

ら菌数を算出すると 3.6 と 4.8 cfu/mL であった。ESC627 と ESC630 の検量線は非常によく似ている。両株ともに検出範囲である $2.8 \sim 2.8 \times 10^8$ cfu/mL と $4.9 \sim 4.9 \times 10^8$ cfu/mL で、Ct 値の差が最も大きかったのは 10^1 cfu/mL レベルの 4.69 であり、最も小さかったのは 10^1 cfu/mL レベルの 0.06 であった。希釈していない 10^8 cfu/mL レベルの Ct 値を比較すると、この差は 0.79 である。

STh 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、ESC627 と ESC630 では $4.9 \times 10^1 \sim 4.9 \times 10^8$ cfu/mL と $2.8 \times 10^1 \sim 2.8 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で検出された (4.9 と 2.8 cfu/mL で不検出)。ESC632 では $4.7 \sim 4.7 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で検出された。検量線の傾きは、ESC627 は ESC630 に比べて ESC632 はやや小さかった。全ての株で検出された $2.8 \times 10^1 \sim 4.9 \times 10^1$ cfu/mL から $2.8 \times 10^8 \sim 4.9 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で、Ct 値の差が最も大きかったのは 10^1 cfu/mL レベルの 7.83 であり、最高値は ESC630 の 42.05、最低値は ESC632 の 34.22 であった。差が最も小さかったのは 10^6 cfu/mL レベルの 3.95 であり、最高値は ESC627 の 24.41、最低値は ESC630 の 20.46 であった。なお、陰性コントロールでは Ct 値は検出されなかった。希釈していない 10^8 cfu/mL レベルの Ct 値は、それぞれ 17.22、18.92、13.79 であり、最高値の ESC630 と最低値の ESC632 の差は 5.13 あった。

STp 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、

ESC625 は $5.5 \times 10^2 \sim 5.5 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で検出された (5.5 と 5.5×10^1 cfu/mL で不検出)。ESC628 は $3.2 \sim 3.2 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で検出された (3.2×10^1 cfu/mL で不検出)。ESC626 は $5.5 \sim 5.5 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で検出された。検量線の傾きは、ESC626 と ESC628 に比べて ESC625 はやや小さかった。全ての株の検出された $3.2 \times 10^3 \sim 5.5 \times 10^3$ cfu/mL から $3.2 \times 10^8 \sim 5.5 \times 10^8$ cfu/mL の範囲で、Ct 値の差が最も大きかったのは 10^3 cfu/mL レベルの 5.2 であり、最高値は ESC625 の 38.12、最低値は ESC626 の 32.92 であった。差が最も小さかったのは 10^7 cfu/mL レベルの 1.46 であり、最高値は ESC625 の 21.71、最低値は ESC628 の 20.25 であった。なお、陰性コントロールでは検出されなかった。希釈していない 10^8 cfu/mL レベルの Ct 値は、それぞれ 19.41、18.00、17.05 であり、最高値の ESC625 と最低値の ESC628 の差は 2.36 あった。

PBS および食品培養液による希釈菌液の検量線を比較した。LT 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、PBS による希釈菌液の検量線の傾きが食品培養液によるものよりやや大きく、 2.9×10^7 cfu/mL まで上方にあり、STh 遺伝子のリアルタイム PCR 法でも、PBS による希釈菌液の検量線の傾きが食品培養液によるものよりやや大きく、共に PBS による希釈菌液のグラフが上方に位置する結果であった(図 4)。希釈していない 10^8 cfu/mL レベルの Ct 値における

PBS と食品培養液による希釈菌液での差は、それぞれ 0.13 および 0.00 であった。また、STp 遺伝子リアルタイム PCR 法では、ESC625、ESC626 および ESC628 とともに食品培養液による希釈菌液の検量線の傾きが PBS によるものよりやや大きく、また、共に PBS による希釈菌液のグラフが上方に位置する結果であった（図 5）。希釈していない 10^8 cfu/mL レベルの Ct 値の PBS と食品培養液による希釈菌液での差は、それぞれ 1.53、1.98、1.76 であり、比較的小さい値であった。

D. 考察

腸管毒素原性大腸菌の食中毒は、近年減少傾向であるが、患者数が 300 人または 500 人を越える大規模な食中毒が H20 年以降 4 件発生している。また、患者数が 100～200 人の中規模なものや多数の自治体に渡って発生した事例もあり、重要な食中毒原因菌と考えられる。本菌の主要な血清群としては、0148、06、0159、0169、025、0153、027 の順で 7 血清群であり、これらの血清群を検出対象として食品の試験法が必要と考えられた。また、食中毒原因食品を解析したところ、腸管毒素原性大腸菌の食中毒原因食品として野菜・その加工品や水が重要であり、それらの汚染経路として人、環境・水、調理場での二次汚染が考えられた（図 6）。また、海外渡航での感染者が帰国し国内で発症し食中毒として報告される例があるが、これらの食中毒で

の血清群は国内での発生事例での血清群と重なることから、海外渡航者が患者または健康保菌者として国内での汚染経路の一端となっていることも、これまでの感染事例から考えられる。さらに、腸管毒素原性大腸菌の感染が発生している地域で生産された農産物など輸入食品が汚染経路の一端となっていることも推察される。これらの情報は、今後の食品での試験法の確立において、対象とする血清群を設定し、試験対象食品も考慮して検討するにあたって、有用な情報となる。

本研究では、試験の第一段階である増菌培養を腸管出血性大腸菌の食品での検査法（食安監発 1120 第 1 号 平成 26 年 11 月 20 日発「腸管出血性大腸菌 026、0103、0111、0121、0145 及び 0157」）とあわせることを考え、mEC 培地での 42℃培養を検討した。また、その増菌培養液を遺伝子スクリーニングすることによって菌の分離を行うべき検体を限定することによる試験の効率性を考えた。なお、遺伝子スクリーニングの対象には、腸管毒素原性大腸菌の病原因子である LT と ST の遺伝子とした。

まず、増菌培養について検討した。菌株にて mEC 培地中 42℃での培養を確認した結果、いずれも十分な増殖が確認された。また、牛挽肉およびキュウリを供試して、腸管毒素原性大腸菌の添加回収試験を行った結果、LT 遺伝子は LT では本遺伝子を保有する ESC68 では両食品ともに 10 cfu/25 g レベルでも検出されたが、保有

しない株でも牛挽肉の 10^2 cfu/25 g レベルで LT 遺伝子が検出されており、天然汚染菌の存在があったことや本 PCR 法の特異性の問題など考えられた。この際に使用した PCR 法とは異なるリアルタイム PCR 法も食品培養液などで検討したが、LT 遺伝子の検出系ではサイクル数が増えるのと非特異的な検出が認められ、この試験で使用する PCR 法でも同様のことが発生したことも考えられた。ST 遺伝子については、牛挽肉では 10 cfu/25 g レベルでも検出されたが、キュウリでは 10 cfu/25 g レベルでは検出されず、 10^2 cfu/25 g レベルで検出された。これからの結果から、mEC 培地で 42℃培養によって腸管毒素原性大腸菌が一定以上増殖することが明らかになった。次に、分離培地については、腸管毒素原性大腸菌は CT に感受性があることが確認されたが、SMAC では一部接種検体では分離されたものもあったが、全体的に分離が困難であった。SMAC では培地の腸管毒素原性大腸菌の生育抑制が原因と考えられた。食品由来の夾雑菌が多い中では適切な添加剤を加えた培地での選択分離が必要と考えられた。今後、腸管毒素原性大腸菌に適した選択性を保有する分離培地の開発が必要と考えられた。このため、フェノタイプマイクロアレイを使用して選択分離培地のための選択剤として有用な物質を探索して候補としてあがった 2 種類の物質について、今後、寒天培地に添加

