

平成 30～令和 2 年度 厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

食品中の食中毒細菌の制御法の確立のための研究
研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

Escherichia albertii の制御法の確立

研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

本研究では、[1] *E. albertii* の食品での検査法を検討し、腸管出血性大腸菌の試験法と同じ増菌培養法(mEC および NmEC を用いた 42℃ 培養) や薬剤を加えた mEC が選択増菌培養に、ラムノース・キシロース添加 DHL 寒天培地やさらに薬剤を加えた培地が選択分離培養に優れることを明らかにした。[2] *E. albertii* 特異的リアルタイム PCR が確立され、鶏肉からの本菌検出に優れた感度を有し、他の食品種への応用が期待される。[3] 食中毒事例での原因食品調査において *E. albertii* を食品検体から分離し、原因食品を特定した。発症菌量の推測に有用なデータについて今後も継続した調査が必要である。[4] 汚染実態調査の結果、鶏肉や他食品で分離されたことから、広い食品群での調査の必要性が考えられた。環境検体からも本菌が分離され、環境を介した食品汚染の可能性が示された。不顕性感染など潜在的に保菌しているヒトがいる可能性が示された。[5] *E. albertii* は、食品中では中温で増殖し、低温で増殖が抑制された。環境水中では低温で生残が維持され、環境水を介した食品汚染の可能性が示された。

研究協力者

埼玉県衛生研究所

佐藤美佳、大塚佳代子

東京都健康安全研究センター

小西典子、尾畑浩魅、畠山 薫、

鈴木 淳

岩手県環境保健研究センター	上山 昭、山中拓哉、太田美香子 高橋幸子、佐藤徳行
秋田県健康環境センター	今野貴之
宮城県保健環境センター	山谷聡子、佐藤千鶴子、高橋陽子
宇都宮市衛生環境試験所	床井由紀
富山県衛生研究所	磯部順子、木全恵子
山梨県衛生環境研究所	柳本恵太
静岡県環境衛生科学研究所	長岡宏美、大越 魁
大津市保健所	安田敬子、小椋容子
三重県保健環境研究所	赤地重宏、小林章人、永井佑樹
滋賀県衛生科学センター	梅原成子、長谷川嘉子
奈良県保健研究センター	吉田孝子、佐伯美由紀、森村実加、 松井恵梨子
愛媛県立衛生環境研究所	仙波敬子、浅野由紀子
広島県立総合技術研究所保健環境センター	平塚貴大
熊本県保健環境科学研究所	原田誠也、前田莉花
大分県衛生環境研究センター	成松浩志、溝腰朗人
宮崎県衛生環境研究所	吉野修司、内山浩子、福留智子
沖縄県衛生環境研究所	高良武俊、宮平勝人、柿田徹也、 大山み乃り、久手堅 剛
仙台市衛生研究所	山田香織
さいたま市健康科学研究センター	土屋彰彦、曾根美紀、加藤直樹
川崎市健康安全研究所	小嶋由香、阿部光一朗
静岡市環境保健研究所	丸山幸男、望月瑞葉、高橋直人
神戸市環境保健研究所	濱 夏樹
福岡市環境保健環境研究所	丸山浩幸、松永典久
(公社)日本食品衛生協会	甲斐明美
鹿児島大学	大岡唯祐
東海大学海洋学部	鈴木恭平、後藤慶一
国立医薬品食品衛生研究所	廣瀬昌平、都丸亜希子、 新井沙倉、大屋賢司、大西貴弘

A. 研究目的

近年、国内外で *Escherichia albertii* の病原性、特に下痢原性が周知され、海外では食中毒発生リスクが懸念されているが、既に日本では 2003 年以降に食中毒が発生し、患者数 200 人以上の事例も報告されている(日本食品微生物学会雑誌 34;151-157, 2017)。しかし、本菌の主要な汚染食品や汚染環境、また、本菌の発症菌量は不明であり解明が求められている。食中毒の原因食品としては、複合調理食品や井戸水があり、動物からの水の汚染が考えられる。家畜としては、ニワトリ、ブタ、ウシ、アヒルなどの保菌が報告されており(Epidemiol. Infect., 2016, 144 45-52)、食肉からの分離として、鶏肝臓(Asoshima et al., Jpn. J. Infect. Dis., 2015, 68, 248-250; Maeda et al., J. Vet. Med. Sci., 2015, 77, 871-873)、鶏肉、豚肉、マトン、アヒル肉(Wang et al., Epidemiol. Infect., 2016, 144, 45-52)が報告されている。平成 30 年度の本研究事業では、鶏肉および鶏内臓肉から本菌特異的遺伝子が検出され、また、その一部検体からは本菌が分離されている。食肉以外の食品として、レタス(Fiedler et al., Genome Announc., 2018, 6)やダミエッタ・

