	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-292	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-
患者-299	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-305	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-311	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

患者-316	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
患者-326	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-329	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-340	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-349	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
患者-350	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-351	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
患者-353	-	-	-	±	±	±	-	-	-	-
患者-354	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
患者-356	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-363	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
患者-364	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
患者-367	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-372	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
患者-382	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-392	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-396	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-416	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-417	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-
患者-418	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-426	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-438	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
患者-439	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-440	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-441	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-442	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
患者-443	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
患者-444	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-445	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-447	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-451	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
患者-461	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-462	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
患者-465	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
患者-467	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-474	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-494	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-498	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-
患者-510	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-516	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-517	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-521	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-
患者-534	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-536	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-539	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-542	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-544	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
患者-559	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
患者-568	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-578	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
患者-586	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
患者-588	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
患者-594	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
患者-595	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

±はリアルタイム PCR によるスクリーニングの Ct 値が大きく、HGMP-CH 法を用いても菌を分離できない可能性があるものを示す。

表2 健康者の下痢原性大腸菌遺伝子スクリーニング成績

検体番号	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>est</i> (STp)	<i>est</i> (STh)	<i>elt</i>	<i>aggR</i>	<i>astA</i>	<i>afaB</i>	<i>virB</i>
健康者-2	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
健康者-3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-5	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-10	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-12	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-22	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-34	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
健康者-40	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
健康者-43	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-44	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
健康者-47	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-
健康者-49	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-53	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-62	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-64	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
健康者-66	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-69	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-70	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-73	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-75	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
健康者-77	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-80	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-81	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
健康者-82	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-86	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
健康者-87	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
健康者-90	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-95	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
健康者-100	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-102	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-116	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
健康者-129	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-134	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-136	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-140	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-142	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-150	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-152	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-154	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-157	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-158	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-165	-	-	-	-	-	-	-	±	+	-
健康者-173	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-175	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
健康者-202	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-203	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-205	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-207	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-208	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
健康者-227	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-229	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-241	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-242	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-243	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
健康者-251	-	-	±	-	-	-	-	±	+	-

健康者-254	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-256	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
健康者-257	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-258	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
健康者-265	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-266	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
健康者-270	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-271	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
健康者-273	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
健康者-289	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-308	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
健康者-309	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
健康者-312	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-

±はリアルタイム PCR によるスクリーニングの Ct 値が大きく、HGMP-CH 法を用いても菌を分離できない可能性があるものを示す。

表3 食用鶏盲腸便の下痢原性大腸菌遺伝子スクリーニング成績

検体番号	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>est</i> (STp)	<i>est</i> (STh)	<i>elt</i>	<i>aggR</i>	<i>astA</i>	<i>afaB</i>	<i>virB</i>
食用鶏-1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-3	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-4	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-5	-	-	+	±	±	-	-	+	-	-
食用鶏-6	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-7	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-9	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-10	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-11	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-12	-	-	-	±	±	-	-	+	-	-
食用鶏-13	±	±	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-14	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-15	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-16	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-17	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-18	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-19	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-20	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-21	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-22	-	-	±	±	±	-	-	+	-	-
食用鶏-23	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-24	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-25	-	-	-	±	±	-	-	+	-	-
食用鶏-26	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-27	-	-	±	-	-	+	-	+	-	-
食用鶏-28	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-29	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-30	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-31	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-32	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-33	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-34	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-35	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-36	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-37	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-38	-	-	-	-	-	±	-	+	-	-
食用鶏-39	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-40	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-41	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-42	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-43	-	-	-	-	-	+	-	±	-	-
食用鶏-44	-	-	±	-	-	±	-	+	-	-
食用鶏-45	-	-	-	-	-	±	-	+	-	-
食用鶏-46	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-47	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-48	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-49	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-50	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-51	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-52	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-53	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
食用鶏-54	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-55	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
食用鶏-56	-	-	±	-	-	+	-	+	-	-
食用鶏-57	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-58	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-59	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-60	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-61	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-62	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-63	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-64	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-65	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-66	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-67	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-68	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-

