＝事 例＝

腸管凝集性大腸菌 O15:H1 を原因とする食中毒事例

古賀舞香^{*1†}・野上有美^{*1}・中野朝美^{*1}・松永典久^{*1}・
大屋賢司^{*2}・工藤由起子^{*2}・日高千恵^{*1}

(^{*1} 福岡市保健環境研究所, ^{*2} 国立医薬品食品研究所)

(受付: 令和3年3月25日)

(受理: 令和3年7月23日)

An Outbreak of Food Poisoning Caused by Enteroaggregative *Escherichia coli* O15:H1

Maika KOGA^{*1}, Yumi NOGAMI^{*1}, Asami NAKANO^{*1}, Norihisa MATSUNAGA^{*1},
Kenji OHYA^{*2}, Yukiko HARA-KUDO^{*2} and Chie HIDAKA^{*1}

(^{*1}Fukuoka City Institute of Health and Environment, Jigyohama, Chuo-ku, Fukuoka 810-0065;

[†]Corresponding author)

(^{*2}National Institute of Health Sciences, Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki 210-9501)

緒 言

大腸菌は通常、病原性を有しないが、特定の感染症を引き起こす大腸菌を病原性大腸菌と呼ぶ。病原性大腸菌は下痢原性大腸菌及び腸管外病原性大腸菌に大別される。さらに、下痢原性大腸菌は病原機構に基づいて腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC), 腸管侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC), 腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC), 腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) 及び腸管凝集性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli*, EAaggEC) に大別される⁹⁾。

このうち、EAaggECは、1985年に発見報告された比較的新しい菌群である。定義は「既知の易熱性、耐熱性エンテロトキシン及びベロ毒素を産生せず、培養細胞への凝集付着性、又は、それに関連する遺伝子が確認された *E. coli*」とされる⁸⁾。細胞付着性により病原性を発揮し、付着形態は凝集性付着 (AA) と呼ばれる⁹⁾。また、自然界での分布は不明な点が多い。

EAaggEC感染症は、急性又は14日以上持続性に粘液を含む下痢及び腹痛を主徴とし、嘔吐は少なく、発症者の1割前後で38℃台の発熱がある¹⁷⁾。主として熱帯、亜熱帯開発途上国でみられる小児の慢性下痢症の原因菌であり、日本では散発事例がみられるが、食中毒及び集団感染の報告は少ない⁵⁾。1989年以降の感染症発生動向

調査等に報告された集団事例は21事例であり、そのうち、O126:H27が7事例で分離されており最も多かった。その他の血清型としては、O111, O125, O44, O55, O86a が検出されており、5事例はOUTであった。

今回、福岡市内で発生した食中毒について原因究明を行ったところ、病因物質は、日本では報告の少ない EAaggEC O15:H1 であることが判明したので報告する。

事例の概況

1. 探 知

令和2年9月17日 (木)、福岡市内の食事付マンション (以下、施設とする) から保健福祉センターに「入居者数名が、下痢、腹痛等の食中毒様症状を呈している」旨の連絡があった。

2. 施設の概要

入居者は必要に応じて食事を契約しており、朝食・夕食の提供の要否は入居者の選択制であった。

調理施設での調理器具、原材料及び調理済み食品の管理状況に問題はなく、清掃状況も良好であった。なお、未加熱のまま提供する野菜は、市販の装置を使った除菌水を用いて洗浄していた。また、検食を保管していたが、調理済み食品はなく、刻んだり、蒸したりした加工後の原材料を数gのみ冷凍保管していた。