して生育性や適切な濃度を菌株および食品培養液を用いて検討する必要がある。

また、食品検体で利用できるリアルタイム PCR 法の検討では、検出特異性を菌株を用いて検討した。菌株の分与元機関では市販または公表されている PCR 法またはリアルタイム PCR 法 (Hidaka らの方法も含む) にて LT、STh、STp 遺伝子の有無を確認しているが、本研究では参照した Hidaka らの方法とは異なるマスターミックスである TaqMan Environmental MasterMix 2.0 を用いたリアルタイム PCR 法にて実施している。本研究の結果から、腸管出血性大腸菌の食品での通知法で使われているマスターミックスのひとつである TaqMan Environmental MasterMix 2.0 を用いて LT 遺伝子、STh 遺伝子および STp 遺伝子の反応系が確立できることがわかった。ただし、本研究を実施するにあたっては、Hidaka らの方法と同様に MGB ラベルのプローブを用いた系の他にも、BHQ ラベルのプローブを用いた系も行ったが、特に STh 遺伝子と STp 遺伝子の検出性は悪く、MGB ラベルが必要であることが示された。

次に、検出感度について検討した。PBS での希釈菌液を用いた LT 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、陰性コントロールでも検出されることから 10^3 cfu/mL より低い菌濃度では正しい判定ができない可能性が示唆された。反応サイクル数を減ずるなどが必要と考えられた。PBS での希釈菌

液を用いた STh 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、 $7.9 \times 10^3 \sim 7.9 \times 10^8$ cfu/mL の範囲と検出可能な範囲が狭かったが、この原因として、検出系の遺伝子増幅効率が低いことやプローブの結合性が良くないこと、株の特性が考えられる。今後、まずは株数を増やして検討する必要がある。PBS での希釈菌液を用いた STp 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、2 株では約 $10 \sim 10^9$ cfu/mL の範囲で検出されたが、1 株では約 $10^3 \sim 10^9$ cfu/mL の範囲で検出されており、菌株間で感度に差があることが示された。食品培養液での希釈菌液を用いた LT 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、PBS での希釈液を用いた場合に認められたのと同様に陰性コントロールでも検出されることから 10^2 cfu/mL より低い菌濃度では正しい判定ができない可能性示唆された。反応サイクル数を減ずるなどが必要と考えられた。供試した 2 株での検量線の傾きが近似しており、株間の違いはあまりない可能性が示唆されたが、今後、株を増やして検討する必要がある。食品培養液での希釈菌液を用いた STh 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、株間で検出感度に差が認められ、食品培養液による遺伝子増幅の阻害の影響にも株間で差がある可能性が考えられる。食品培養液での希釈菌液を用いた STp 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、株間で検出感度に差が認められ、株により食品培養液による遺伝子増幅の阻害の影響が異なる可能性が考えられる。

PBS および食品培養液による希釈菌液の検量線を比較したところ、LT 遺伝子および STh 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、食品培養液による遺伝子増幅の阻害がないことが示された。また、STp 遺伝子のリアルタイム PCR 法では、食品培養液による遺伝子増幅の阻害があることが示された。今後、菌株や食品の種類を増やして検討する必要があると考えられた。

E. 結論

本研究では、(1) 腸管毒素原性大腸菌食中毒発生状況を解析し、上位 7 血清群の 06、025、027、0148、0153、0159、0169 が本菌の主要血清群と考えられた。本菌の食中毒には野菜・その加工品や水が重要であり、人、環境・水、調理場での二次汚染、海外渡航感染者や輸入食品が汚染経路の一端となっていることも推察された。また、(2) 腸管出血性大腸菌の食品での検査法との共通性考慮し、増菌培養法および選択分離培地を検討し、mEC 培地での 42°C 培養で腸管毒素原性大腸菌が十分に増殖することが確認された。また、腸管毒素原性大腸菌の選択分離培地の開発に有用な選択剤の可能性が明らかになった。さらに、(3) 本菌の病原因子であるエンテロトキシン LT 遺伝子、ST 遺伝子を対象としたリアルタイム PCR 法の食品検体での応用を検討し、食品中でも約 10^3 cfu/mL 以上の検出感度であることが明らかになった。今後さらに、他の食品群も用いて検査法を検討す

る必要がある。

F. 健康被害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kobayashi, N., Maeda, E., Saito, S., Furukawa, I., Ohnishi, T., Watanabe, M., Terajima, J. and Hara-Kudo, Y. Association of cell-adhesion activities with virulence in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* 0103:H2. *Biocontrol Science*. 21: 57-61, 2016

2. 学会発表

星野 梢、鈴木史恵、山崎匠子、小西典子、菊地理慧、岩渕香織、永井佑樹、磯部順子、山田裕子、坂本 綾、上田泰史、森 哲也、中川 弘、大塚佳代子、工藤由起子. 食品における腸管出血性大腸菌 6 血清群試験法のコラボレイティブスタディによる評価. 第19回腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症研究会. 平成 27 年 7 月. 東京.

森 哲也、長尾清香、岸野かなえ、難波豊彦、高田 薫、工藤由起子. 腸管出血性大腸菌の食品からの検出における DNA 抽出法および遺伝子検出法の検討. 日本防菌防黴学会第 42 回年次大会. 平成 27 年 9 月. 大阪.

石川暢子、齋藤明美、吉田信一郎、市川希美、森 哲也、伊藤 武、池本尚人、加藤一郎、林 伸之、工藤由起子. ゼリー飲料および固形化成分を含有する粉末清涼飲料の細菌試験法の問題点とその改善法の検討. 第 36 回日本食品微生物学会学術総会. 平成 27 年 11 月. 川崎.

