

動物における人獣共通病原性大腸菌の保有状況と特徴

【要約】

肉牛、豚および野鳥の糞便中にいる、人に病気を起こす可能性のある病原性大腸菌の保有状況とそれら分離株の特性を調べました。豚と野鳥は人から分離されるタイプの病原性大腸菌をほとんど保有しませんが、多くの肉牛はその可能性の高い菌株を保有することがわかりました。また、遺伝子解析の結果、肉牛由来 O157 株の一部は集団食中毒事例から検出されたものと完全一致しました。

【背景・目的】

家畜や野生動物における人獣共通病原性大腸菌の保有実態は明らかでなく、公衆衛生対策のブラックボックスとなっています。温血動物の腸内には普通の大腸菌が常在するので病原性大腸菌との区別が難しいこと、病原性大腸菌は菌株間に多様性があることなどがその理由です。この研究では、人への感染リスクを考える上で腸管出血性大腸菌 (EHEC) に焦点をあて、肉牛、豚、野鳥での保有状況を調べました。また、分離した EHEC 株の細菌学的特性を解析しデータベースを構築することにより、既に構築された人食中毒由来株のそれと比較が可能となりました。

【成果の内容・特徴】

野鳥 (62 種 447 羽)、豚 (30 県、301 農場、各種月齢のもの 1771 頭) および肉牛 (10 道県 25 農場、294 頭) の糞便材料について、EHEC の必須遺伝子である志賀毒素遺伝子 (*stx*) とインチミン遺伝子 (*eae*) を PCR で検出を試みたところ、野鳥では *stx* が 23 羽 (5%)、*eae* が 115 羽 (25%) からそれぞれ検出されました。また、菌分離の結果、*stx* を保有する大腸菌 (STEC) は野鳥 3 種 4 羽から、*eae* を保有する大腸菌 (EPEC) は野鳥 16 種 39 羽からそれぞれ分離されました。分離された大腸菌株の性状を表 1 に示しましたが、人から分離される病原性大腸菌のタイプではありませんでした。また志賀毒素のタイプも「*stx2f*」という珍しいタイプでした。EHEC は分離されませんでした。豚の PCR 検出成績は *stx* と *eae* がそれぞれ 4.9% と 23.7% でした。分離した STEC 55 株と EPEC 115 株の性状を表 2a, b に示しました。人からの分離報告のある EHEC 血清型 O26, O91, O121 も分離されましたが、いずれの株も *stx* および *eae* を同時に保有せず、EHEC ではないことが確認されました。和牛の PCR 検出成績は *stx* と *eae* でそれぞれ 86% と 62% であり、多くの検体から STEC と EPEC が分離され (表 3)、O157 や O26 などの EHEC も約 1 割の肉牛から分離されました。豚由来株も含め、分離された O26 と O157 株は PFGE, MLVA 解析, *NorV* タイピングを、さらに O157 株については Clade 解析を加えてデータベースを構築しました。それらデータベースを国立感染症研究所の人食中毒由来株のそれと比較したところ、和牛由来 O157 株から人への病原性が最も高い Clade8 に分類される株がはじめて検出され、しかもこれらの株は 2010 年に三重県の高校で発生した集団食中毒事件で分離された株と同一であることが判明しました。動物と人由来株間の関連性を解析する手法とデータベースは人への感染リスク解析や汚染経路の推定等に役立ちます。

【文献・特許】

- 1) Kobayashi, H., 2009, J. Vet. Med. Sci. 71, 363-366.
- 2) Kobayashi, H., 2009, Appl. Environ. Microbiol. 75, 292-295.
- 3) Lee, K., 2011, J. Clin. Microbiol. 49, 1495-1500.
- 4) Lee, K., 2012, Appl. Environ. Microbiol. 78, 3361-3368.

