

Escherichia albertii による 食中毒における 病因物質の特定について

静岡県環境衛生科学研究所

○森主博貴 鈴木秀紀 村田学博 松橋平太
山田俊博 長岡宏美 佐原啓二

御殿場健康福祉センター衛生薬務課

泊明季 岩田佐知子 杉山智登勢 鈴木眞二

東部健康福祉センター細菌検査課

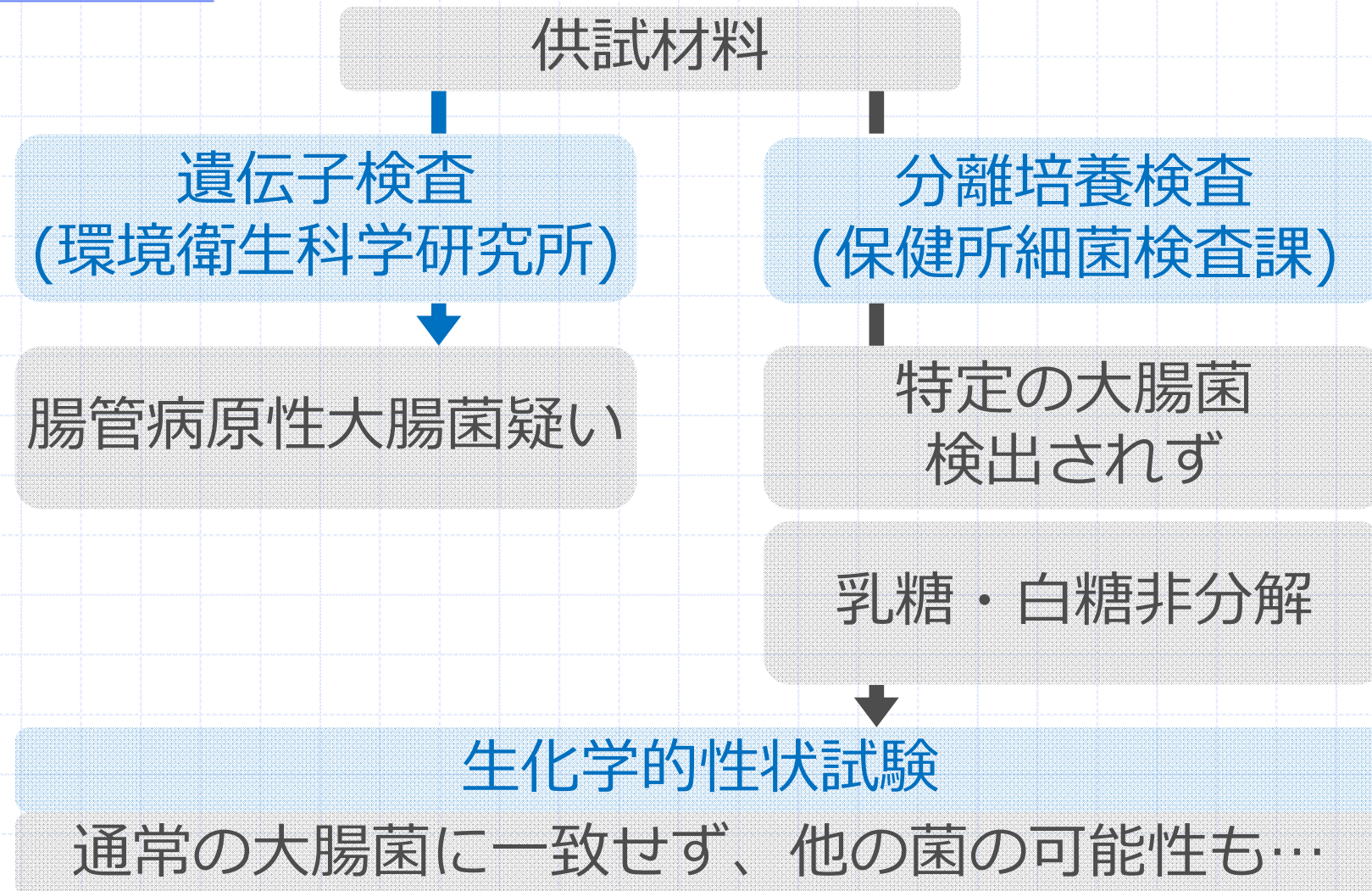
高井健太 平井愛 西尾智裕 野田佳宏

事件の概要

- 発生年月日 : 平成28年7月10日
- 発生場所 : 御殿場市、横須賀市、山梨県
- 患者数等 : 患者**154**人うち入院**48**人
- 主な症状 : 下痢（水様、血便）、腹痛、嘔吐、発熱
- 原因食品 : 7月9日、10日の野営訓練中の食事
- 病因物質 : *Escherichia albertii*
(エシエリキア・アルバーティ)