3. 疫学調査

調査結果の概要を Table 1 に示す。患者の共通食は9月14日に提供された夕食のみであった。メニューのうち、最終加熱工程がないものは「大根とコーンの和風サ

^{*1} ☎ 810-0065 福岡市中央区地行浜2-1-34

^{*2} ☎ 210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-26

Table 1. 食中毒事例の概要

探知年月日	令和2年9月17日
発症年月日	令和2年9月15-16日
原因施設	食事付マンション
推定原因食品 (メニュー)	9月14日に提供された夕食メニューの何れか (牛肉と豆腐のすき焼き風煮、 ピーマンおかか炒め、 大根とコーンの和風サラダ、 ご飯、味噌汁、マンゴー)
摂食者数	37名 (うち調査協力者は31名)
患者数 (発症率)	19名 (51.0%)
潜伏期間	12-42時間 (平均約28時間)
症状 (発現率)	下痢 (89.5%), 腹痛 (84.2%), 頭痛 (36.8%), 吐き気 (26.3%)

ラダ」及び「マンゴー」であった。サラダの調理工程は細切りした大根と大葉及び蒸したコーンをドレッシングと和えるというものであり、マンゴーは冷凍果実を解凍するのみであった。患者19名のうち、18名は全てのメニューを喫食し、残り1名はマンゴー以外全てのメニューを喫食していた。また、患者の発症曲線は一峰性を示した。

材料及び方法

1. 検査材料

患者直腸ぬぐい液15検体、施設ふきとり3検体、検食9検体 (湯通した牛バラスライス、包丁で切った焼豆腐、おかか和えピーマン、包丁で刻んだ大葉、包丁で細切りした大根、蒸したコーン、味噌汁、ゴボウ及びネギ混合物、マンゴー) 及び調理従事者直腸ぬぐい液5検体の計32検体を試験に供した。

2. 食中毒原因菌の探索

常法²¹⁾に従い原因菌の探索を実施した。患者直腸ぬぐい液は黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、下痢原性大腸菌、カンピロバクター属菌、ウエルシュ菌、セレウス菌、ビブリオ属菌及びエルシニア・エンテロコリチカを、施設ふきとり及び従事者直腸ぬぐい液は黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌及び下痢原性大腸菌を、検食は下痢原性大腸菌を標的とした。

従事者及び患者の直腸ぬぐい液からの下痢原性大腸菌検査は、増菌培養と直接分離培養による検査を行った。施設ふきとり及び検食からは、増菌培養による検査を行った。

増菌培養による検査では、緩衝ペプトン水 (Merck Millipore) 及びノボジオシン不含mEC培地 (関東化学) に検体を加え、37℃または42℃で24時間培養後、DHL寒天培地 (日水製薬) 及びSS寒天培地 (日水製薬) に培養液を塗抹し、35℃で24時間培養した。直接分離培養による検査では、DHL及びSS寒天培地に検体を塗抹し、35℃で24時間培養した。

増菌培養液からアルカリ熱抽出法にて抽出したDNAについて、下痢原性大腸菌の病原性関連遺伝子を標的と

したスクリーニングPCRを実施した。

平板培地に生育したコロニーから熱抽出法にて抽出したDNAについて、毒素産生性、細胞侵入性及び細胞付着性等の下痢原性大腸菌の病原性関連遺伝子である、*elt*, *estA1*, *estA2*, *stx1*, *stx2*, *stx2f*, *invE*, *ipaH*, *astA*, *aggR*, *afaD*, *eaeA*, *bfpA*, EAFの計14種類の遺伝子を標的としたPCRを実施した。本研究で下痢原性大腸菌の標的遺伝子と本研究で使用したプライマーセットをTable 2に示す。*bfpA*のみPowerChek Diarrheal E. coli 8-plex Detection Kit (関東化学) を、その他についてはQIAGEN Multiplex PCR Plus Kit (QIAGEN) を製品添付の指示書に従い使用した。

3. 生化学的性状試験

病原性関連遺伝子陽性のコロニーはTSI, LIM, SC及びVP培地 (日水製薬) に接種し、生化学的性状試験を行った。また、コリラート (IDEXX Japan) 及び簡易同定キットAPI 20E (シスメックスバイオメリユール) を製品添付の指示書に従い使用し、同コロニーの菌種が大腸菌であることを確認した。*aggR* 遺伝子を保有し、生化学的性状から大腸菌と推定されるものをEAggECと同定した⁸⁾。

