

病理部門

Enterohemorrhagic Escherichia coli (O157, O26, O111) in cows in the Kyoto City Slaughter House

Division of Pathology

Abstract

Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) is an important cause of diarrhea, hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. Cattle are considered to be the major sources of EHEC. This study investigated EHEC O157, O26 and O111 carried in cattle in the Kyoto City Slaughter House. From July to December in 2008 EHEC was isolated from 14 of 176 (7.95%) rectal contents of cattle. EHEC O157:H7 was isolated from 11 samples, O26:H- from 2 samples and O111:H- from 1 sample. The results of this study indicated necessity for more sanitary management.

Key Word

Enterohemorrhagic Escherichia coli 腸管出血性大腸菌

1 はじめに

1996年以降、腸管出血性大腸菌(EHEC)による患者の発生が相次いでいる。EHECの保菌動物としては牛が重要視されており、と畜場における衛生管理において、EHECによる枝肉や内臓の汚染を防止することは重要な課題である。そのために、汚染源と考えられる牛のEHEC保菌状況を把握しておくことが大切であると考えられる。本調査では、人でのEHECによる食中毒の原因である、O157, O26及びO111の保菌状況を調べるとともに、枝肉や内臓の汚染状況も調査したので報告する。

2 材料及び方法

(1) 直腸便

平成20年7月から12月の間に、京都市と畜場に正常畜として搬入された6出荷者、計176頭の牛の直腸便を採取し検体とした。採取した直腸便を、ノボピオシン(20mg/L)加トリプトソイブイオン(以下、N-TSB)に接種し、42℃で18-24時間培養した。その後、分離培地に塗布し、37℃で18-24時間培養した。なお、分離培地には、O157にはセフィキシム・亜テルル酸カリウム加ソルビットマッコンキー寒天培地(以下、CT-SMAC)、O26にはセフェキシム・亜テルル酸カリウム加MacConkeyAgar Baseにラムノースを添加したもの(以下、CT-RMAC)、O111にはセフィキシム・亜テルル酸カリウム加MacConkeyAgar Baseにソルボースを添加したもの(以下、CT-SBMAC)を用いた。それぞれの分

離培地に疑わしいコロニーがあれば、コロニーを掻き取り、DNAを煮沸抽出し、O157及びO111はPATONら⁽¹⁾の報告したPCR法、O26はDursoら⁽²⁾の報告したPCR法で遺伝子を検出した。PCRが陽性であれば普通寒天培地に純培養し、市販の血清を用いて、O抗原・H抗原の血清型を決定し、PCRでVT遺伝子の有無を調べた。なお、PCR陽性でもコロニーが分離できなかったものについては、N-TSBで再度培養後、免疫磁気ビーズ法で集菌し、O157はCT-SMACまたはクロモアガー-O157、O26はCT-RMAC、O111はCT-SBMACで培養した。その後、同様に血清型別試験をし、PCRでVT遺伝子を調べた。

(2) ふき取り検査

直腸便を採取した牛のうち、37頭の牛の肝臓、枝肉(尻部・胸部)をふきふきチェックIIでふき取り試験液とした。試験液を、2倍濃度で作製したN-TSBに等量添加し、42℃で18-24時間培養した。その後、直腸便と同様の検査を実施し、血清型とVT遺伝子の有無を調べた。また、残りの試験液で、デソキシコレイト寒天培地を用い、混釈培養法により大腸菌群数を調べた。

3 結果

直腸便176検体のうち、14検体(7.95%)からEHECが分離された(表1)。O157は11検体(6.3%)、O26は2検体(1.1%)、O111は1検体(0.6%)が分離され、6出荷者中の5出荷者からEHECが分離された(表2)。肝臓37検体及び枝肉74検体(尻部37検体・胸部37検体)

表1 分離された菌の概要

No.	採材日	血清型別	VT	農場
1	7月5日	O157:H7	2	E
2	7月5日	O157:H7	2	E
3	8月14日	O157:H7	2	C
4	8月28日	O157:H7	2	C
5	8月28日	O157:H7	2	C
6	8月29日	O157:H7	2	A
7	9月4日	O157:H7	2	B