食用鷄-69	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-70	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-71	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-72	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-73	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-74	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-75	-	-	+	±	±	+	-	±	-	-
食用鷄-76	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-77	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-78	-	-	-	-	-	±	-	+	-	-
食用鷄-79	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-80	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-81	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-82	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-83	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-84	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-85	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-86	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-87	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-88	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-89	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-90	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-91	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-92	-	-	±	±	±	-	-	+	-	-
食用鷄-93	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
食用鷄-94	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鷄-95	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-96	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-97	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
食用鷄-98	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-99	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-100	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-101	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-102	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-103	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-104	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-105	-	-	+	-	-	±	-	+	-	-
食用鷄-106	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-107	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-108	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-109	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-110	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-111	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-112	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-113	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-114	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-115	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-116	-	-	±	-	-	±	-	+	-	-
食用鷄-117	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-118	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-119	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-120	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-121	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-122	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-123	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-124	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-125	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-126	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-127	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鷄-128	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鷄-129	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-130	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
食用鷄-131	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-132	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-133	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-134	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
食用鷄-135	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-136	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-137	-	-	-	-	-	±	-	+	-	-
食用鷄-139	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鷄-140	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

食用鶏-141	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-142	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-143	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-144	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-145	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-146	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-147	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-148	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-149	-	-	±	-	-	±	-	+	-	-
食用鶏-150	-	-	+	-	-	±	-	+	-	-
食用鶏-151	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-152	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-153	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-154	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-155	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-156	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-157	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-158	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-159	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-160	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-161	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-162	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-163	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-164	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-165	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-166	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-167	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-168	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-169	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-170	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-171	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-172	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-173	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-174	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-175	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-176	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-177	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-178	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-179	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-180	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-181	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-182	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-183	-	-	±	-	-	±	-	+	-	-
食用鶏-184	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-185	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-186	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-187	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-188	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-
食用鶏-189	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-190	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-191	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-192	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-193	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-194	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-195	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-196	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-197	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-198	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-199	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
食用鶏-200	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-

±はリアルタイム PCR によるスクリーニングの Ct 値が大きく、HGMP-CH 法を用いても菌を分離できない可能性があるものを示す。

表4 ブタの下痢原性大腸菌遺伝子スクリーニング成績

検体番号	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>est</i> (STp)	<i>est</i> (STh)	<i>elt</i>	<i>aggR</i>	<i>astA</i>	<i>afaB</i>	<i>virB</i>
ブタ-8	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-9	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-10	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-11	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-12	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
ブタ-13	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-14	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-15	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-21	-	-	±	±	±	-	-	+	-	-
ブタ-22	-	-	-	±	±	-	-	+	-	-
ブタ-23	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-24	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-25	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-26	-	-	±	+	±	±	-	+	-	-
ブタ-27	-	-	±	+	+	+	-	+	-	-
ブタ-28	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-
ブタ-29	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-
ブタ-30	-	-	±	+	+	±	-	+	-	-
ブタ-31	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-32	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-33	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-34	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-35	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-38	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-39	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-40	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-41	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-42	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-43	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-44	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-45	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-47	-	-	-	±	±	-	-	±	-	-
ブタ-48	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-51	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-52	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-53	-	-	+	±	±	+	-	+	-	-
ブタ-54	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-55	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-57	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-58	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-60	-	-	±	±	-	+	-	+	-	-
ブタ-64	-	-	-	±	±	-	-	+	±	-
ブタ-65	-	-	±	+	+	±	-	+	±	-
ブタ-66	-	-	±	-	±	-	-	+	-	-
ブタ-67	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
ブタ-68	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
ブタ-69	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
ブタ-70	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-
ブタ-72	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-73	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-74	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-75	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-77	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-78	-	-	±	+	+	-	-	+	-	-
ブタ-79	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-80	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-

ブタ-84	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-85	-	-	-	+	+	-	-	±	-	-
ブタ-87	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
ブタ-92	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
ブタ-94	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-98	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-99	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-100	-	-	±	±	±	-	-	±	-	-
ブタ-102	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-103	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-104	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-105	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-106	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-107	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
ブタ-108	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ブタ-110	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