大塚佳代子、森 哲也、上田泰史、中川弘、清水大輔、甲斐明美、小西典子、長尾清香、寺嶋 淳、工藤由起子. 食品の腸管出血性大腸菌検査における VT 遺伝子検出機器及び試薬の検討. 第 36 回日本食品微生物学会学術総会. 平成 27 年 11 月. 川崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

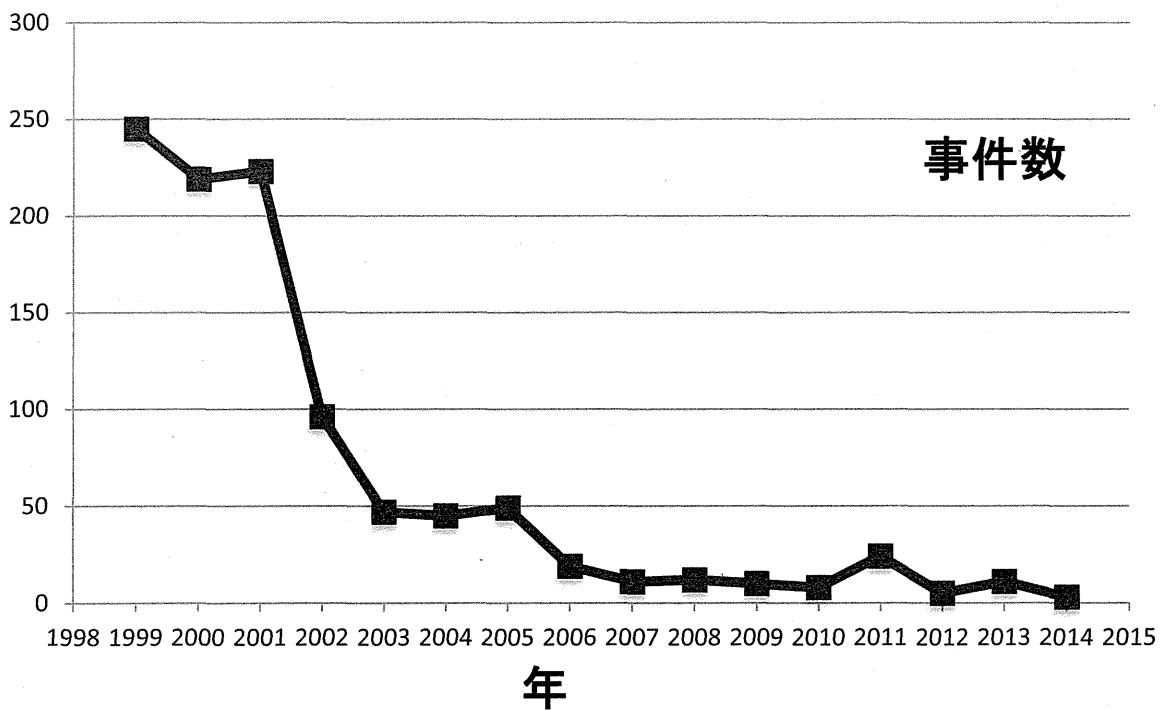
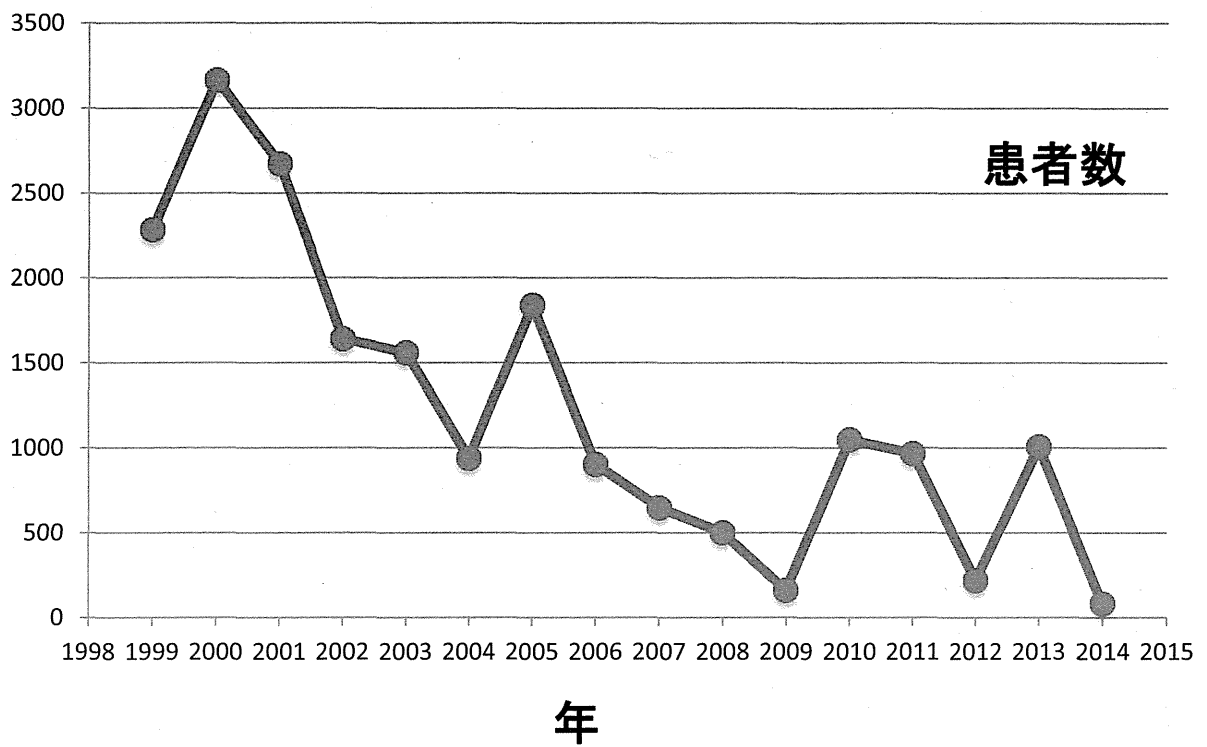