チーズ(Saad et al., J. Am. Sci., 2012, 8, 333-341)からの本菌分離の報告もある。平成 30 年度の本研究事業では、多様な食品を検体としたところ、一部の食品から本菌が分離された。これらのことから、食肉を含む多様な食品や水での汚染実態の調査を行い、汚染に関連する食品群や水の重要性を明らかにする必要がある。

また、国内外での食品での検査法は大腸菌の検査法に準拠した培地が各試験者によって用いられており、食品培養液に適した遺伝子検出法も系統立てては検討されていない。日本において *E. albertii* による食中毒が発生しているが、原因食品が特定された事例は少なく、原因食品特定に対応する *E. albertii* の検査法を確立することが求められている。さらに、食中毒の基礎的情報でもある *E. albertii* の発症菌量を明らかにすることが必要であるが、これまでに食中毒での原因食品中の菌数が測定された報告はない。

これらの課題について研究を進めることによって食中毒の予防対策の提案を行うことが可能になると考え、[1]食品での検査法の検討、[2]リアルタイム PCR の開発、

[3] *E. albertii* 食中毒事例での原因食品の解析、[4] 食品等における汚染実態調査、[5] *E. albertii* の食品・環境中での挙動、について各年の成果を翌年の研究に反映して 3 年間の研究を行った。

B. 研究方法

[1] 食品での検査法の検討

腸管出血性大腸菌 (EHEC) の食品での検査法との共通性を考慮した増菌培養法、選択分離培地および各種生化学性状について *E. albertii* 46 株を供試し検討した。次に、Nested PCR の食品培養液での感度を検討した。鶏肉培養液にて 4 株の菌液を希釈し、菌接種鶏肉培養液 (想定 $10^6 \sim 10^2$ cfu/mL 鶏肉培養液) を調製した。抽出 DNA を複数の酵素を用いた Ooka らの nested PCR に供試し感度を確認した。また、各種濃度の菌液を接種した鶏肉を mEC および NmEC にて増菌し、その培養液についても nested PCR に供試し感度を確認した。さらに、各種増菌培養条件 (BPW、mEC、NmEC) および分離培養条件 (DHL、ラムノース・キシロース添加 DHL: XR-DHL、MAC、ラムノース・キシロース添加 MAC: XR-MAC) について、*E. albertii* を接種した鶏肉 (想定 $10^3 \sim 10^2$ cfu/25 g 鶏肉) を用いた添加回収

試験によって検討した。また、選択増菌培地として、薬剤 A および B を添加した mEC (mEC+AB 培地) の開発を試みた。薬剤 A および B の至適濃度を検討し、至適濃度の mEC+AB 培地で *E. albertii* 194 株および鶏肉由来細菌 20 株を培養し、各菌株に対する増殖抑制作用を解析した。さらに、選択分離培地として、薬剤 C および D を添加した DHL (DHL+CD 培地) の開発を試みた。上記と同様に薬剤 C および D の至適濃度を検討し、至適濃度の DHL+CD 培地を作製して各菌株に対する増殖抑制作用を解析した。

[2] リアルタイム PCR の開発

保存株および NCBI 登録 *E. albertii* 株の計 113 株を対象に、大岡唯祐研究分担者が同定した *E. albertii* 特異的遺伝子上で SNP の少ない遺伝子配列領域を選定し、プライマーおよびプローブ候補を設計した。次に、*E. albertii* 株の DNA とその希釈液を用いてプライマーおよびプローブの至適濃度を検討した。特異性は、*E. albertii* 43 株とその他の細菌種 29 株を用いて検討した。以下の一部の試験では、インターナルコントロールとして食品培養液中の細菌全般を検出する 16S rRNA 遺伝子をも標的としたリアルタイム PCR を実施した。感度