±はリアルタイム PCR によるスクリーニングの Ct 値が大きく、HGMP-CH 法を用いても菌を分離できない可能性があるものを示す。

表5. 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	DAEC	EASTIEC	
		<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>elt</i>	<i>est</i>	<i>aggR</i>	<i>afaB</i>	<i>astA</i>	
食品・食材	333	25(7.5)	2(0.6)	2(0.6)	2(0.6)	1(0.3)	1(0.3)	0	65(20)	
ウシ	109	82(75)	29(27)	50(46)	0	0	1(0.9)	0	103(95)	
ブタ	118	69(59)	12(10)	0	4(3.4)	8(6.8)	0	1(0.8)	94(80)	
25年度	110	29(26)	0	0	9(8.2)	21(19)	0	2(1.8)	71(65)	
食鳥	25	200	111(55)	1(0.5)	1(0.5)	15(7.5)	6(3.0)	0	194(97)	
家畜小計	537	151(67)	41(18)	50(22)	28(5.2)	35(6.5)	1(0.4)	3(0.56)	462(86)	
健康者	119	8(6.7)	1(0.8)	1(0.8)	0	0	2(1.7)	22(19)	30(25)	
24・25年度	313	15(4.8)	0	0	0	0	4(1.3)	12(3.8)	49(15)	
健康者小計	432	23(5.3)	1(0.2)	1(0.2)	0	0	6(1.4)	34(7.9)	79(18)	
下痢患者	24・25年度	595	24(4.0)	2(0.3)	2(0.3)	9(1.5)	5(0.8)	11(1.8)	31(5.2)	48(8.1)
総計	1897	184(27)	44(6.5)	53(7.8)	6(0.9)	41(2.2)	4(0.6)	68(3.6)	654(34)	

*PCR陽性検体数(%) ; EIECは検出されず ; 表1-4でCt値が低く±であったものも陽性として含めた

表6. PCR で検出された毒素遺伝子の組み合わせ別の検体数*

検体	検体数	STh	STh	STp	LT	合計
		STp	STp	LT	LT	
食用鶏	200	1 (0.5)	5 (2.5)		14 (7.0)	20 (10)
ブタ	110	8 (7.3)	12 (11)	1 (0.9)		21 (19)
患者	595	2 (0.34)	2 (0.34)	1 (0.17)	6 (1.0)	11 (1.8)

*PCR 陽性検体数 (%) ; 表 1 - 4 で Ct 値が低く ± であったものも陽性として含めた

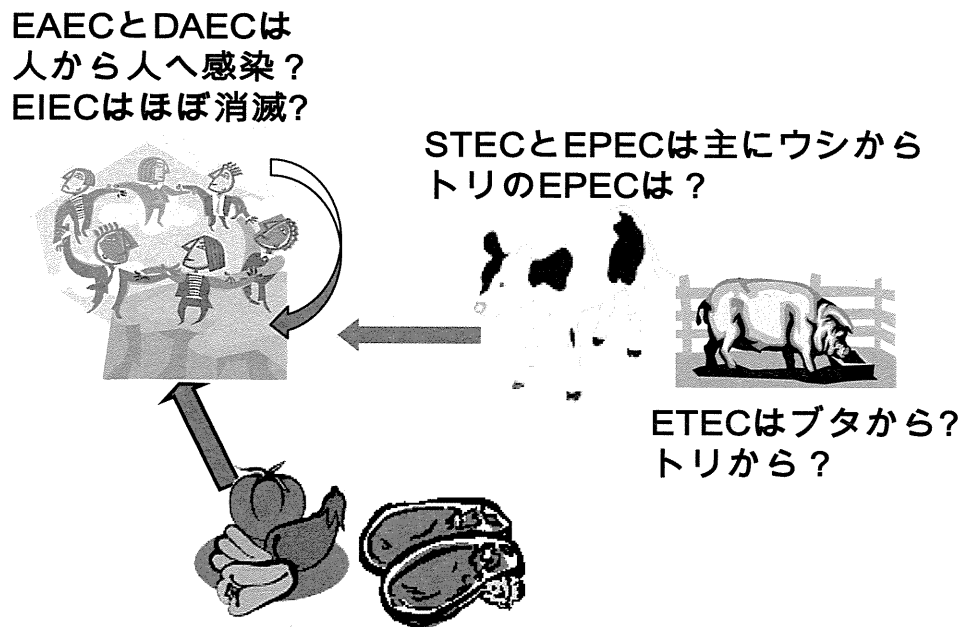


図1. 下痢原性大腸菌の6サブタイプの感染経路と汚染源