食中毒発生速報第14号(2016/7/27)より

検査の流れ



供試材料

- 患者便 : 10検体 (水様、血便)
- 従事者便 : 7検体
- 食品、水 : 4検体 (煮卵、ビーフン、ヤングコーン)



※写真はイメージです

食中毒起因菌一斉遺伝子検索

反応系	対象微生物	標的遺伝子	検査結果
A	1 ウェルシュ菌	<i>cpe</i>	(-)
	2 リステリア菌	<i>hly</i>	(-)
B	3 カンピロバクター・ジェジュニ	<i>specific DNA</i>	(-)
	4 腸管出血性大腸菌 (stx2)	<i>stx2</i>	(-)
C	5 腸管病原性大腸菌	<i>eae</i>	(+)
	6 赤痢菌、細胞侵入性大腸菌	<i>virA</i>	(-)
D	7 嘔吐毒産生セレウス菌	<i>ces</i>	(-)
	8 毒素産生大腸菌 (易熱性)	<i>lt</i>	(-)
E	9 耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオ	<i>tdh</i>	(-)
	10 毒素産生大腸菌 (耐熱性)	<i>st</i>	(-)
F	11 黄色ブドウ球菌	<i>femB</i>	(-)
	12 エルシニア菌	<i>yadA</i>	(-)
G	13 腸管凝集接着性大腸菌	<i>astA</i>	(-)
	14 腸管出血性大腸菌 (stx1)	<i>stx1</i>	(-)
H	15 サルモネラ菌	<i>invA</i>	(-)
	16 下痢毒産生セレウス菌	<i>nheB</i>	(-)

食中毒起因菌一斉遺伝子検索

反応系	対象微生物	標的遺伝子	検査結果
A	1 ウェルシュ菌	<i>cpe</i>	(-)
	2 リステリア菌	<i>hly</i>	(-)
B	3 カンピロバクター・ジェジュニ	<i>specific DNA</i>	(-)
	4 腸管出血性大腸菌 (stx2)	<i>stx2</i>	(-)
C	5 腸管病原性大腸菌	<i>eae</i>	(+)
	6 赤痢菌、細胞侵入性大腸菌	<i>virA</i>	(-)
D	7		(-)
	8		(-)
E	9		(-)
	10		(-)
F	11		(-)
	12		(-)
G	13		(-)
	14		(-)
H	15		(-)
	16		(-)

eae(インチミン)