は、*E. albertii* type strain の菌培養液とその希釈液から DNA を抽出し、リアルタイム PCR を実施することで測定した。さらに、鶏肉の mEC および NmEC 培養液にて *E. albertii* 4 株の各増菌培養液を 10 倍階段希釈し、DNA を抽出、リアルタイム PCR を実施することで食品（鶏肉）培養液を利用した感度を測定した。さらに、*E. albertii* 4 菌株の培養液を PBS にて 10 倍階段希釈した希釈菌液を鶏肉に接種し、mEC および NmEC 中にて培養後、DNA を抽出し、リアルタイム PCR を実施した。また、nested PCR を行った鶏肉（内臓肉も含む）の DNA をリアルタイム PCR に供試し、鶏検体での汚染実態調査を実施した。

[3] *E. albertii* 食中毒事例での原因食品の解析

初めに、MPN3 本法による定量検査法を確立した。また、食中毒検体試験依頼を受け、食中毒事例の食事の冷凍保管検食、それら食品の混合培養液または個別培養液を受け取った。加えて、食品混合培養液および患者便からの分離株を受け取った。食品あるいは培養液検体をそのまま、あるいは増菌培地で培養した後、*E. albertii* 特異的リアルタイム PCR に供試した。培養液を XR-DHL および XR-MAC に画線培養し、

菌の分離を試みた。MPN3 本法による定量検査も同時に供試した。リアルタイム PCR で陽性となった培養液を、選択剤 A を添加した mEC (A-mEC) 培地にて増菌培養し、XR-DHL を用いて菌の分離を試みた。以上の試験によって分離された株を、食品混合培養液および患者便からの分離株とともに遺伝子型別に供試した。

[4] 食品等における汚染実態調査

鶏肉（内臓肉を含む）検体に mEC を加えて 42°C にて培養し、nested PCR を実施した。また、DHL にて乳糖非分解コロニーを分離した。地方自治体の協力機関と協力し、食肉を含んだ食品検体 1918 検体、施設の拭き取りも含む環境検体 229 検体および糞便（ヒトおよびウシ）検体 5,636 検体について調査した。食品および環境検体は、BPW または mEC 等で増菌後、MAC、DHL 等で分離培養した。乳糖非分解のコロニーについてブドウ糖分解、硫化水素非産生、非運動性、キシロース非分解を確認し、nested PCR の 1st PCR に供試し、*E. albertii* であるか判定した。糞便検体については、増菌培養せずに同様に実施した。次に、合計 75 株の *E. albertii* 分離株の 0 抗原型を大岡らの PCR にて型別 (EA0-genotyping) した。

[5] *E. albertii* の食品・環境中での挙動

国産トリ肉、国産ブタ肉、イワガキおよびマガキに *E. albertii* を $10^2 \sim 10^4$ CFU/25 g となるよう接種し、4℃、10℃、20℃および30℃で6時間から3日間保管した。保管した検体に滅菌 PBS 225 mL を加えてストマッカー処理後、XR-DHL で培養し生菌数を算出した。加えて、リアルタイム PCR による菌数の定量分析を行った。また、環境水検体として、井戸水および海水を 300mL 採水し、*E. albertii* を 40～400 CFU/mL となるよう接種した後に、4℃、10℃、20℃および30℃で9日間保管した。経時的に検体の一部を分取し、生菌数の算出およびリアルタイム PCR による菌数の定量分析を行った。

C. 研究結果

[1] 食品での検査法の検討

供試菌株は、mEC および NmEC 中で 36℃ および 42℃ で増殖した。また、EHEC の選択分離培地上では特徴的な発色を示さず、DHL、XR-DHL 上では多くの株が無色のコロニーを形成した。1st PCR は 2nd PCR よりも 10～1,000 倍感度が低かった。接種菌数が 0.5～21.4 cfu/25 g の検体を増菌した場合に 1st PCR と