図1 食中毒統計での原因物質：その他の病原大腸菌
(腸管出血性大腸菌以外の病原大腸菌)による
食中毒患者数、事件数の年次推移

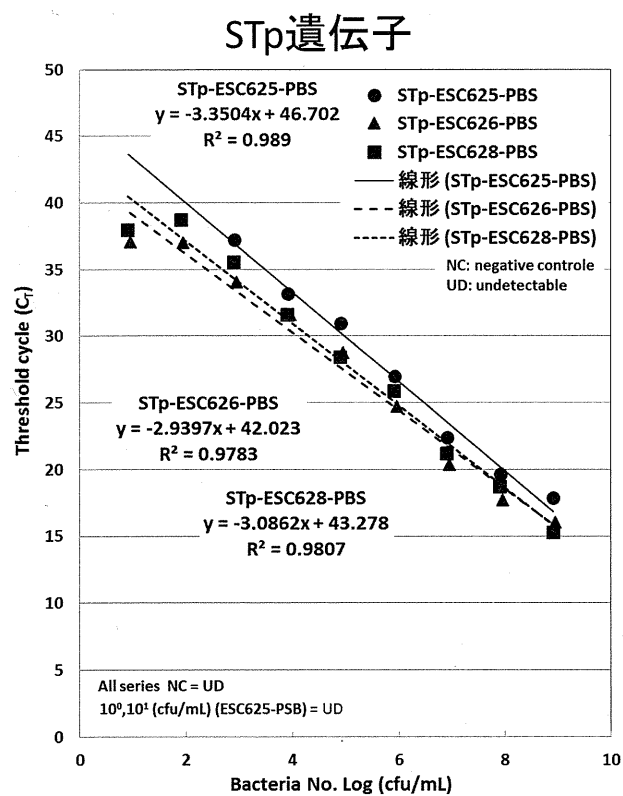
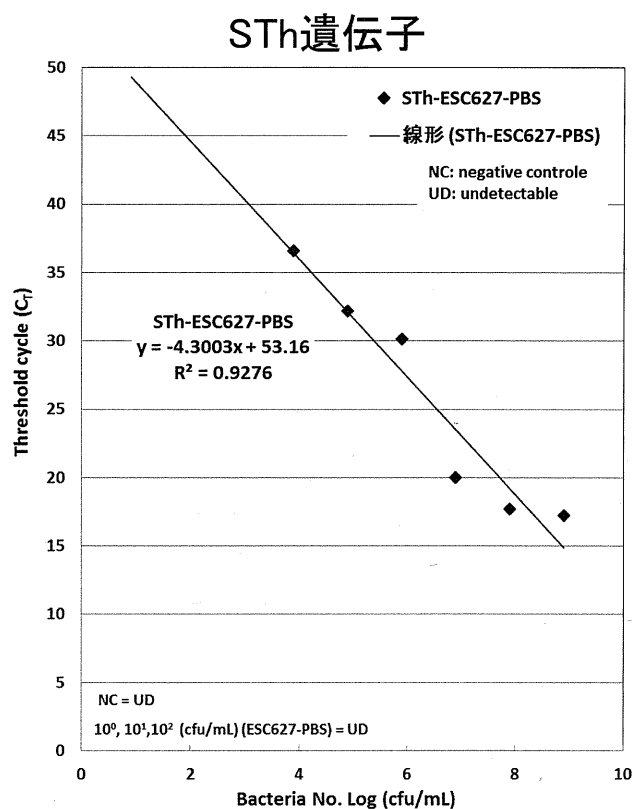
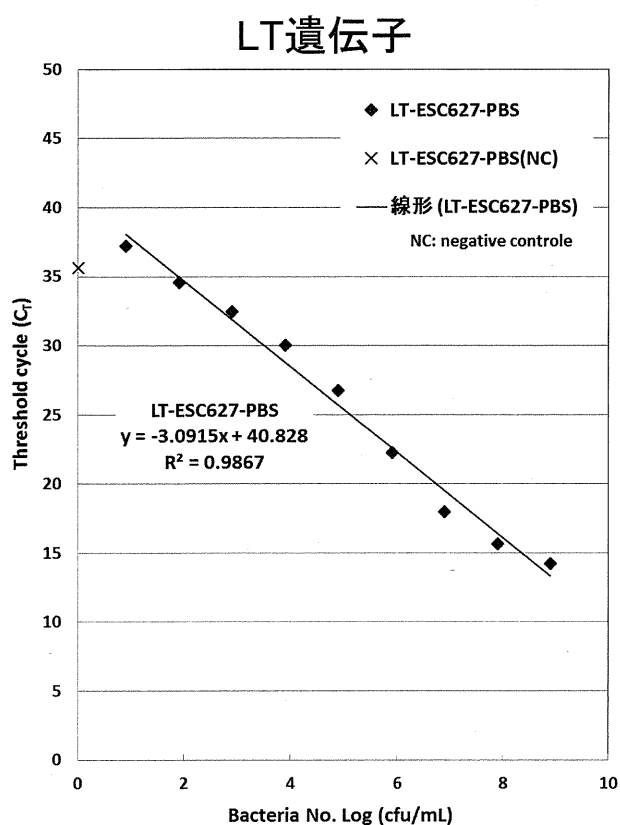