菌が腸粘膜に付着するために必要な

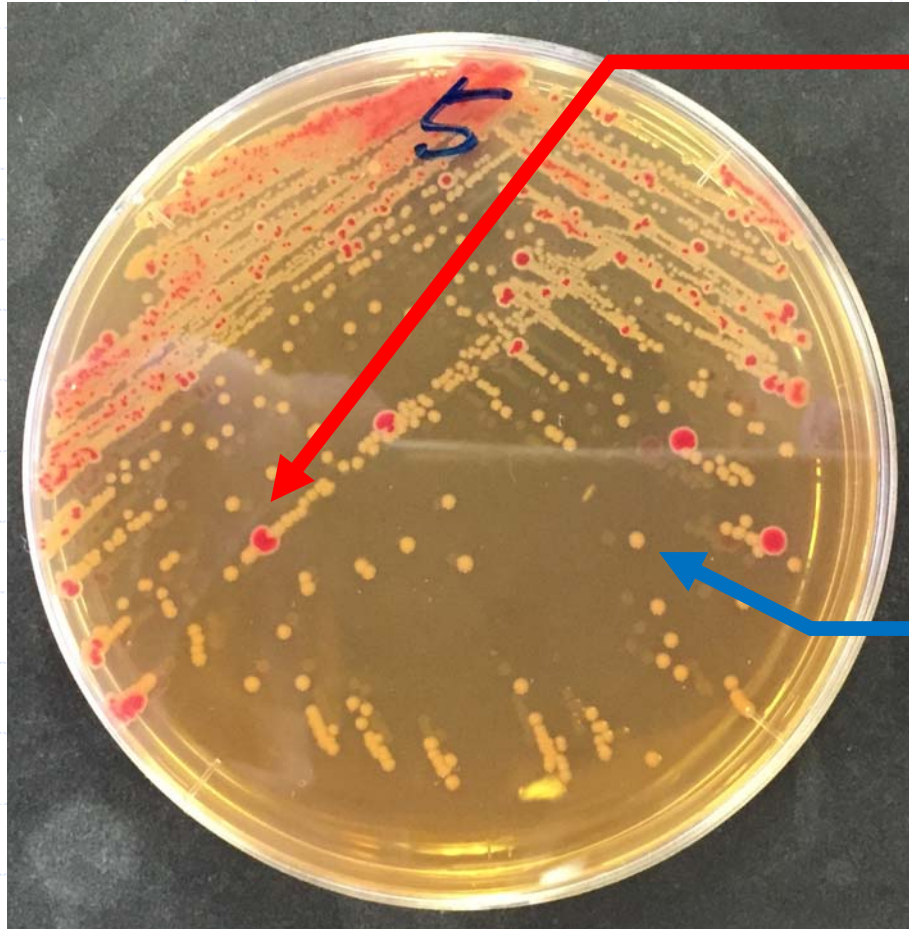
菌体表面にあるたんぱく質。

細菌が腸管内で病原性を示すには

細胞にくっついて増殖しなければ発症しない。

ほとんどの腸管病原性大腸菌が持っている。

分離培養



DHL寒天培地

赤色不透明集落：
乳糖または白糖分解菌

大部分の病原性大腸菌は
こちらに含まれる

無色透明集落：
乳糖および白糖非分解菌

一部の大腸菌は乳糖・白糖
が非または遅分解性

