

と畜場搬入豚における *Escherichia albertii* 保菌状況調査
および分離株の性状解析

長崎県川棚食肉衛生検査所 ○樋渡佐知子

はじめに

Escherichia albertii (*E. a*) は、大腸菌 (*Escherichia coli*) に近縁な新種として 2003 年に分類された新興下痢症原因菌である [1]。国内において、近年、有症者数 100 人を超える集団感染事例 [1] が発生し、また、志賀毒素産生株による溶血性尿毒症症候群の発症事例 [1] も報告された。その一方で、国内外では、家畜や野鳥などの保菌 [1, 3] が報告されているものの、自然宿主や感染源についてはほとんど解明されていない。そこで、*E. a* の感染経路解明の一助とするため、と畜場に搬入された豚の *E. a* 保菌状況および分離株の性状解析を実施するとともに豚肉による人への本菌の感染リスクを検証したので報告する。

材料および方法

1 材料

2019 年 6～9 月に K と畜場に搬入された豚 130 頭（7 県 25 農場）の直腸便を供試した。

2 方法

(1) 菌分離

直腸便を緩衝ペプトン水 (BPW) 9 ml に約 1 g 接種し、37℃で一晩培養後、アルカリポイル法にて DNA を抽出し、Hyma らの診断的 Multiplex PCR [2, 3] によるスクリーニングを行った。スクリーニング陽性検体を DHL 寒天培地および SS 寒天培地に塗抹し、37℃で一晩培養後、DHL 寒天培地では白色および赤色コロニー、SS 寒天培地では白色コロニーについて前述の Multiplex PCR により同定した。

(2) 生化学的性状試験

TSI、LIM、SC、VP 培地および VITEK2 グラム陰性桿菌同定カード（バイオメリュー・ジャパン株式会社）を用いて生化学的性状試験を実施した。

(3) 病原性関連遺伝子の保有状況

耐熱性エンテロトキシン (*sta*)、インチミン遺伝子 (*eae*) および志賀毒素遺伝子 (*stx₁*、*stx₂*、*stx_{2f}*) は Lindsey らの報告 [4] に基づき、細胞膨化致死毒素遺伝子 (*cdt*) は、Tóth らの報告 [5] および Akiyama らの報告 [6] に基づき保有状況を調査し、*cdt* を検出した場合、サブタイプを決定した。

成績

スクリーニング PCR の結果、130 検体中 14 検体 (10.8%)、5 県 8 農場で陽性であった。

陽性検体から菌の分離を試みたところ、3 検体（2.3%）、3 県 3 農場から *E. a* が分離された。

分離株の生化学的性状試験の結果、3 株とも同様の性状を示し、リジン脱炭酸陽性／インドール産生陽性で biogroup 3 に分類された [7]。VITEK による分離株の同定結果は、データベースに *E. a* が含まれていないため、3 株とも *E. fergusoi* が同定菌種となり、47 項目中 44 項目のプロファイルは一致したが、3 項目（p-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド、乳酸、グリシル-p-ニトロアニリド）は異なるプロファイルを示した。また、すべての株から病原性関連遺伝子である *eae* と *cdt* が検出され、*cdt* のサブタイピングにより、分離株は、I（1 株）と II III IV（2 株）の 2 つに分類された。*sta*、*stx₁*、*stx₂*、*stx_{2f}* はすべての株で検出されなかった。

考察

今回の調査において当と畜場に搬入されている複数県の複数農場由来の健康豚が *E. a* を保菌していることが明らかになった。菌分離率は、他県の報告（0～6.8%）[8, 9]と同程度であった。

3 株の分離株は biogroup 3 に分類されたが、人および野鳥から分離された *E. a* がこの性状であったことが報告されており [3, 7]、また、本菌はもともと鳥類に広く分布していること [1, 3] から、野鳥の糞便を介して豚に感染した可能性も考えられた。

本菌の一部には志賀毒素遺伝子（サブタイプ *stx_{2f}* の場合が多い）を保有する菌株が存在することが報告されているが [1]、今回、*stx* を保有する株は認められなかった。しかし、すべての分離株が病原性関連遺伝子である *eae* と *cdt* を保有していたことから、豚肉を介して本菌が人に感染する可能性も示唆された。

今回、3 株の分離株において VITEK で 3 項目のプロファイルが一致しなかったが、*rpoB* 遺伝子の多型に基づいて VITEK のプロファイルが異なるという報告 [4] があり、今後、分離株について *rpoB* 遺伝子解析をする必要があると思われた。

今回の調査で菌分離は 3 株であったものの、スクリーニング PCR で豚直腸便から 10.8% の *E. a* 特異的遺伝子が検出されたことから、搬入された豚が潜在的に本菌を保有している場合、処理工程を介して他の個体や環境への汚染を広げていく可能性が示唆された。と畜場においては、糞便由来の本菌が食肉などを汚染するリスクを考慮し、と畜解体作業における消化管内容物の取り扱いに注意するなど食中毒予防の啓発に努めることが重要である。

また、*E. a* については、細菌学的な特徴、感染経路、保菌宿主、病原機構など解明されていない点が多く、厚生労働省健康局結核感染症課長通知により情報収集が行われている。今回の調査で本菌の分離、同定にあたり、*E. coli* に類似した性状を示すため、培地上での鑑別は困難であり、選択分離培地など効率的な分離方法についても検討が必要であると思われた。

まとめ

今回、豚 130 頭中 3 頭 (2.3%) から検出された新興下痢症起因菌の *E. a* の分離株は食中毒由来株と類似の性状を示しており、食肉を介して本菌が人に感染する可能性が示唆された。と畜場における食肉の衛生的な処理に関する指導など食中毒予防の啓発に努めることが重要である。また、*E. a* に関しては解明されていない点が多く、今後も疫学調査による情報の集積や細菌学的な解明が必要である。

引用文献

- 1) 大岡唯裕：新興下痢症原因菌 *Escherichia albertii*, 日本食品微生物学会雑誌, 34, 151-157 (2017)
- 2) Hyma KE, *et al*: Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and related *Shigella boydii* strains, J Bacteriol, 187, 619-628 (2005)
- 3) Oaks JL, *et al*: *Escherichia albertii* in wild and domestic birds, Emerg Infect Dis, 16, 638-646 (2010)
- 4) Lindsey RL, *et al*: Evaluating the occurrence of *Escherichia albertii* in chicken carcass rinses by PCR, Vitek analysis, and sequencing of the *rpoB* gene, Appl Environ Microbiol, 81, 1727-1734 (2015)
- 5) Tóth I, *et al*: Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources: establishment of the existence of a new *cdt* variant (Type IV), J Clin Microbiol, 41, 4285-4291 (2003)
- 6) Akiyama Y, *et al*: Comprehensive study of pathogenic genes distributed in *Escherichia coli* isolated from cattle, Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 56, 118-122 (2015)
- 7) Murakami K, *et al*: Non-biogroup 1 or 2 strains of the emerging zoonotic pathogen *Escherichia albertii*, their proposed assignment to biogroup 3, and their commonly detected characteristics, Front Microbiol, 10, 1543 (2019)
- 8) 戸田純子ら：新規腸管病原菌 *Escherichia albertii* の生態学的調査日本獣医師会雑誌, 69, 770-771 (2016)
- 9) 比嘉万里子ら：家畜における *Escherichia albertii* 保菌状況調査と分離株の解析, 平成 30 年度食肉及び食鳥肉衛生技術研修会並びに研究発表会資料, 298-300 (2018)