図2 PBSでの菌希釈段を用いたリアルタイムPCR法での検量線

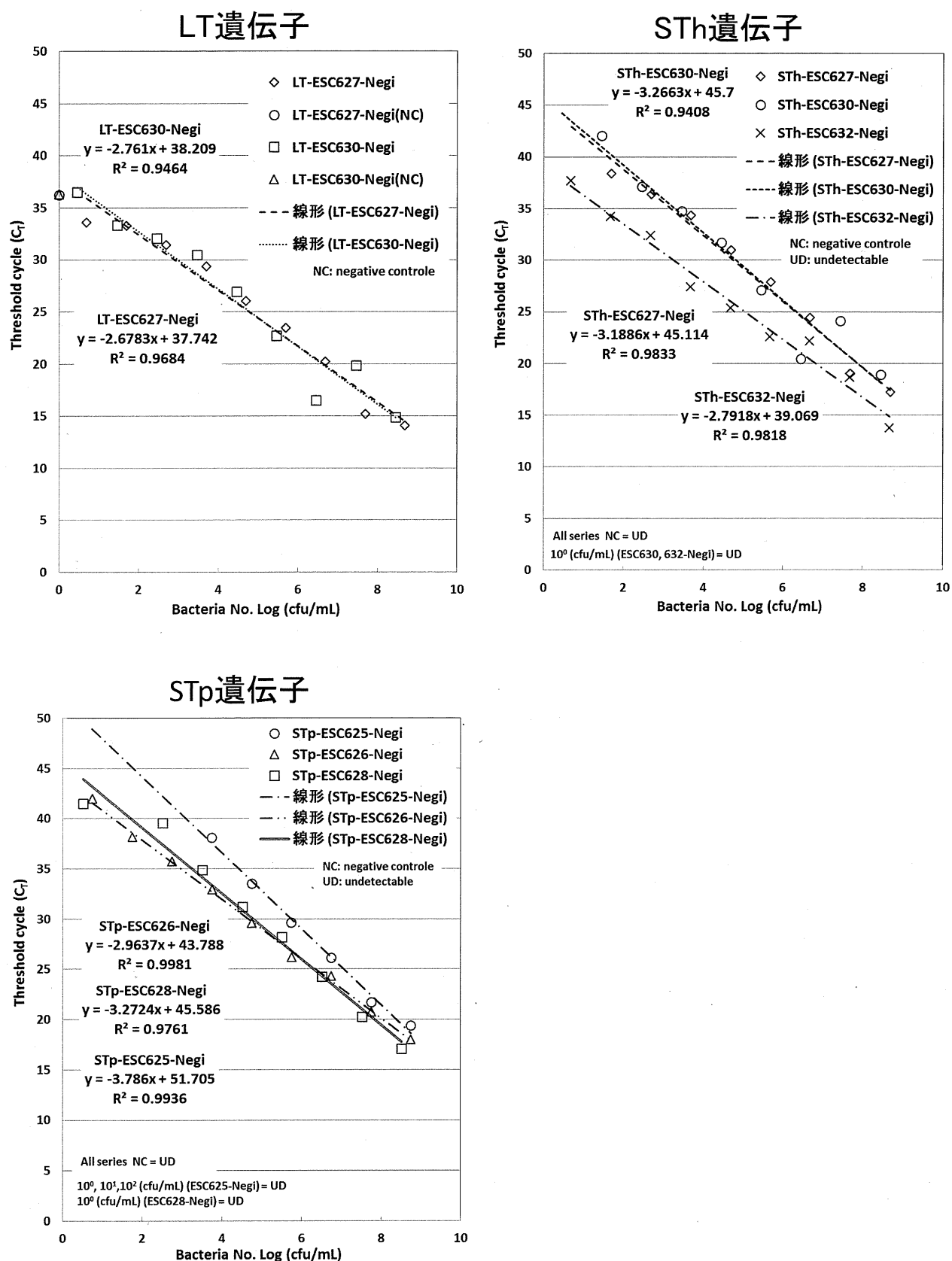


図3 食品培養液での菌希釈段を用いたリアルタイムPCR法での検量線

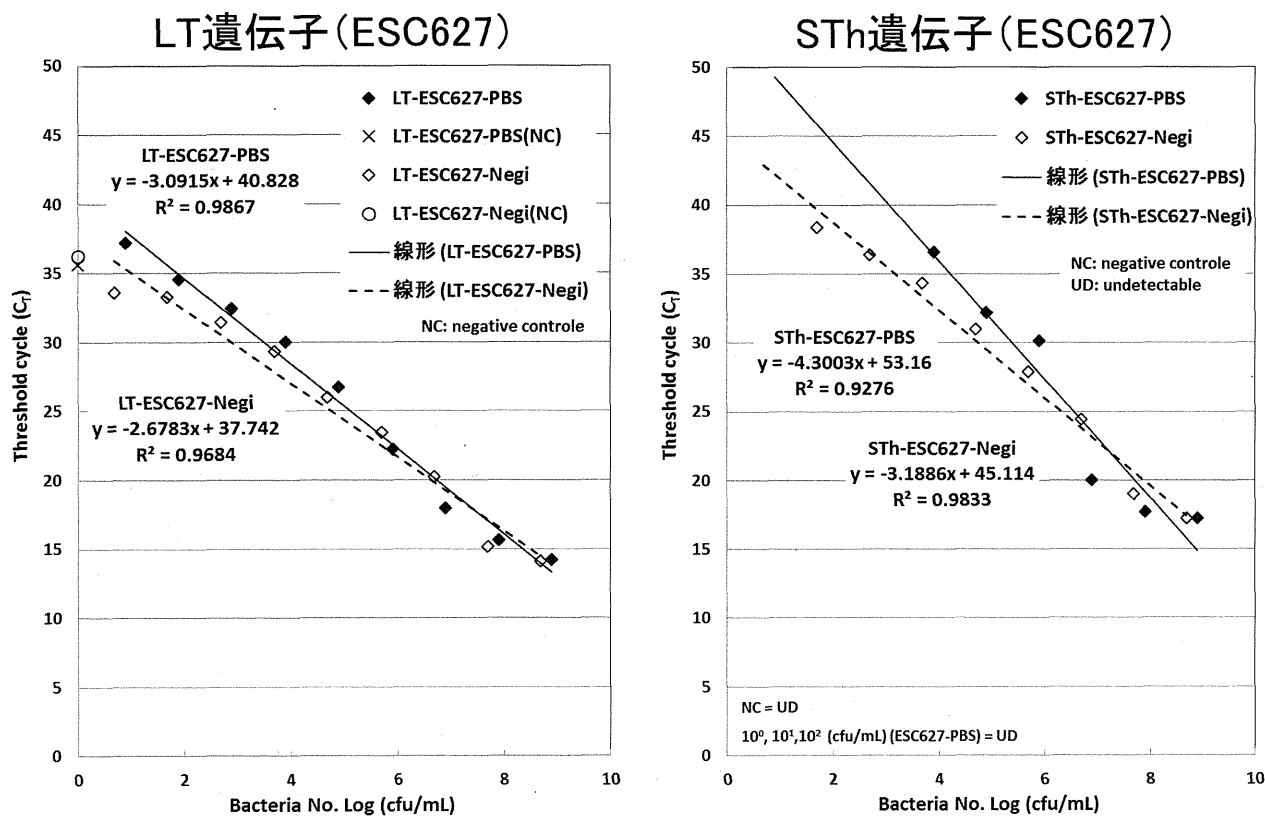


図4 PBSおよび食品培養液での菌希釈段を用いた菌株ごとのリアルタイムPCR法での検量線(1)

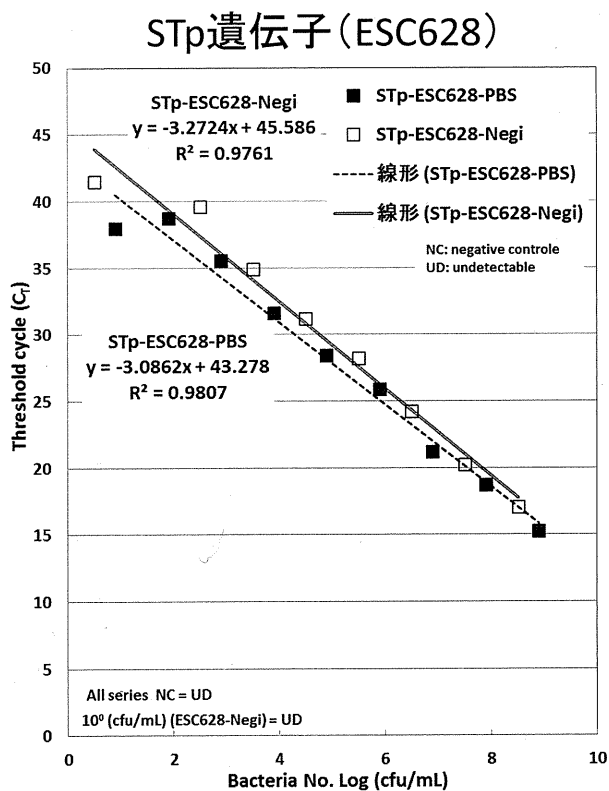
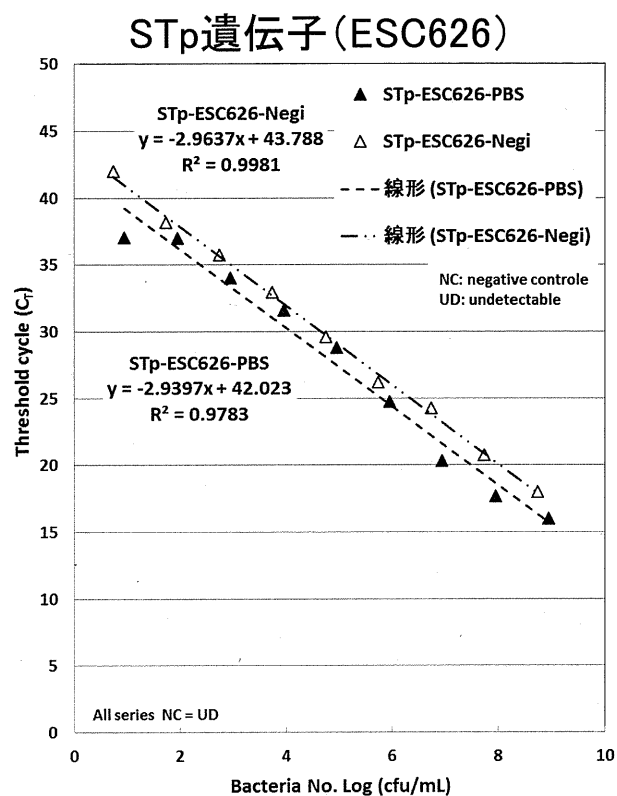
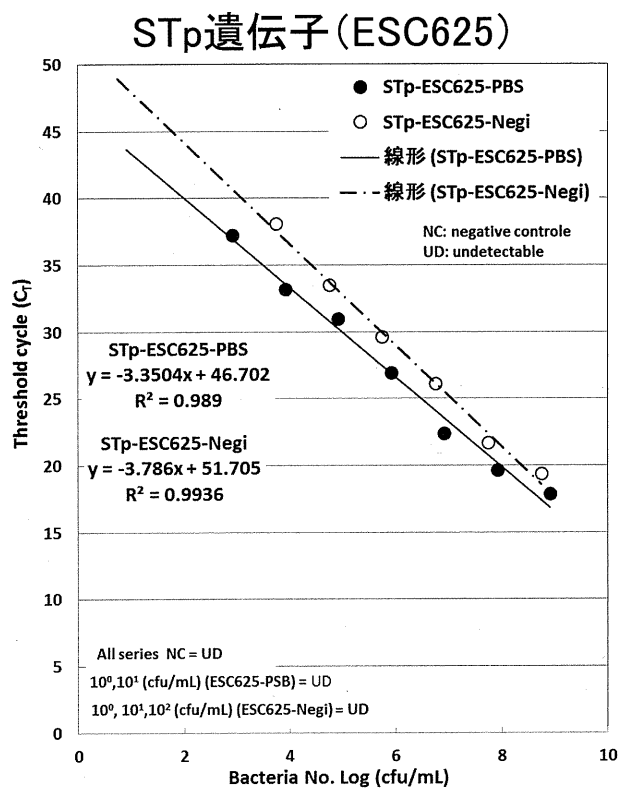


