

# と畜場搬入牛より分離した腸管出血性大腸菌 O157 の性状

豊橋市食肉衛生検査所 ○松本 圭 今泉小百合 高木慎介  
森本賢治 清水隆博 細井美博

## はじめに

牛は腸管出血性大腸菌（EHEC）の保菌動物であり、EHEC による食中毒の原因食品は牛に関連する食品が多い。フードチェーンの川上であると畜場での解体時の汚染防止は重要な課題であり、当所では 2011 年 4 月より管内と畜場搬入牛の EHEC 保菌状況を調査している。今回、これまでに分離された EHEC O157 について性状を分析したので報告する。

## 材料及び方法

2011 年 4 月から 2013 年 10 月に行った当所の EHEC 保菌状況調査において、管内と畜場搬入牛のうち肥育牛 1,156 頭(78 農場)中 42 頭(19 農場)の直腸便から分離された EHEC O157、42 株を用いて以下の試験を実施した。

- 1 ベロ毒素（VT）産生性試験：デュオパス・ベロトキシン（Merck 社）を用いた。
- 2 薬剤感受性試験：14 薬剤（ABPC、CEZ、AMPC/CVA、SM、KM、GM、TC、CP、ST、FOM、NA、OFLX、CPLX、NFLX）について、センシディスク（BD 社）による K-B 法で実施した。なお、同試験で中間を示したものについては耐性に含めた。
- 3 IS-Printing（東洋紡）：泳動後エチジウムブロマイドで染色し紫外線撮影を行い、バンドパターンを比較した。また同時に VT 産生遺伝子である *vtx1*、*vtx2*、腸管粘膜への接着に必要なインチミンの遺伝子 *eaeA*、溶血素であるエンテロヘモリシンの遺伝子 *hlyA* の各遺伝子の有無について確認した。
- 4 PFGE：制限酵素に *Xba* I を用い、泳動後 SYBR-Green で染色し紫外線撮影を行い、バンドパターンを比較した。

## 成 績

42 株について、VT 産生性試験、薬剤耐性、IS-Printing 及び PFGE パターン並びに病原性関連遺伝子（*vtx1*、*vtx2*、*eaeA* 及び *hlyA*）の結果について表に示した。

表：分離されたEHEC 0157の性状

| No. | 分離年月日      | 農場 | VT* | 耐性パターン               | IS<br>パターン** | PFGE<br>パターン** | 病原性関連遺伝子    |             |             |             |
|-----|------------|----|-----|----------------------|--------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|     |            |    |     |                      |              |                | <i>vtx1</i> | <i>vtx2</i> | <i>eaeA</i> | <i>hlyA</i> |
| 1   | 2011.4.5   | A  | 1,2 | ABPC-SM-ST           |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 2   | 2011.4.6   | B  | 2   | -                    | a            | VI             |             | +           | +           | +           |
| 3   | 2011.5.11  | B  | 2   | -                    | a            | VI´            |             | +           | +           | +           |
| 4   | 2011.6.7   | C  | 2   | -                    | b            |                |             | +           | +           | +           |
| 5   | 2011.8.2   | D  | 1,2 | -                    | c            | I              | +           | +           | +           | +           |
| 6   | 2011.8.2   | E  | 2   | ABPC-SM              | d            | II             |             | +           | +           | +           |
| 7   | 2011.8.2   | E  | 2   | -                    | d            | II             |             | +           | +           | +           |
| 8   | 2011.8.3   | F  | 2   | ABPC-SM-TC           |              |                |             | +           | +           | +           |
| 9   | 2011.9.6   | A  | 1,2 | SM-TC-CP             |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 10  | 2011.9.6   | D  | 1,2 | -                    |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 11  | 2011.9.9   | F  | 1,2 | -                    | e            | VII            | +           | +           | +           | +           |
| 12  | 2011.10.4  | C  | 2   | -                    | b            |                |             | +           | +           | +           |
| 13  | 2011.10.4  | D  | 1,2 | -                    | c            | I              | +           | +           | +           | +           |
| 14  | 2011.10.7  | F  | 1,2 | SM                   | e            | VII´           | +           | +           | +           | +           |
| 15  | 2011.11.4  | F  | 1,2 | SM                   | e            |                | +           | +           | +           | +           |
| 16  | 2012.1.16  | G  | 2   | SM                   |              |                |             | +           | +           | +           |
| 17  | 2012.7.6   | H  | 2   | -                    | f            |                |             | +           | +           | +           |
| 18  | 2012.7.9   | I  | 1,2 | SM                   | g            |                | +           | +           | +           | +           |
| 19  | 2012.8.24  | J  | 1   | -                    | g            |                | +           | +           | +           | +           |
| 20  | 2012.9.4   | C  | 2   | -                    |              |                |             | +           | +           | +           |
| 21  | 2012.9.7   | H  | 2   | SM                   | f´           |                |             | +           | +           | +           |
| 22  | 2012.9.11  | D  | 1   | -                    | c´           | I´             | +           | +           | +           | +           |
| 23  | 2012.9.11  | D  | 1   | -                    | c´           | I´             | +           | +           | +           | +           |
| 24  | 2012.9.11  | D  | 1   | -                    | c´           | I´             | +           | +           | +           | +           |
| 25  | 2013.6.10  | K  | 2   | -                    | h            |                |             | +           | +           | +           |
| 26  | 2013.6.11  | A  | 1,2 | -                    | i            | III            | +           | +           | +           | +           |
| 27  | 2013.6.17  | A  | 1,2 | -                    | i            | III            | +           | +           | +           | +           |
| 28  | 2013.7.3   | L  | 1,2 | -                    |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 29  | 2013.7.9   | M  | 2   | -                    | h            | IV             |             | +           | +           | +           |
| 30  | 2013.7.16  | N  | 1,2 | -                    | i´           | III´           | +           | +           | +           | +           |
| 31  | 2013.8.5   | O  | 1,2 | SM                   |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 32  | 2013.8.5   | J  | 1,2 | SM                   | j            |                | +           | +           | +           | +           |
| 33  | 2013.8.19  | A  | 1,2 | -                    | i            | III            | +           | +           | +           | +           |
| 34  | 2013.8.19  | P  | 2   | -                    |              |                |             | +           | +           | +           |
| 35  | 2013.8.20  | Q  | 1,2 | ABPC-CEZ-SM-TC       |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 36  | 2013.8.20  | M  | 2   | -                    | h            | IV             |             | +           | +           | +           |
| 37  | 2013.9.3   | M  | 1,2 | -                    | k            | V              | +           | +           | +           | +           |
| 38  | 2013.9.9   | M  | 1,2 | -                    | k            | V              | +           | +           | +           | +           |
| 39  | 2013.9.10  | D  | 1   | ABPC-CEZ-SM-KM-TC-CP | j´           |                | +           | +           | +           | +           |
| 40  | 2013.10.2  | G  | 1,2 | -                    |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 41  | 2013.10.4  | R  | 1,2 | -                    |              |                | +           | +           | +           | +           |
| 42  | 2013.10.22 | S  | 1,2 | -                    |              |                | +           | +           | +           | +           |