生化学的性状



T S I

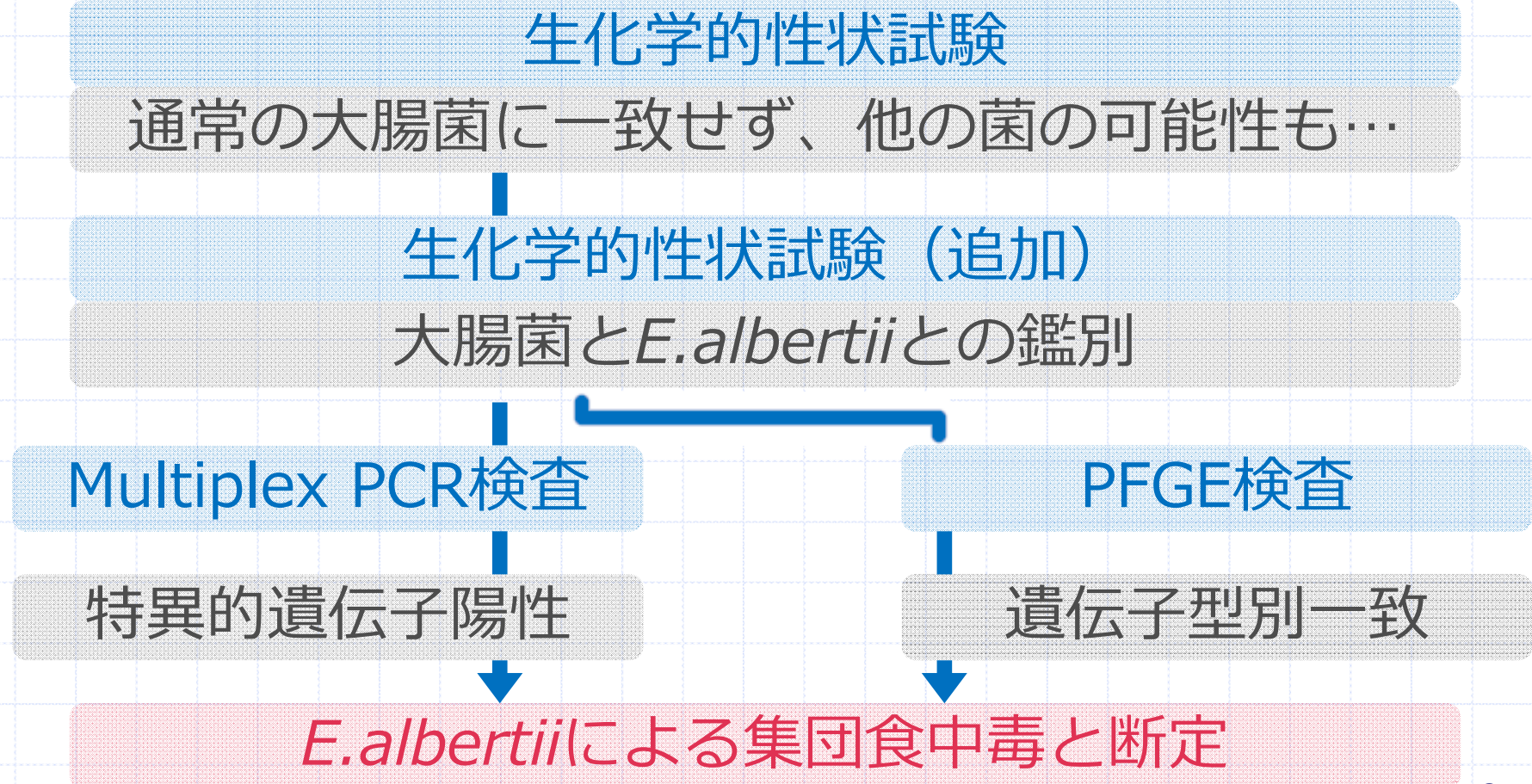
乳糖・白糖分解	—
ブドウ糖分解	+
硫化水素産生	—
ガス産生	+

L I M

リジン脱炭酸	+
インドール産生	+
運動性	—



検査の流れ



生化学的性状

分離株

乳糖分解	-
硫化水素産生	-
ガス産生	+
リジン脱炭酸	+
インドール	+
運動性	-
β-グルクロニダーゼ	-
キシロース	-
ベロ毒素	-
ホト赤痢菌血清型13	-