図5 PBSおよび食品培養液での菌希釈段を用いた
菌株ごとのリアルタイムPCR法での検量線(2)

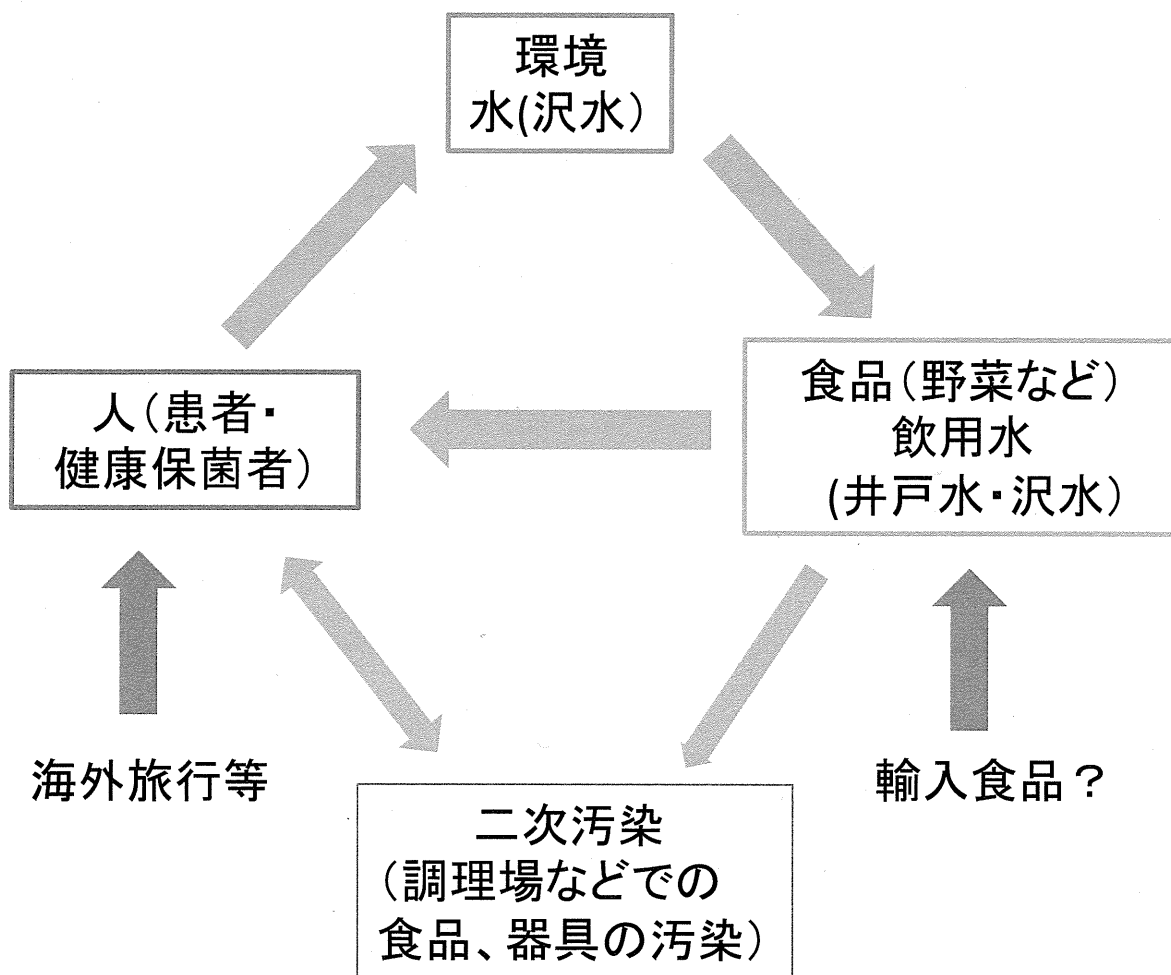


図6 国内で発生するETEC食中毒の原因(汚染経路)

[食中毒統計、事例解析からのまとめ]

表1 供試菌株

菌株番号	血清型	ST/LT	由来
ESC68	O78:H11	LT, STp	国際標準株
ESC608	O169:H41	STp	1999年国内患者株
ESC609	O6:H16	LT, STh	2003年国内患者株
ESC612	O6:H16	LT	患者由来
ESC613	O159	STp	インド帰国者由来
ESC622	O148:H28	STh	2003年国内患者株
ESC623	O169:NM	-	2004年上海渡航患者株
ESC624	O25:NM	STh	2004年上海渡航患者株
ESC625	O27:H7	STp	2004年上海渡航患者株
ESC626	O169:NM	STp	2005年国内患者株
ESC627	O6:NM	LT、ST	2006年国内患者株
ESC628	O159:H34	STp	2006年国内患者株
ESC629	O27:H7	STp	2007年国内患者株
ESC630	O6:NM	LT、ST	2007年国内患者株
ESC631	O25:NM	STh	2008年国内患者株
ESC632	O148:H28	STh	2011年国内患者株
ESC633	O159:H34	STh	2015年国内患者株

表2 リアルタイムPCR法に用いたプライマーおよびプローブ配列

遺伝子	プライマーおよび プローブ名	配列	蛍光ラベ ル
<i>elt</i>	プライマー		
	HLT-f	5' TTC CCA CCG GAT CAC CAA 3'	
	HLT-r	5' CAA CCT TGT GGT GCA TGA TGA 3'	
	プローブ		
	LT-pro	5' CTT GGA GAG AAG AAC CCT 3'	VIC-MGB
<i>est-h</i>	プライマー		
	STh-f	5' CCT TTC GCT CAG GAT GCT AAA C 3'	
	STh-r	5' CAG TAA TTG CTA CTA TTC ATG CTT TCA G 3'	
	プローブ		
	STh FAM- pro	5' CAC TAG AAT CAA AAA AAT GTA AC 3'	FAM-MBG
<i>est-p</i>	プライマー		
	STp-f	5' CTT TCC CCT CTT TTA GTC AGT CAA CT 3'	
	STp-r	5' GCA GTA AAA TGT GTT GTT CAT ATT TTC TG 3'	
	プローブ		
	STp-pro	5' TGA CTC TTC AAA AGA GAA AA 3'	FAM-MBG

参照: HidakaらJ.Appl.Microbiol., 106, 410-420、2009.