2nd PCR で共に遺伝子が検出された。鶏肉を用いた培養条件の検討では、BPW よりも mEC および NmEC にて、乳糖非分解の無色コロニーが少なかった。さらに、42℃ の増菌培養後の分離成功率が高かった。また、mEC よりも NmEC、DHL よりも XR-DHL、MAC よりも XR-MAC で分離率が高い傾向であった。本菌を接種した鶏肉を NmEC 中で 42℃ の条件で増菌培養し、XR-MAC で分離した場合は、分離陽性率が 100% であった。また、選択増菌培地については、最も選択性が高い濃度組合せの mEC+AB 培地で、*E. albertii* 194 株中すべての菌株で増殖が認められ、鶏肉由来細菌は 20 株中 3 株で増殖が認められた。鶏肉懸濁液中においても同様に *E. albertii* の増殖は抑制されず、鶏肉由来細菌の増殖は抑制された。選択分離培地については、最も選択性が高い濃度組合せの DHL+CD 培地で、*E. albertii* 菌株は 194 株中 171 株が発育良好、15 株が発育抑制、8 株で非生育であった。鶏肉由来菌株は 20 株中 11 株が発育良好、3 株が発育抑制、6 株で非生育であった。

[2] リアルタイム PCR の開発

シーケンス結果と登録遺伝子配列の解析から、2組のプライマーおよびプローブセット候補 (EA_rt1、EA_rt2) が設計されたが、後に

EA_rt1 は *E. albertii* 以外の細菌種が陽性となることが示された。EA_rt2 は、プライマーとプローブの至適終濃度がそれぞれ $0.3 \mu\text{M}$ 、 $0.15 \mu\text{M}$ となった。特異性試験では、EA_rt2 は全 *E. albertii* 株が陽性かつその他の細菌種は全て陰性となった。*E. albertii* 株培養液による感度測定では、各種条件で $0.3 \sim 3.4 \text{ cfu/PCR tube}$ ($=6.8 \times 10 \sim 6.8 \times 10^2 \text{ cfu/mL}$) となった。得られた Ct 値と蛍光値をプロットした像において、16S rRNA 遺伝子の蛍光値が EA_rt2 の蛍光値よりも大幅に低かった。また、いずれの条件でも菌濃度と Ct 値の間に高い相関が認められた。食品培養液での感度の検討では、各種条件で $0.5 \sim 7.5 \text{ cfu/PCR tube}$ ($=1.1 \times 10^2 \sim 1.5 \times 10^3 \text{ cfu/mL}$) が検出限界となった。菌を接種した鶏肉での検討では、 $1.2 \sim 1.4 \text{ cfu/25 g}$ 鶏肉以上の *E. albertii* を接種した条件にて遺伝子が検出された。汚染実態調査では、計 20 検体の市販鶏肉のうち 1 検体と 2 検体がそれぞれ 2nd PCR とリアルタイム PCR 陽性であった。養鶏場から直接購入した鶏検体の mEC および NmEC 増菌培養液計 234 検体を試験したところ、26 検体、37 検体、54 検体がそれぞれ 1st PCR、2nd PCR、リアルタイム PCR 陽性であった。

[3] *E. albertii* 食中毒事例での原因食品の解析

確立した MPN3 本法による定量検査法を自治体と共有し、協力体制を構築した。食中毒検体試験依頼では、食品混合物の培養液検体の二次増菌培養液が、リアルタイム PCR にて陽性であり、XR-DHL を用いて *E. albertii* が分離された。各食品の培養液検体をそのままリアルタイム PCR に供したところ、春雨中華サラダの培養液が陽性となった。しかし、XR-DHL による *E. albertii* の分離には至らなかったため、A-mEC 培地による二次増菌を試みた結果、XR-DHL での培養によって *E. albertii* が分離された。MPN 法による菌数測定においては、*E. albertii* は検出限界以下であった。本試験で分離された春雨中華サラダ由来株および食品混合物由来株および患者由来株は、いずれの遺伝子型別も一致した。

[4] 食品等における汚染実態調査

鶏肉（内臓肉を含む）での汚染実態調査の結果、鶏肉 118 検体中 2 検体（2%）、内臓肉 165 検体中 30 検体（18%）で PCR 陽性であった。PCR 陽性の内臓肉 7 検体から 37 株の *E. albertii* が分離された。また、地方自治体との協力研究では、食品検体 1918 検体中鶏肉を含む 4 検体