4. 血清型別試験

EAggEC分離株のO群別試験は、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研) を使用したスライド凝集法により製品添付の指示書に従い実施した。H型別試験は、病原大腸菌免疫血清「生研」及び*E. coli* H Antisera (SSI Diagnostica) を使用した試験管凝集法により製品添付の指示書に従い実施した。H型については、Hg-typing PCR²⁾ を補助的に実施した。

5. 病原性関連遺伝子保有状況の確認

EAggEC分離株について、EAggECの病原性等と関連していると推定されている、*sepA*, *ShET1*, *pet*, *CVD432*, *aggA*, *aafA*, *agg3A*, *agg4A*の計8種類の遺伝子を標的として、保有状況の確認を行った。EAggECの標的遺伝子と本研究で使用したプライマーセットをTable 3に示す。PCRには、QIAGEN Multiplex PCR Plus Kit (QIAGEN) を製品添付の指示書に従い使用した。

6. Clump形成試験

EAggEC分離株をミューラーヒントン寒天培地 (OXOID) にて一晚培養し、5 mLのミューラーヒントンプロス (OXOID) に接種し、37℃で20時間、115 rpmで振とう培養後に培養液表面部管壁のバイオフィーム形成を観察¹⁾ し、形成されたバイオフィームの厚さが2-4 mm程度であれば強陽性(++)、1-1.5 mm程度であれば陽性(+) に評価し、形成が認められない場合を陰性(-) として判定を行った¹⁴⁾。

7. 細胞付着性試験

CVD (Center for Vaccine Development) 法⁶⁾ に準じて細胞付着性試験を実施した。

Table 2. 下痢原性大腸菌の標的遺伝子と本研究で使したプライマーセット

下痢原性 大腸菌種別	標的 遺伝子	塩基配列 (5'→3')		文献
		フォワードプライマー	リバースプライマー	
ETEC	<i>elt</i>	CCCACCGGATCACCA	GTGCTCAGATTCTGGGTCTC	*1
	<i>estA1</i>	GCAATTTTTATTCTGTATTATCTTT	GGATTACAACAAAGTTCACAG	*1
	<i>estA2</i>	TTTTTCACCTTTCGCTCAG	TTAATAGCACCCGGTACAAG	*1
EHEC	<i>stx1</i>	GAATTTACCTTAGACTTCTCGAC	TGTCACATATAAATTATTTTCGTTC	*1
	<i>stx2</i>	GAGTTTACGATAGACTTTTCGAC	GGCCACATATAAATTATTTTGCTC	*1
	<i>stx2f</i>	CAAAAGAGCTATGTTGATTC	ATGGAAACAGTTATCACATC	*1
EIEC	<i>invE</i>	ATATCTCTATTTCCAATCGCGT	GGCGAGAAATTATATCCCG	*1
	<i>ipaH</i>	GTTCTTGACCGCCTTTCCGATACCGTC	GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	15)
EAggEC	<i>astA</i>	GCCATCAACACAGTATATCCG	CGCGAGTGACGGCTTTGTAG	*1
	<i>aggR</i>	GCGATACATTAAGACGCCTA	AAAGAAGCTTACAGCCGATA	*1
DAEC	<i>afaD</i>	GGGAGTATAAGGAAGATGATGC	GTCCACCTGACGCTCA	*1
EPEC	<i>eaeA</i>	CCGGCACAAGCATAAGC	TGGCAAAATGATCTGCTG	*1
	<i>bfpA</i>	PowerChek Diarrheal E.coli 8-plex Detection Kit (関東化学)		—
	EAF	TGGATCGCCAATGTTCTTGG	ATGGGGACCATGTATTATCA	22)

*1 平成20年度新興再興感染症技術研修「遺伝子検査法」実習テキスト, 国立保健医療科学院(2008).