表3 リアルタイムPCR法の反応液組成

試薬(濃度)	1反応(μL)	終濃度(nM)
TaqMan Environmental Master Mix 2.0	15	
プライマー(F)(10 μM)	1.8	600
プライマー(R) (10 μM)	1.8	600
プローブ (5 μM)	1.2	200
D.W.	5.2	
Template DNA	5	
Total	30	

表4 食中毒統計の病因物質:細菌-「その他の病原大腸菌」のうち腸管毒素原性大腸菌

年	都道府県名等	発生日	発生場所	原因食品	原因施設	摂食者数	患者数	血清型(ST・LT)
27	札幌市	8月3日	北海道	めんつゆ(推定)	仕出屋	160	131	O6
	相模原市	7月17日	神奈川県	不明(平成27年7月17日に提供した昼食)	事業場-給食施設 -事業所等	121	57	O6(LT・ST)
	大阪市	9月5日	大阪府	不明(洋食コース料理)	旅館	79	36	O159
	京都市	10月9日	京都府	不明(10月8日夜に提供された食事)	旅館	19	17	O169
26	藤沢市	2月12日	神奈川県	不明(2月11日に提供した食事)	飲食店	32	22	O153
	神奈川県	8月15日	神奈川県	8月15日に当該飲食店で提供された食事	飲食店	63	43	不明
25	長崎県	5月15日	長崎県	不明	事業場-給食施設 -事業所等	350	128	O6・O169
	京都市	7月13日	京都府	不明(7月12日から19日に提供された仕出し)	仕出屋	94	73	O25
	横浜市	7月15日	神奈川県	不明(7月14日提供のオーダービュッフェ)	飲食店	8	7	O148(ST)
	兵庫県	7月21日	兵庫県	平成25年7月20夕、21～22日朝・昼・夕、23日朝・昼に当該旅館が調理した食事	旅館	77	42	O159
	大分県	8月3日	大分県	飲食店提供料理	旅館	105	55	O153(ST)
	香川県	8月21日	香川県	不明(社員食堂が提供した8月20日の昼食)	事業場-給食施設 -事業所等	532	49	O159
	横浜市	8月31日	神奈川県	フルーツ入り杏仁豆腐(推定)	飲食店	42	12	O25(ST)
	北海道	9月12日	北海道	当該施設で調理提供された食事	その他	1100	516	不明
	大阪府	9月14日	大阪府	不明(9月14日に提供された食事)	飲食店	10	5	O159
24	広島県	6月8日	広島県	不明(バイキング料理)	飲食店	96	25	O167(ST)
	愛知県	7月4日	愛知県	不明(平成24年7月4日の昼食)	飲食店	110	58	O148
	名古屋市	8月14日	愛知県	不明(8月13日に調製された弁当)	飲食店	33	12	O159
	大阪府	9月16日	大阪府	不明(9月15日、16日に提供された食事)	仕出屋	126	102	O169
23	愛知県	6月12日	国内外不明	不明	不明	不明	1	O6
	兵庫県	8月10日	兵庫県	8月9日夕食または8月10日夕食として提供された食事	旅館	174	118	O27
	横浜市	8月17日	神奈川県	冷やし中華	飲食店	5	5	O169(ST)
	東京都区部	9月5日	東京都	「長ネギ小口切り」が使用された食事	飲食店	5022	18	O148
	横浜市	9月5日	神奈川県	不明(事業所給食の食事)	飲食店	不明	44	O148(ST)
	横浜市	9月5日	神奈川県	不明(事業所給食の食事)	飲食店	不明	31	O148(ST)
	山梨県	9月5日	山梨県	不明(当該施設で調理・提供された食事)	飲食店	209	48	O148
	長野県	9月5日	長野県	不明(9月5日から9月7日に当該飲食店で提供された食事)	飲食店	1122	212	O148(ST)
	神奈川県	9月6日	神奈川県	不明(当該施設で提供された食事)	飲食店	183	24	O148
	神奈川県	9月6日	神奈川県	不明(当該施設で提供された食事)	飲食店	94	37	O148
	横浜市	9月6日	神奈川県	不明(事業所給食の食事)	飲食店	不明	30	O148(ST)
	横浜市	9月6日	神奈川県	不明(事業所給食の食事)	飲食店	不明	13	O148(ST)
	相模原市	9月6日	神奈川県	不明(9月6日又は9月7日に提供した食事)	事業場-給食施設 -事業所等	649	9	O148
	東京都区部	9月7日	東京都	「長ネギ小口切り」が使用された食事	飲食店	504	11	O148
	東京都区部	9月7日	東京都	平成23年9月5日以降に昼食として提供された食事(生食用「長ネギ小口切り」と推定される)	飲食店	500	36	O148
	山梨県	9月7日	山梨県	不明(当該施設で調理・提供された食品)	飲食店	440	67	O148
	岡山県	9月19日	岡山県	不明(9月18日及び9月19日の仕出し弁当)	仕出屋	164	46	O153
	倉敷市	9月19日	岡山県	不明(会席料理及び仕出し料理)	飲食店	51	36	O153(ST・LT)
	横浜市	9月28日	神奈川県	不明(9月26日提供の幕の内定食)	飲食店	2	2	O148(ST)
	宮城県	10月20日	宮城県	不明(飲食店の弁当)	飲食店	419	118	O148
	埼玉県	11月10日	国内不明	不明	不明	1	1	O153
22	沖縄県	3月23日	沖縄県	不明(沖縄少年院の給食)	その他	76	54	O27(ST)
	新潟県	7月31日	新潟県	不明	旅館	134	86	O159
	大阪府	8月9日	国外	不明	不明	30	21	O15、O55、O86a O148、O169
	名古屋市	8月19日	愛知県	不明	学校-寄宿舎	86	35	O148
	大津市	8月25日	滋賀県	不明(ホテルで提供された食事)	旅館	1155	323	O169
	埼玉県	9月6日	埼玉県	仕出し弁当	飲食店	57	34	O25・O167
	藤沢市	9月7日	神奈川県	不明(9月5日に提供した食事)	飲食店	5	4	O6
	豊橋市	9月7日	愛知県	不明(平成22年9月7日及び12日に提供された仕出し弁当)	仕出屋	1687	503	O6
	沖縄県	9月17日	沖縄県	9月15日夕～16日夕まで提供された食事	旅館	16	9	O6
21	横浜市	2月17日	神奈川県	不明(2月16日昼食)	飲食店	59	35	O169(ST)
	千葉市	5月30日	千葉県	不明(5月29日に調理・提供された宴会料理)	飲食店	28	22	O6
	広島県	7月15日	国内不明	不明	不明	不明	3	O6
	大阪府	10月3日	大阪府	不明(10月2日に調製された弁当)	飲食店	52	22	O25(LT)
	横浜市	10月11日	神奈川県	不明(10月10日の会食)	飲食店	5	3	O153(ST)
20	千葉市	4月4日	千葉県	不明(寿司及び会席料理)	飲食店	55	43	O27(ST)
	福岡市	7月6日	福岡県	不明(弁当)	飲食店	582	312	O169
	千葉県	8月5日	千葉県	不明	旅館	132	30	O159(ST)
	青森県	10月26日	青森県	おしろこ(推定)	家庭	300	12	O159
	宇都宮市	12月6日	栃木県	弁当(鶏のから揚げ、カキフライ、カジキの煮付け、マカロニサラダ等)	飲食店	15	12	O159