(0.2%)、環境検体 229 検体中 2 検体 (0.8%)、糞便検体 5636 検体中 6 検体 (0.1%) から *E. albertii* が分離された。分離株の EA0-genotyping では、様々な EA0g 型に型別された。特に、1 つの集団食中毒事例中に複数の EA0g 型が検出された例が 2 件あった。

[5] *E. albertii* の食品・環境中での挙動

E. albertii を接種した食品検体を 20℃あるいは 30℃で保管した結果、すべての検体で菌数が増加した。20℃に保管したマガキ検体の菌数は 1 日後から 2 日後にかけて菌数の増加が弱い傾向であったが、マガキ以外の検体の菌数は急激な増加を示した。一方で、4℃および 10℃では、いずれの食品検体も測定期間を通して菌数の大きな増減はみられなかった。また、*E. albertii* を接種した環境水検体を 20℃あるいは 30℃で保管した結果、すべての検体で菌数が減少した。20℃よりも 30℃で、井戸水検体よりも海水検体で、菌数減少の傾向が著しかった。4℃および 10℃では、井戸水検体の菌数はほぼ変化しなかったが、海水検体の菌数は緩やかに減少した。

D. 考察

[1] 食品での検査法の検討

乳糖、ラムノースおよびキシロース非分解性が *E. albertii* に共通した性状であり、分離培地および同定の指標として有用であると考えられた。また、鶏肉 25 g あたりに数十の *E. albertii* が汚染している場合は増菌培養後の 1st PCR でも十分に検出可能であり、2nd PCR を必ずしも実施しなくても良いことが示された。mEC よりも NmEC が優れていることが示されたが、mEC でも著しく分離率が低いとは評価し難く、腸管出血性大腸菌の食品での検査法との共通性も考えて、mEC および NmEC 中の両方で 42℃の増菌培養条件が適用可能と考えられた。NmEC 中にて 42℃で増菌培養し、XR-MAC にて分離するのが最も優れた培養法の組み合わせであると考えられたが、XR-DHL での分離も比較的優れていた。一部の白糖分解の性状を示す *E. albertii* を食品から分離するためにも、白糖を含まない XR-MAC は有用であると考えられた。一方、糖含有培地の調整には手間がかかるため、状況に応じて適宜培地を選択する必要があると考えられた。また、選択増菌培地については、mEC+AB 培地が菌接種液および鶏肉培養液において高い選択性を示し、選択増菌培地として有

用であることが示された。一方で、選択分離培地については、最も選択性が高い濃度組合せの DHL+CD 培地で、*E. albertii* 菌株は 194 株中 23 株が発育抑制あるいは非生育であり、鶏肉由来菌株は 20 株中 9 株が発育抑制あるいは非生育であったことから、DHL+CD 培地は選択増菌培地として有用であるが、*E. albertii* の一部菌株の増殖を抑制してしまうため、分離培養の際には XR-DHL との併用が望ましいと考えられる。

〔2〕リアルタイム PCR の開発

EA_rt2 のプライマーおよびプローブセットは特異性が高いことが示された。*E. albertii* 株培養液による感度測定では、検出限界が約 10^3 cfu/mL 以下となり、感度が優れていた。また、16S rRNA 遺伝子の蛍光値が EA_rt2 の蛍光値に影響を及ぼす可能性が低いと考えられた。食品培養液での感度検討でも、検出限界が約 10^3 cfu/mL 以下となり、感度が優れていたため、鶏肉培養液においては PCR 阻害は少ないものと予想された。鶏肉 25 g あたりに 1 cfu 以上の *E. albertii* が汚染している場合は、本試験の条件にて *E. albertii* 数が十分に増菌され、リアルタイム PCR にて検出されることが示された。鶏検体にて本リア

ルタイム PCR と nested PCR の検出結果を比較したところ、nested PCR 陽性検体は全てリアルタイム PCR 陽性となった。さらに、nested PCR 陰性でリアルタイム PCR 陽性の検体が複数存在したため、鶏検体に関しては、nested PCR よりもリアルタイム PCR の方が優れていることが示された。本試験から、本リアルタイム PCR の実検体での応用性が示された。