\*：デュオパス・ペロトキシンによる

\*\*：ISパターン、PFGEパターンについては、同一のパターンを示したものを便宜的にそれぞれ小文字アルファベット、ローマ数字で、近似したパターンの株をダッシュ（´）を付けて記した。

- VT 産生性試験：VT1 のみを産生したものが 5 株（11.9%）、VT2 のみを産生したものが 15 株（35.7%）、VT1、VT2 両方を産生したものが 22 株（52.4%）であった。
- 薬剤感受性試験：13 株（31.0%）が試験した薬剤のいずれかに耐性で、そのうち 6 株（14.3%）は複数の薬剤（2～6 薬剤）に対して耐性を示した。  
薬剤別では、13 株全てが SM に、ついで ABPC に 5 株（11.9%）、TC に 4 株（9.5%）、CEZ と CP にそれぞれ 2 株（4.8%）、KM と ST にそれぞれ 1 株（2.4%）で耐性を示した。
- IS-Printing：IS パターンでは、複数株で同一パターンを示したものが 10 組（a、

b、c、d、e、g、h、i、k 及び c<sup>′</sup>) 見られ、1 バンド違いで近似したパターンの株が 4 組 (c<sup>′</sup>、i<sup>′</sup>、f<sup>′</sup>、j<sup>′</sup>) であった。なお、病原性関連遺伝子は、42 株全てで *vtx2*、*eaeA*、*hlyA* を保有し、27 株が *vtx1* を保有していた。

4 PFGE: PFGE パターンでは複数株で同一パターンを示したものが 6 組 (I ~ V 及び I<sup>′</sup>) 見られ、3 バンド以内の違いで近似したパターンの株が 4 組 (I<sup>′</sup>、III<sup>′</sup>、VI<sup>′</sup> 及び VII<sup>′</sup>) であった。

## 考 察

今回、試験した 42 株全てが病原性関連遺伝子 (*vtx2*、*eaeA* 及び *hlyA*) を有しており公衆衛生上留意すべきと考えられた。VT2 は VT1 よりもヒトに対する毒性が高いと考えられている[1]。

42 株はすべて *vtx2* を保有していたが、VT2 の産生が認められたのは 37 株(88.1%) であった。このことは、遺伝子型が発現していない可能性や検出キットの感度による差[2]が考えられた。

薬剤感受性試験の結果、複数の薬剤に耐性を示す多剤耐性株が 6 株見られたが、その中で最多の 6 薬剤に耐性を示した No.39 はヒトの治療に用いられることがある KM に対して耐性であった。ヒトの治療に用いられる他の薬剤については、FOM やニューキノロンに耐性の株はなかったが、今後、ヒトの治療薬の耐性の動向や多剤耐性の動向に注意する必要があると考えられた。

IS-Printing と PFGE を併用してタイピングを行った結果、同一の菌株と考えられたものの多くは同一農場の牛から分離され、分離の間隔は 1~2 ヶ月が中心であった。なお、D 農場では 2011 年に分離された No.5、No.13 と 2012 年に分離された No.22、No.23、No.24 の結果が近似しており、同農場では 1 年近くもの間、同一の O157 株が存在していたか若しくは導入元が汚染され、間欠的に保菌牛が D 農場に導入されていた可能性が考えられた。一方、A 農場の牛から分離された No.26、No.27、No.33 と N 農場の No.30 で結果が近似していたが、トレーサビリティシステムによる牛の履歴からは疫学的関連性は認められなかった。

今後もと畜場で分離される EHEC の病原性関連遺伝子の有無や遺伝子型別、薬剤耐性等について継続調査し、家畜衛生並びに食中毒発生時の遡り調査等広く公衆衛生に貢献していきたいと考えている。

## 引用文献

[1]西川 禎一ら：腸管出血性大腸菌の疫学．モダンメディア，58(4)，103-112 (2012)

[2]勢戸 和子：腸管出血性大腸菌(志賀毒素産生性大腸菌)．モダンメディア，56(12)，337-340 (2010)