表5 食中毒統計での件数および患者数

病原物質	年(西暦)	件数	患者数
腸管毒素原性大腸菌食中毒	平成 27 (2015)	4	241
	平成 26 (2014)	2	65
	平成 25 (2013)	9	887
	平成 24 (2012)	4	197
	平成 23 (2011)	21	907
	平成 22 (2009)	9	1,069
	平成 21 (2008)	5	85
	平成 20 (2007)	5	409
腸管毒素原性大腸菌以外の「その他の病原大腸菌」	平成 27 (2015)	2	121
	平成 26 (2014)	0	0
	平成 25 (2013)	2	120
	平成 24 (2012)	1	22
	平成 23 (2011)	4	61
	平成 22 (2009)	1	41
	平成 21 (2008)	5	75
	平成 20 (2007)	5	31

表6 腸管毒素原性大腸菌の食中毒事例での血清群(平成20～27年)

血清群	件数(延べ)
O148	19件*
O6	9件
O159	9件
O169	8件
O25	5件
O153	5件
O27	3件
O167	2件
O55	1件
O15	1件
O86	1件
合計	64件(計58件のうち3件で複数の血清群報告)

*平成23年に同一原因食品と思われる13件を含む

表7 「その他の病原大腸菌」のうちの腸管毒素原性大腸菌について、事例での原因食品が判明した食中毒事例での原因食品(平成12～27年)

[illegible]

表8 腸管毒素原性大腸菌以外の「その他の病原大腸菌」について、事例での原因食品が判明した食中毒事例での原因食品（平成12～27年）

[illegible]

表9 原因食品が判明した食中毒事例での原因食品群の集計(平成12～27年)

食品群	腸管毒素原性大腸菌		腸管毒素原性大腸菌 以外の「その他病原大 腸菌」		合計
	件数	%	件数	%	
水	5	25	12	66.7	
野菜	11	55	2	11.1	
肉魚	1	5	4	22.2	
その他	3	15	0	0	
小計	件数 20		18		38
	% 52.6		47.4		

表10 供試菌株の各種培養条件での増殖性

菌株番号	血清型	毒素遺伝子	分離年	由来	増菌培養	分離培養			
					42℃	37℃培養			
					mEC	クロモア ガーSTEC*	CT-クロモア ガーSTEC	SMAC	CT-SMAC
ESC68	O78:H11	LT, STp	不明	国際標準株	+	+	-	+	-
ESC608	O169:H41	STp	1999	国内患者	+	+	-	+	-
ESC609	O6:H16	LT, STh	2003	国内患者	+	+	-	+	-
ESC612	O6:H16	LT	不明	患者	+	+	-	+	-
ESC613	O159	STp	不明	海外渡航	+	+	+	+	-
ESC622	O148:H28	STh	2003	国内患者	+	+	-	+	-
ESC623	O169:NM	—	2004	海外渡航	+	+	-	+	-
ESC624	O25:NM	STh	2004	海外渡航	+	+	-	+	-
ESC625	O27:H7	STp	2004	海外渡航	+	+	-	+	-
ESC626	O169:NM	STp	2005	国内患者	+	+	-	+	-
ESC627	O6:NM	STh	2006	国内患者	+	+	-	+	-
ESC628	O159:H34	STp	2006	国内患者	+	+	-	+	-
ESC629	O27:H7	STp	2007	国内患者	+	+	-	+	-
ESC630	O6:NM	STh	2007	国内患者	+	+	-	+	-
ESC631	O25:NM	STh	2008	国内患者	+	+	-	+	-
ESC632	O148:H28	STh	2011	国内患者	+	+	-	+	-
ESC633	O159:H34	STh	2015	国内患者	+	+	-	+	-
計17株					17	17	1	17	0

*クロモアガーSTEC(サプリメント不含)

+ : mECでは増殖確認、クロモアガーSTECでは藤色コロニーを形成、SMACでは赤色のコロニーを形成

-: no growth

表11 食品培養液および分離したコロニーからのDNA抽出物のST遺伝子、LT遺伝子検出結果

食品	接種菌株	接種菌数 (cfu/25g)	食品培養液		分離コロニーの各遺伝子保有			
					SMAC		CT-SMAC	
			ST遺伝子	LT遺伝子	ST遺伝子	LT遺伝子	ST遺伝子	LT遺伝子
牛挽肉	ESC68	10 ²	+	+	0/2	0/2	0/4	0/4
		10	+	+	0/2	1/2	0/4	0/4
	ESC608	10 ²	+	±	0/2	0/2	0/2	0/2
		10	+	-	1/2	0/2	0/2	0/2
キュウリ	ESC68	10 ²	+	+	0/2	0/2	0/2	0/2
		10	-	+	0/2	0/2	0/2	0/2
	ESC608	10 ²	+	-	0/2	0/2	0/2	0/2
		10	-	-	1/2	0/2	0/2	0/2

表12 腸管毒素原性大腸菌およびSMACに優勢に生育した

薬剤	濃度 レベル*	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	腸管毒素原性大腸菌(菌株番号)				
					1	2	3	4	5
A	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++
	③	+++	-	+++	-	-	-	-	+++
	④	-	-	-	-	-	-	-	++
B	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	③	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++
	④	-	-	-	-	-	-	-	++
C	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	-	++	-	++	++	++	++	++
	③	-	-	-	++	-	-	-	-
	④	-	-	-	-	-	-	-	-
D	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	③	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	④	-	-	-	++	+	+	++	++
E	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	③	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	④	-	-	-	++	-	+++	-	++
F	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	③	-	-	++	+++	-	+++	++	-
	④	-	-	-	+++	-	++	-	-
G	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	++	+++	+++	++	+++	+	+++	++
	③	-	-	-	++	+++	+	++	++
	④	-	-	-	-	-	-	-	-
H	①	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	②	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	③	+++	+++	+++	+	-	-	-	+++
	④	-	-	-	-	-	-	-	++

+++：24時間以内に増殖が最大

++：48時間以内に増殖が最大

+: 72時間以内に増殖がみられる

-: 72時間で増殖なし

*数字が大きい方が濃度が高い