

鶏肉・鶏卵におけるStx2f型志賀毒素産生性大腸菌の汚染状況調査

江藤良樹・村上光一・堀川和美

我々は、平成20年度に経験した Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌による感染事例から、鶏が感染源の一つになっているのではないかと推測した。そこで、この仮説を検証するために、市販されている鶏肉及び鶏卵からの分離を試みることにした。市販の加熱調理用鶏肉44検体、生食用鶏肉12検体、未殺菌液卵（全卵）2検体の計58検体を対象とし検査を実施した。しかし、全ての検体で *stx2f* の遺伝子は検出されなかった。

[キーワード：腸管出血性大腸菌、志賀毒素、*stx2f*、鶏肉、鶏卵]

1 はじめに

Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌は下痢症患者からの分離は非常に稀であり、本邦では現在までの報告では主に小児の下痢症患者より分離されているが、これらの感染源は全て不明である^{1) 2)}。分離報告が稀な理由の一つとして、市販の志賀毒素検出キットとの低反応性³⁾や、その他の *stx2* と遺伝子配列が大きく異なることから PCR において一般的な *stx2* プライマーでは増幅が非効率的であることが考えられる。そのため、通常の細菌検査において見逃されている可能性が考えられる。

諸外国の環境調査では、野鳥、特に鳩の糞便から多くの Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌の分離例が報告されており^{4) 5)}、また、Sonntag らは、鳩がヒトへの感染源である可能性があるとして報告している⁶⁾が、鳩からヒトへの感染が直接証明された事例は報告されていない。一方、本邦においては、東京湾の野鳥の調査において鳩、ツバメ等からの分離が報告されている⁹⁾ことから、野鳥が Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌のレゼルポアの一つになっている可能性が考えられる。

このような状況のなか、我々は平成 20 年 10 月に本県の食中毒疑い事例において、成人の下痢症患者より Stx2f 型の志賀毒素を産生する大腸菌（O115:HNM）を分離した¹⁰⁾。疫学調査により、患者は発症の約 13 時間前に鶏ささみユッケ、生の鶏卵、生野菜等を喫食していたことや、同じ料理を喫食した友人（当研究所には検体が搬入されなかった）も下痢症状を示していたから、これらの食品が下痢症の原因と疑われた。しかし、食品残品が確保できな

かったことから、病因物質の特定には至らなかった。これらのことから、我々は食用の鶏肉が Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌の感染源となっているのではないかと推測した。従来、多くの検査施設において、鶏肉及び鶏卵を対象に *stx2f* の検査を全く行なってこなかった。そこで、検証を行うために、生食用鶏肉、加熱調理用鶏肉、鶏卵（液卵）を対象に Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌の検出を試みることにした。

2 方法

2・1 検体

平成 20 年 12 月 18 日から平成 21 年 1 月 20 日にかけて購入した市販の加熱調理用鶏肉 44 検体、生食用鶏肉 12 検体、未殺菌液卵（全卵）2 検体の計 58 検体を対象とし、検査を実施した。

2・2 検査方法

鶏肉は、検体 25 g に Buffered peptone water (BPW) を 225 ml 加えストマッキングし、37 °C 又は 42 °C で一晚培養した。また、液卵の検査は、検体 500 ml に BPW を 5000 ml 加えて攪拌し、42 °C で一晚培養した。

培養液 100 µl を遠心し上清を捨て、TE を 100 µl 加えて 100 °C で 5 分間加熱し、遠心した上清 1 µl を PCR の鋳型とした。PCR による *stx2f* の検出には、Nakao らのプライマー¹¹⁾ (G3-F : TTTACTGTGGATTTCTCTTCGC、G3-R : TCAGTAAGATCCTGAGGCTTG) を使用し、GoTaq Green Master Mix (プロメガ) の 25µl 系で反応を行った。PCR の増幅条件は 94 °C 30 秒、61 °C 30 秒、72 °C 60 秒を 35 サイクル行い、最後に 72 °C で 10 分間伸

長反応を行なった。反応終了後、2%アガロースゲルで電気泳動を行い、増幅産物 (773bp) の確認を行なった。

3 検査結果

加熱調理用鶏肉 44 検体、生食用鶏肉 12 検体及び未殺菌液卵 (全卵) 2 検体の計 58 検体を対象に検査を実施したが、いずれの検体の培養液からも *stx_{2f}* 遺伝子は検出されなかった。

4 考察

今回の調査では、鶏肉 56 検体と鶏卵 2 検体の BPW 増菌液を対象に *stx_{2f}* 遺伝子の検出を試みたが、全て陰性であった。しかし、*stx_{2f}* を保有する大腸菌が下痢症患者より分離されることは非常に稀であることを考えると、仮に鶏がヒトへの主な Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌の感染源であったと仮定しても、その保菌率は非常に低いと考えられる。そのため、今回調査を行った検体数では、鶏における保菌の有無を検証するには不十分である。また、今回用いた培養方法や遺伝子検査法についても、当該菌を検出するのに最適な方法であるか、十分に検証されていないことから、今後、これらの問題点を踏まえ、改めて再検討を行いたい。

一方、全国の検査体制を考えると、*stx_{2f}* は、その他の *stx₂* とは塩基配列が大きく異なることから、*stx₂* を対象とした一般的なプライマーでは増幅効率が低く、検出が困難であると考えられこと、さらに、通常、食品を対象とした腸管出血性大腸菌の検査では、平成 18 年 11 月 2 日食安監発第 1102004 号「腸管出血性大腸菌 O157 及び O26 の検査法について」に準じて検査が

行われるが、この方法では鶏肉を含む食肉は培養法のみで検査が実施され、鶏肉の遺伝子検査が行われる機会は少ないことから、現在まで見逃してきた可能性が考えられる。これらのことから、今後、多くの検査機関で *stx_{2f}* のプライマーを使用し、分離の機会を増やすことが重要である。これにより、より多くの Stx2f 型志賀毒素産生性大腸菌が分離され、解明されていない感染ルートの解明に役立つであろう。

文献

- 1) 磯部順子ら：感染症誌, 78, 1000-1005, 2004.
- 2) 山口仁孝ら：長崎公衛生公害研究所報, 47, 21-28, 2001.
- 3) 甲斐明美ら：感染症誌, 71, 248-253, 1997.
- 4) H. Schmidt et al. : Appl. Environ. Microbiol., 66, 1205-1208, 2000.
- 5) K. Großmann et al. : Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 118, 456-463, 2005.
- 6) S. Morabito et al. : Vet. Microbiol., 82, 275-283, 2001.
- 7) S. Farooq et al. : Lett. Appl. Microbiol., 48, 692-697, 2009.
- 8) A. Sonntag et al. : Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 118, 464-470, 2005.
- 9) H. Kobayashi et al. : Appl. Environ. Microbiol., 75, 292-295, 2009.
- 10) Y. Etoh et al. : Jpn. J. Infect. Dis., 62, 315-317, 2009.
- 11) H. Nakao et al. : FEMS Immunol. Med. Microbiol., 13, 34, 289-97, 2002.