Table 3. EAggECの標的遺伝子と本研究で使したプライマーセット

下痢原性 大腸菌種別	標的 遺伝子	塩基配列 (5'→3')		文献
		フォワードプライマー	リバースプライマー	
EAggEC	<i>sepA</i>	GCAGTGGAATATGATGCGGC	TTGTTCAGATCGGAGAAGAACG	3)
	ShET1	GTGAACCTGCTGCCGATATC	ATTTGTGGATAAAAATGACG	16)
	<i>pet</i>	GGCACAGAATAAAGGGGTGTTT	CCTCTTGTTTCCACGACATAC	3)
	CVD432	CTGGCGAAAGACTGTATCAT	AAATGTATAGAAATCCGCTGTT	19)
	<i>aggA</i>	TCTATCTRGGGGGCTAACGCT	ACCTGTTCCCCATAACCAGACC	3)
	<i>aafA</i>	CTACTTTATTATCAAGTGGAGCCGCTA	GGAGAGGCCAGAGTGAATCCTG	3)
	<i>agg3A</i>	CCAGTTATTACAGGTAACAAGGGAA	TTGGTCTGGAATAACAACCTGAACG	3)
	<i>agg4A</i>	TGAGTTGTGGGGCTAYCTGGA	CACCATAAGCCGCCAAATAAGC	3)

8. 薬剤感受性試験

微量液体希釈法にて薬剤感受性試験を実施した。ドライプレートDP31(栄研化学)を製品添付の指示書に従い使用し, 最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

また, mEC培地及びノボビオシン(SIGMA)を添加したmEC培地, マッコンキー培地(日水製薬)及びCT(OXOID)を添加したマッコンキー培地に分離株を接種し, ノボビオシン及びCTへの耐性があるかどうか試験した。

結 果

1. 食中毒原因菌の探索

患者直腸ぬぐい液をDHL及びSS寒天培地に直接塗抹・培養すると, 大腸菌定型コロニーである赤色コロ

ニーの他に, 非定型である白色コロニーが出現した。赤色コロニー及び白色コロニーをそれぞれ複数釣菌し, 下痢原性大腸菌の病原性関連因子を標的としたスクリーニングPCRを行ったところ, 15検体中12検体の白色コロニーが*aggR*陽性であった。赤色コロニーからは下痢原性大腸菌の病原性関連遺伝子は検出されなかった。*aggR*陽性の白色コロニーが分離されなかった患者3検体の増菌液のスクリーニングPCR及び平板培地に塗抹・培養後に出現した複数コロニーのPCRでは, 下痢原性大腸菌の病原性関連遺伝子は検出されなかった。また, 患者全員から他の食中毒菌は検出されなかった。

施設ふきとり, 検食及び調理従事者直腸ぬぐい液からは食中毒菌は検出されなかった。増菌培養液のスクリーニングPCRにおいても, 下痢原性大腸菌の病原性関連

遺伝子は検出されなかった。

2. 生化学的性状及び血清型別

生化学的性状及び血清型別試験結果を Table 4 に示す。全ての分離株が同一の性状であった。リジン脱炭酸酵素弱陽性及び乳糖非分解で、非定型性状を示したが、簡易同定キットでは99.8%の確率で *E. coli* であると判定され、かつ、コリラートでβ-グルクロニダーゼ活性が確認されたことから、大腸菌と同定した。

全ての分離株のO群はO15と判明した。H型については、デンカ生研製免疫血清22種に対して反応が認められなかった。Hg-typing PCRでは全ての分離株が Hg1/12であった。分離株のうち1株について、SSI Diagnostica 製 H12 免疫血清には反応せず、H1 免疫血清で反応が認められた。以上により、全ての分離株の血清型は O15:H1 であると判定した。