〔3〕*E. albertii* 食中毒事例での原因食品の解析

本事例では、すでに食中毒事例において患者便および原因と疑われる食事に含まれる食品混合検体から *E. albertii* が分離されており、個別の食品のうちのいずれが原因食品であるかを解明することに焦点を絞り試験を実施した。結果として、春雨中華サラダの培養液検体からリアルタイム PCR にて *E. albertii* が明確に検出されたが、分離が困難であったため、A-mEC 培地にて二次増菌した結果、XR-DHL 培地での培養によって *E. albertii* が分離された。今回の試験で分離された春雨中華サラダ由来株の遺伝子型別が、食品混合物由来株および患者由来株と一致したことから、本食中毒事例の原因食品は春雨中華サラダであることが判明した。

[4]食品等における汚染実態調査
鶏肉での汚染実態調査では、複数の内臓肉から *E. albertii* が分離されたため、過去の報告と同様に鶏の保菌が示唆された。多様な食品・環境検体での汚染実態調査では、市販食品の本菌汚染率は極めて低いものの、*E. albertii* に汚染されているものも存在することが判明した。国内の動物の糞便や河川水からの過去の分離報告があるため、動物や環境を介して食品が汚染される可能性を考慮する必要がある。ヒト由来株での調査では、*E. albertii* がヒト便から分離された例もあった。本菌は、従来、Hafnia、ボイド赤痢菌血清型 13、あるいは大腸菌として同定されていた菌株から構成されており、同定が難しい。そこで、自治体等検査機関で乳糖非分解かつ非運動性の腸内細菌が得られた際には本菌を疑う必要がある。また、国内に様々な O 抗原型の *E. albertii* が存在することが示された。型別不能の株も散見されたため、新規の EA0 型の存在が示唆された。ヒト由来株の O 抗原型については今後も継続的にモニタリングする必要があると考えられた。本 EA0-genotyping は、食品の汚染源を探る手法として簡易に実施できる有効な型別方法と考えられた。

[5] *E. albertii* の食品・環境中での挙動

E. albertii の汚染経路の推定のため、食品および環境水での本菌の増殖挙動の解析を行った。その結果、中温（20℃および 30℃）で保管した食品検体中では、*E. albertii* の菌数は急速に増加したが、低温（4℃および 10℃）では菌数は一定であった。環境水検体においては、低温に保管した井戸水検体では菌数は変動せず、海水検体では緩やかに減少した。中温の環境水検体では菌数は低温よりも早く減少し、この傾向は海水検体で顕著であった。*E. albertii* は汚染食品の中温での保管によって増殖するが、低温では増殖が抑制されることが示された。また、環境水中の本菌は低温で生残が維持され、中温では死滅しやすいことが明らかになった。環境水中で菌が生存することによって環境汚染の維持や農作物、家畜等への汚染が起ることが推察された。

E. 結論

本研究では、[1] 食品での検査法の検討では、腸管出血性大腸菌の試験法と同じ増菌培養法（mEC および NmEC を用いた 42℃ 培養）が有用であることが明らかになったが、mEC に薬剤を加えることでより優

れた選択増菌培地が開発された。また、乳糖・ラムノース・キシロース非分解性の性質を利用したラムノース・キシロース添加 DHL 寒天培地が有用であることが明らかになったが、さらに薬剤を加えた培地についても分離率の向上が期待されることが示された。[2] リアルタイム PCR の開発では、*E. albertii* 特異的リアルタイム PCR が確立され、鶏肉からの本菌検出に優れた感度を有することが明らかになった。今後、鶏肉以外の食品種への応用が期待される。[3] *E. albertii* 食中毒事例での原因食品の解析では、食中毒事例での原因食品調査において、本研究で検討していた検出方法を駆使して *E. albertii* を検体から分離し、原因食品を特定した。発症菌量の推測に有用な食中毒事例での原因食品中の菌数と摂取食品量のデータを得たかったが、研究期間中に測定が行えなかった。今後も継続した調査が必要である。[4] 食品等における汚染実態調査では、鶏肉から *E. albertii* が分離されたため、鶏が保菌する可能性が示された。また、他の食品でも分離されたことからさらに広い食品群での調査の必要性が考えられた。環境検体からも *E. albertii* が分離されたため、環境を介して食品が汚染さ