E. albertii

-
-
+
+
+
-
-
-
+ or -
+ or -

E. coli

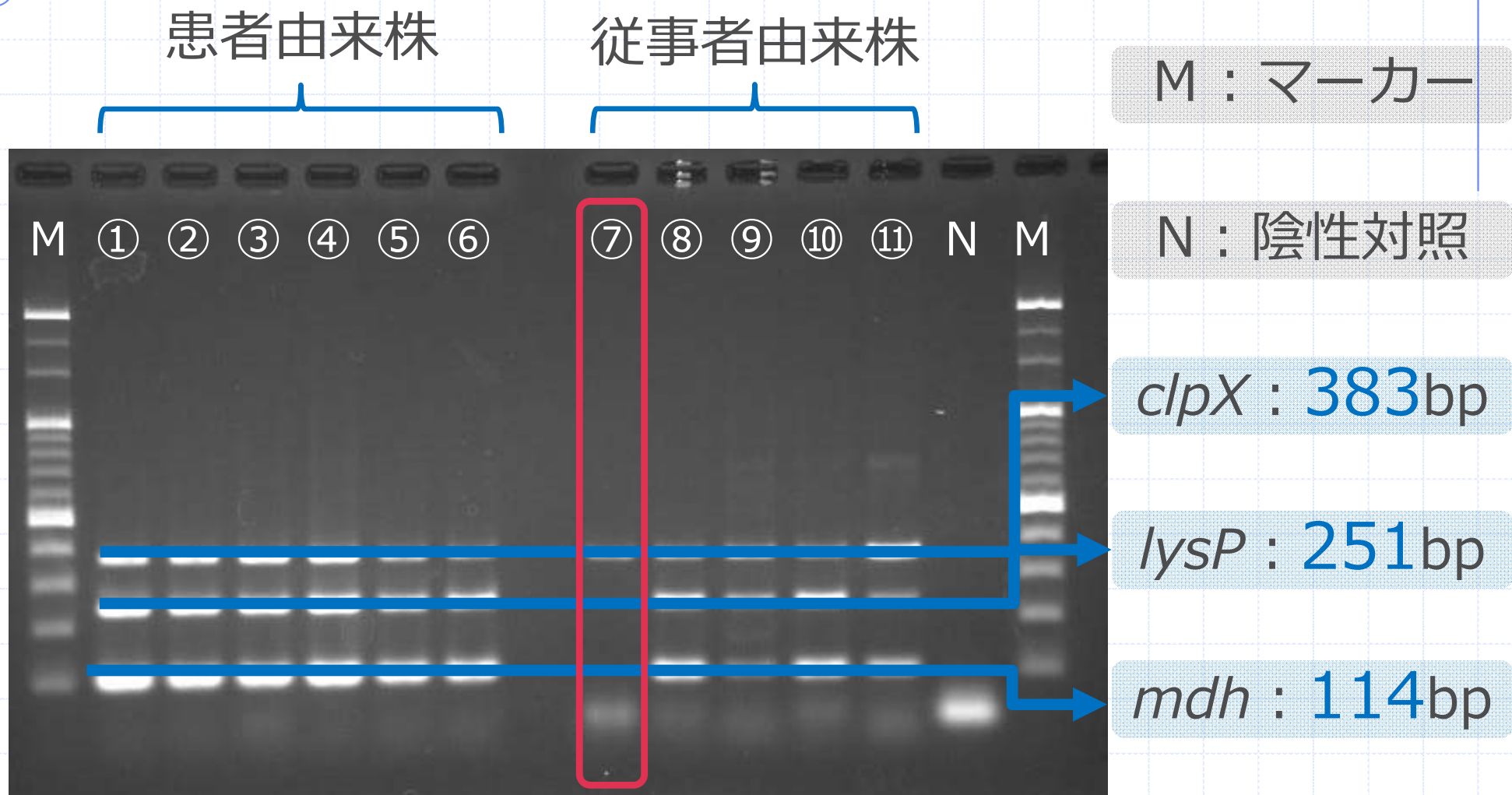
+
-
+
+
+
+
+
+
+ or -
+ or -

Multiplex PCR

Name	Sequence(5'-3')	Comment
<i>clpX</i> _28F	TGG CGT CGA GTT GGG CA	内因性 コントロール
<i>clpX</i> _411R	TCC TGC TFC GGA TGT TTA CG	
<i>lysP</i> _107F	GGG CGC TGC TTT CAT ATA TTC TT	<i>E.albertii</i> 特異的
<i>lysP</i> _358R	TCC AGA TCC AAC CGG GAG TAT CAG GA	
<i>mdh</i> _50F	CTG GAA GGC GCA GAT GTG GTA CTG ATT	<i>E.albertii</i> 特異的
<i>mdh</i> _164R	CTT GCT GAA CCA GAT TCT TCA CAA TAC CG	