【研究担当者氏名 (所属機関名)】

小林秀樹 (動物衛生研究所)

【具体的成果】

表1 野鳥由来EPEC およびSTECの特性

野鳥糞便由来EPEC(n=39)			野鳥糞便由来STEC(n=4)		
血清型	インテミン型	株数	血清型	stx型	株数
O2	β, κ	2	O20	2f	1
O8	ε	2	O132	2f	2
O8	β	1	O147	2f	1
O21	β	1			
O55	μ, θ	2			
O55	NT	6			
O56	ζ	1			
O58	NT	1			
O64	ν	1			
O71	μ	1			
O81	χ	1			
O103	ζ	2			
O110	β	1			
O115	ε	1			
O117	λ	2			
O120	α	2			
O128	β	2			
O132	α	2			
O132	ε	1			
O137	ξ	1			
O147	NT	1			
O171	λ	1			
ONT	μ	1			
ONT	NT	3			

(参考)人からの主要O血清群 (O157, O26, O111)が全体の98%を占める
以外の分離比率 (2007-2009年、国立感染症研)

表2a 豚由来STEC 55株の特性 (eae保有株無し)

O群血清型	stx型	血液寒天培地での溶血性	分離株数	志賀毒素産生
O1	1	+	1	-
O2	1	+	3	+(2) ⁹ , -(1)
O2	1	-	1	-
O2	1	-	1	+
O5	1	-	1	-
O8	1	-	3	+
O8	1	-	2	-
O17	1	-	1	-
O26	2	+	1	-
O26	2	+	1	+
O36	1	+	2	+
O36	1	-	1	+
O42	1	+	1	-
O86	1	-	1	+
O91	1	+	1	+
O100	1	-	1	+
O117	1	+	2	+
O120	1	+	3	+
O121	1	+	5	+
O139	1	-	1	+
O139	1	+	2	+
O172	1	+	1	+
ONT ^{b)}	1	-	1	+
ONT	1	+	13	+(9), -(4)
ONT	1	-	5	+(3), -(2)
計		36	55	40
陽性率		(65%)		(73%)

表2b 豚由来EPEC 115株の特性 (stx保有株無し)

O血清型	インテミンタイプ	血液寒天培地での溶血性	分離株数	O血清型	インテミンタイプ	血液寒天培地での溶血性	分離株数
O1	β	+(1) ⁹ , -(4)	5	O108	β	+	10
O1	NT	+(1), -(1)	2	O111	β	-	1
O2	ι	-	1	O112	β	-	1
O6	NT	-	1	O117	NT	-	5
O9	β	-	1	O118	NT	-	2
O11	NT	-	2	O123	β	-	1
O15	β	-	1	O127	NT	-	1
O26	β	+	1	O128	NT	-	1
O26	ε	+(1), -(1)	2	O129	β	-	1
O26	NT	+(3), -(1)	4	O132	NT	-	1
O45	β	-	1	O140	β	-	1
O45	NT	-	1	O145	β	+	1
O49	NT	-	3	O145	NT	+(3), -(1)	4
O51	β	+(1), -(2)	3	O156	NT	+	1
O51	ε	-	1	O169	β	-	1
O53	β	-	1	O172	NT	+(1), -(3)	4
O53	NT	+	3	ONT	β	+(1), -(8)	9
O66	NT	-	1	ONT	ε	-	1
O76	NT	-	1	ONT	NT	+(4), -(9)	13
O88	NT	-	1	計		38	
O98	NT	+	3			(33%)	
O103	β	+(2), -(12)	14				
O103	ε	+	1				
O103	NT	-	2				

表3 肉用和牛由来STEC(n=97)とEPEC(n=32)の性状

O血清型	stx型	eae	分離株数	O血清型	stx型	eae	分離株数
O2	2	1	1	O113	2		10
O2	2		5	O113	1&2		5
O3	1	1	1	O113	1&2		1
O3	1	1	1	O115	-	+	1
O6	1	1	1	O117	-	+	2
O6	2	5	5	O120	2		1
O8	1	1	1	O125	2		1
O8	2	1	1	O136	1&2		1
O8	1&2	2	2	O141	1&2		1
O10	-	+	2	O150	-	+	1
O15	2	2	2	O153	1&2		4
O22	1	2	2	O156	2		1
O22	1&2	4	4	O156	1&2		1
O26	1	+	1	O156	-	+	6
O28	1&2	2	2	O157	2	+	2
O35	-	+	1	O159	2		1
O42	2	2	2	O163	2		1
O48	2	1	1	O163	2		3
O51	-	+	5	O163	2		1
O64	2	+	1	O168	1		3
O64	2	2	2	O168	2		1
O64	-	+	1	O168	1&2		1
O74	2	2	2	O174	2		2
O74	-	+	1	O174	-	+	1
O75	1	5	5	ONT	2	+	2
O101	-	+	2	ONT	2		2
O103	2	1	1	ONT	2		2
O103	-	+	3	ONT	2		2
O106	-	+	3	ONT	1&2		1
O108	-	+	2	ONT	1&2		3
				ONT	-	+	2