れる可能性が示された。さらに、ヒトから分離されたことから、集団食中毒事例以外にも、散发性食中毒事例や、不顕性感染など潜在的に保菌しているヒトがいる可能性が示された。[5] *E. albertii* の食品・環境中での挙動では、*E. albertii* は、食品中で中温での保管時には増殖するが、低温では増殖が抑制されることが判明した。また、環境水中では低温で生残が維持され、中温では死滅しやすいことが明らかになり、環境水を介した食品汚染の可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(誌上発表)

Konishi, N., Obata, H., Kai, A., Ohtsuka, K., Nishikawa, Y., Terajima, J. and Hara-Kudo, Y. Major vehicles and O-serogroups in foodborne enterotoxigenic *Escherichia coli* outbreaks in Japan, and effective detection methods of the pathogen in food associated with an outbreak. Food Hygiene and Safety Science (shokuhin eiseigaku

- Zasshi). 59(4): 161-166, 2018.
- Ohtsuka, K., Hoshino, K., Kadowaki, N., Ohsaka, M., Konishi, N., Obata, H., Kai, A., Terajima, J. and Hara-Kudo, Y. Selective media and real-time PCR assays for the effective detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in vegetables. LWT, 114, 108409, 2019.
- Mori, T., Nagao, S., Kishino, K., Namba, T., Hara-Kudo, Y. DNA extraction for sensitive detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food by real-time PCR assays. Food Hygiene and Safety Science (shokuhin eiseigaku Zasshi). 60(6), 183-186, 2019.
- Parvej, Md., Nakamura, H., Wang, L., Zhang, S., Emura, K., Kage-Nakadai, E., Wada, T., Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y. Host range-associated clustering based on multi-locus variable-number tandem-repeat analysis, phylotypes, and virulence genes of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains. Applied and Environmental Microbiology. 85(6). pii: e02796-18, 2019.
- Ooka, T., Seto, K., Ogura, Y., Nakamura, K., Iguchi, A., Gotoh, Y., Honda, M., Etoh, Y., Ikeda, T., Sugitani, W., Konno, T., Kawano, K., Imuta, N., Yoshiie, K., Hara-Kudo, Y., Murakami, K., Hayashi, T., Nishi, J. O-antigen biosynthesis gene clusters of *Escherichia albertii*: their diversity and similarity to *E. coli* gene clusters and the development of an O-genotyping method. Microb. Genom, 5(11). doi: 10.1099/mgen.0.000314, 2019.
- Arai, S., Ohtsuka, K., Konishi, N., Ohya, K., Konno, T., Tokoi, Y., Nagaoka, H., Asano, Y., Maruyama, H., Uchiyama, H., Takara, T., and Hara-Kudo, Y. Evaluating methods for detecting *Escherichia albertii* in chicken meat. Journal of Food Protection, 84(4), 553-562, 2020.
- Arai, S., Yamaya, S., Ohtsuka,

K., Konishi, N., Obata, H., Ooka, T., Hirose, S., Kai, A., Hara-Kudo, Y. Detection of *Escherichia albertii* in retail oysters. (投稿予定)

Arai et al. Detection of *Escherichia albertii* from retail chicken in Japan using a novel quantitative polymerase chain reaction assay. (投稿予定)

(学会等発表)

岩渕香織、土屋 彰彦、大塚佳代子、小西典子、山崎匠子、和田裕久、木全恵子、永井佑樹、吉田孝子、平塚貴大、森 哲也、稲垣俊一、白石祥吾、甲斐明美、寺嶋 淳、工藤由起子。腸管毒素原性大腸菌の食品での試験法のコラボレイティブスタディによる評価(1)。第39回日本食品微生物学会学術総会。平成30年9月27、28日。大阪

吉田孝子、白石祥吾、稲垣俊一、森 哲也、平塚貴大、永井佑樹、磯部順子、和田裕久、山崎匠子、小西典子、大塚佳代子、土屋 彰彦、岩渕香織、甲斐明美、寺嶋 淳、工藤由起子。腸管毒素原性大腸菌の食品での試験法のコラボレイティブスタディによ