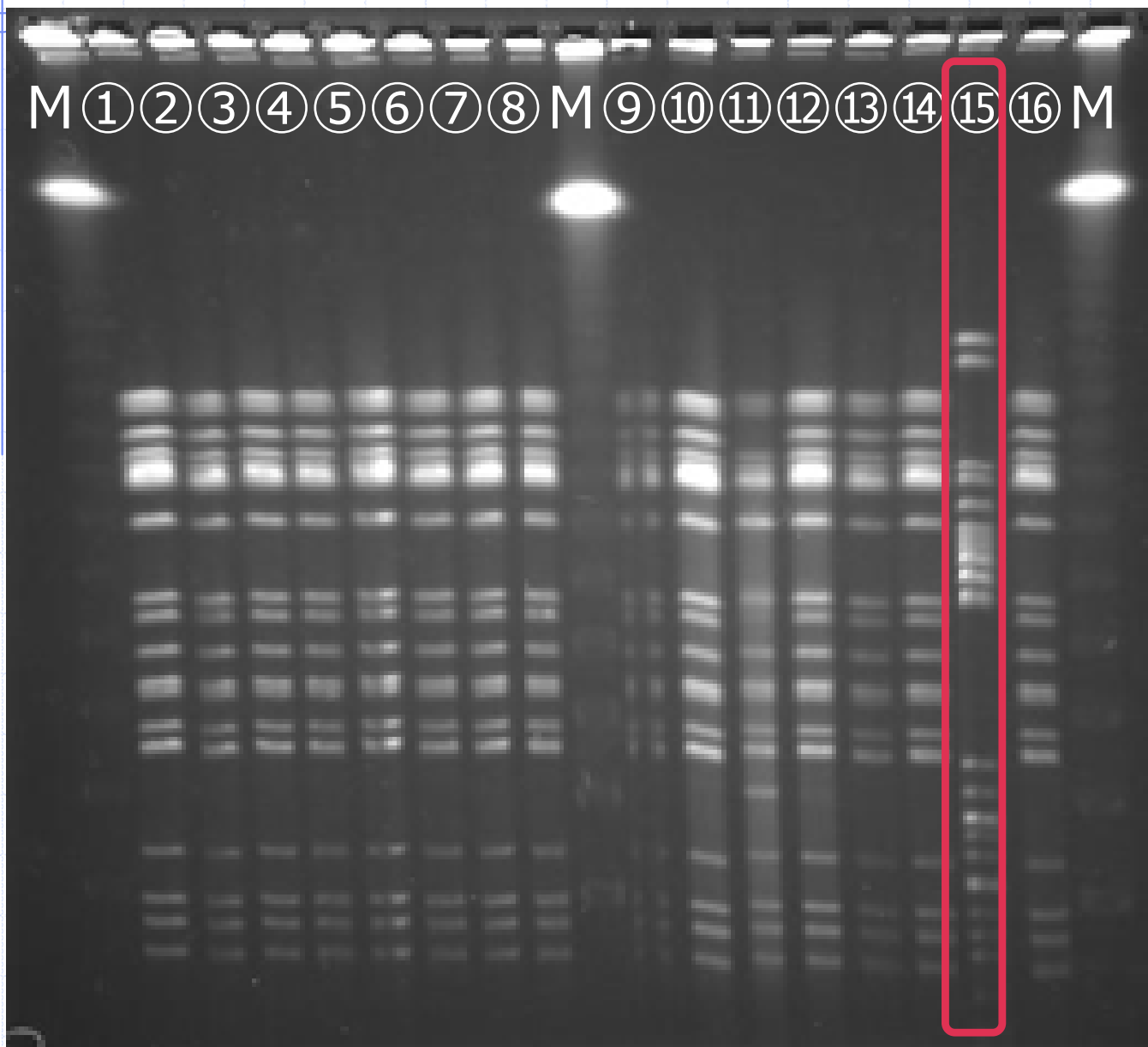
IASR Vol.37 No.5 (2016.5) より

Multiplex PCR



IASR Vol.37 No.5 (2016.5) より

PFGE



M : マーカー

①・②
患者由来株
(県外)

③～⑫
患者由来株
(県内)

⑬～⑯
従事者由来株
(県内)

E. Albertii

E.albertii に係る報告について

以下のいずれかの条件を満たす菌株については、PCR法による*E.albertii*の探索を実施する

- *eae*陽性・非運動性・乳糖非発酵・硫化水素非産生の菌株
- *stx2*陽性の菌株
- *Shigella boydii* 血清型13と同定された菌株
- *Hafnia alvei* と同定された菌株

健感発1109第2号(平成28年11月9日)より

シーケンス

Identities = 401/401 (100%)

KX765476.1 *Escherichia albertii* strain SP20150270
16S ribosomal RNA gene, partial sequence.

Z83203.1 *H.alvei* 16S ribosomal RNA;

KF917183.1 *Bacillus sp.* BAB-3453
16S ribosomal RNA gene, partial sequence.

AY696682.1 *Shigella boydii* strain 3552-77
16S ribosomal RNA gene, partial sequence.

検査に関する留意点

従来

*eae*陽性→腸管病原性大腸菌陽性
*stx*陽性→腸管出血性大腸菌陽性



E.a

高い割合で*eae*を有する

*stx2*サブタイプのうち*stx2f*・*stx2a*
を保有する場合がある

(病原性大腸菌と誤同定されることがある)

結語

- 食中毒検査マニュアルに従い、有力な病原体が検出されなかった場合は、**非定型性状の菌を考慮**して検査をすべきである。
- 複数の自治体が関与する広域発生の場合は、疫学情報や分離菌株の性状などに関する連絡を積極的に行い、関係者間で**情報を共有**することが重要である。



ご清聴ありがとうございました