No.	採材日	血清型別	VT	農場
8	9月4日	O157:H7	2	D
9	9月11日	O157:H7	2	C
10	10月17日	O157:H7	2	A
11	12月5日	O157:H7	2	A
12	8月12日	O26:H-	1.2	C
13	8月14日	O26:H-	1.2	C
14	8月14日	O111:H-	1	B

のふき取り計 111 検体からは、いずれの菌も分離されなかった(表3)。分離された O157 は全て血清型 O157:H7, VT2 であり, O26 は O26:H-, VT1+VT2 で, O111 は O111:H-, VT1 であった。また, 7月から9月に EHEC が多く分離された(図1)。

4 考察

京都市と畜場における牛直腸便の O157 保菌率は 6.3% で, 1999 年度の厚生省研究班による全国調査³⁾の 6.5% と同様の結果が得られた。さらに O26, O111 を含めると 7.95% の牛から EHEC が検出された。対象となった出荷者間の EHEC の検出率に幅が認められたものの, 6 出荷者中 5 出荷者より検出されたことから, 広く汚染されていると考えられる。7月から9月に高い陽性率を示したが, このような傾向は他でも報告されており⁴⁾, 気温の高い時期においてはより一層の衛生管理が求められる。

今回の調査では, 肝臓, 枝肉(尻部・胸部)からは EHEC は分離されなかった。しかし, 大腸菌群数を調べたところ, 個体によっては多くの大腸菌群が検出されることもあり, EHEC に汚染されている可能性も否定できない。今回, 7.95% の牛から EHEC が分離されたことを受け, 当所では牛搬入時のヨロイ(体表に糞便が付着し乾燥したもの)の除去, 枝肉の接触防止, 食道結紮の徹底及び内臓の破損防止などの解体作業工程における衛生管理をより一層強く指導していきたい。また, 各月の検体数にばらつきがあるなど, 調査方法の改善点もあるので, 今後も調査を進め, 更にはバリエーション(変異)等も調べることによって, 汚染経路の解明に役立てたいと考えている。

5 参考文献

- (1) ANRIENNE W. PATON and JAMES C. PATON: Detection and Characterization of Shiga Toxicogenic *Escherichia coli* by Using Multiplex PCR Assays for *stx₁*, *stx₂*, *eaeA*, Enterohemorrhagic *E.coli hlyA*, *rfb_{O111}*, and *rfb_{O157}*
- (2) Lisa M. Durso, James L. Bone, and James E. Keen: Molecular Serotyping of *Escherichia coli* O26:H11. Appl. Environ. Microbiol. 71:4941-4944(2005)
- (3) 久島昌平ら: 日獣会誌 54, 391-394 (2001)
- (4) 神田 隆ら: 日獣会誌 50, 663-666 (1997)

表2 出荷者別分離状況

出荷者	ふき取り		
	肝臓	尻部	胸部
A	5	5	5
B	0	0	0
C	5	5	5
D	15	15	15
E	10	10	10
F	2	2	2
計	37	37	37

表3 ふき取り検査検体数

出荷者	EHEC				検体数	陽性率(%)
	O157	O26	O111	計		
A	3			3	40	7.50
B	1		1	2	17	11.76
C	4	2		6	37	16.22
D	1			1	27	3.70
E	2			2	39	5.13
F				0	16	0.00
計	11	2	1	14	176	7.95
陽性率(%)	6.25	1.14	0.57	7.95		

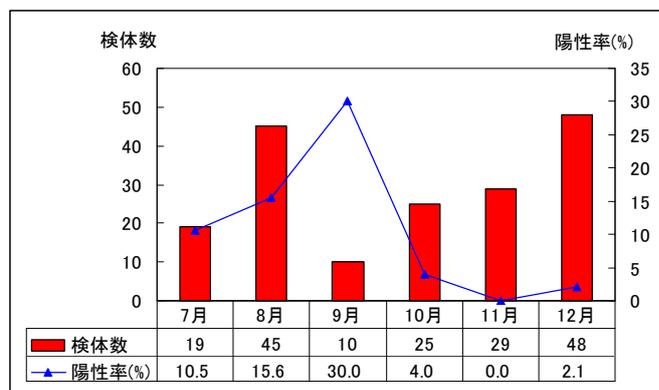


図1 月別の陽性率