る評価(2)。第39回日本食品微生物学会学術総会。平成30年9月27、28日。大阪

尾畑浩魅、小西典子、大塚佳代子、鈴木 淳、貞升健志、甲斐明美、工藤由起子。食品を対象とした毒素原性大腸菌検出に用いる免疫磁気ビーズ作製方法と有用性の検討。第39回日本食品微生物学会学術総会。平成30年9月27、28日。大阪

工藤由起子。病原大腸菌による食中毒と食品の検査法について。平成30年度短期研修 食品衛生危機管理研修。国立保健医療科学院。平成30年10月24日。和光市

門脇奈津子、大塚佳代子、大阪美紗、小西典子、工藤由起子。腸管毒素原性大腸菌のリアルタイムPCR法における各種検出機器及びクエンチャーでの検出感度の比較。第114回日本食品衛生学会学術講演会。平成30年11月15、16日。広島

小西典子、大塚佳代子、山崎匠子、和田裕久、磯部順子、永井佑樹、平塚貴大、森 哲也、稲垣俊一、白石祥吾、土屋彰彦、吉田孝子、岩渕香織、甲斐明美、寺嶋 淳、工藤由起子。食品を対象とした腸管毒素原性大腸菌検出法

- 確立のためのコラボレイティブスタディによる評価. 第114回日本食品衛生学会学術講演会. 平成30年11月15、16日. 広島
- 新井沙倉、大塚佳代子、小西典子、長岡宏美、大屋賢司、工藤由起子. 鶏肉からの *Escherichia albertii* 分離法の開発. 第92回日本細菌学会総会. 平成31年4月23、24、25日. 札幌
- 新井沙倉、大塚佳代子、小西典子、床井由紀、土屋彰彦、小嶋由香、長岡宏美、大屋賢司、甲斐明美、工藤由起子. 鶏肉からの *Escherichia albertii* 検出法のための nested PCR の検討. 第115回日本食品衛生学会学術講演会. 令和元年10月3、4日. 東京
- 小西典子、尾畑浩魅、大塚佳代子、新井沙倉、仙波敬子、丸山浩幸、原田誠也、福留智子、高良武俊、工藤由起子. 食品を対象とした *Escherichia albertii* 検出のための基礎的検討. 第115回日本食品衛生学会学術講演会. 令和元年10月3、4日. 東京
- 新井沙倉、大塚佳代子、小西典子、望月瑞葉、永井祐樹、原田誠也、大屋賢司、甲斐明美、工藤由起子. 鶏肉での *Escherichia albertii* 検出法の検討および汚染実態. 第40回日本食品微生物学会学術総会. 令和元年11月28、29日. 東京
- 佐藤実佳、大塚佳代子、小西典子、尾畑浩魅、新井沙倉、今野貴之、床井由紀、長岡宏美、佐伯美由紀、工藤由起子. 鶏肉における *Escherichia albertii* 分離培養法の検討. 第40回日本食品微生物学会学術総会. 令和元年11月28、29日. 東京
- 新井沙倉、大塚佳代子、小西典子、大屋賢司、工藤由起子. 鶏肉における *Escherichia albertii* 検出のための PCR 法の検討. 第93回日本細菌学会総会. 令和2年2月19、20、21日. 名古屋
- 大岡唯祐，勢戸和子，小椋義俊，井口純，中村佳司，後藤恭宏，藺牟田直子，本田己喜子，池田徹也，杉谷和加奈，今野貴之，河野喜美子，工藤由起子，村上光一，林哲也，西順一郎. 新興下痢症起因菌 *Escherichia albertii* の O 抗原合成系の多様性と遺伝子タイピング法の開発. 第23回腸管出血性大腸菌感染症研究会（一般演題），松山，2019.
- 大岡唯祐. ゲノムから見えてきた新興下痢症起因菌

Escherichia albertii の特性
とその応用. 第 93 回日本細菌
学会総会 (ワークショップ) ,
名古屋, 2020.

H. 知的所有権の取得状況・登録状況
なし