3. 病原性関連遺伝子保有状況

病原性関連遺伝子保有状況の確認結果を Table 5 に示す。全ての分離株は同一の保有状況であり、凝集性付着プラスミドマーカーとして知られる CVD432、凝集性線毛(AAF)遺伝子等の病原性関連遺伝子の総合的制御因子である *aggR*、炎症の誘発に関与する *sepA* 及び現在確認されている5種類の AAF 遺伝子²⁰⁾ のひとつである *agg4A* (AAF IV 遺伝子) が検出された。一方、他の下痢原性大腸菌の病原遺伝子や、EAggEC の毒素とされる、プラスミドにコードされた毒素(Pet)遺伝子 *pet*、熱安定性毒素(EAST1)遺伝子 *astA* 及び赤痢菌エンテロトキシン1 (ShET1) 遺伝子は検出されなかった。

4. Clump形成及び細胞付着性

Clump 形成試験では、全ての分離株において、形成されたバイオフィルムは約4mmであり、強陽性(++)と判定した。

また、細胞付着性試験では、全ての分離株において、EAggEC に特異的な付着形態である AA が確認された。

5. 薬剤感受性

薬剤感受性試験の結果を Table 6 に示す。全ての分離株は同一の感受性を示し、ノボビオシン耐性であったが、他の薬剤に対する耐性は確認されなかった。

考 察

本事例は、施設ふきとり、検食及び調理従事者直腸ぬぐい液から原因菌は分離されなかったが、患者19名の発症状況が一峰性を示し、共通食は施設で9月14日に提供された夕食だけであること、患者12名の直腸ぬぐい液から EAggEC O15:H1 が分離されたこと及び患者の症状・潜伏期間が EAggEC によるものと一致した¹⁸⁾ ことから、施設で提供された食事を原因とする EAggEC O15:H1 による食中毒と断定された。

本事例の原因として、原材料の一次汚染、従事者・調理器具等を介した食材の二次汚染及び保菌していた従事者由来の二次汚染が考えられた。しかし、施設ふきと

Table 4. 分離した EAggEC 株の生化学的性状及び血清型別

DHL・SS コロニー	TSI		LIM		VP	コリラート		血清型別		AMY	MEL	RHA	SOR	INO	MAN	GEL	TDA	URE	ODC	LDC	ADH
	斜面/高層	H ₂ S	インドール	運動性		β-ガラクトシダーゼ	β-グルクロニダーゼ	O	H												
白色	赤/黄	+	+	弱+	-	+	+	15	1												
アルギニン ジヒドロラレーゼ	ラレーゼ									アミグダリン 発酵/酸化	メリビオース 発酵/酸化	ラムノース 発酵/酸化	ソルビトール 発酵/酸化	イノシトール 発酵/酸化	マンニトール 発酵/酸化	ゼラチナラーゼ	トリプトファン デアミナーゼ	ウレアーゼ	オルニチン デカルボキシ ラーゼ	リジン デカルボキシ ラーゼ	アルギニン ジヒドロラレーゼ
-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
OX チトクロム オキシダーゼ										アミグダリン 発酵/酸化	メリビオース 発酵/酸化	ラムノース 発酵/酸化	ソルビトール 発酵/酸化	イノシトール 発酵/酸化	マンニトール 発酵/酸化	ゼラチナラーゼ	トリプトファン デアミナーゼ	ウレアーゼ	オルニチン デカルボキシ ラーゼ	リジン デカルボキシ ラーゼ	アルギニン ジヒドロラレーゼ

Table 5. 分離したEAggEC株の病原性関連遺伝子保有状況

下痢原性 大腸菌種別	標的遺伝子	保有状況
ETEC	<i>elt</i>	－
	<i>estA1</i>	－
	<i>estA2</i>	－
EHEC	<i>stx1/2</i>	－
	<i>stx2f</i>	－
EIEC	<i>invE</i>	－
	<i>ipaH</i>	－
DAEC	<i>afaD</i>	－
EPEC	<i>eaeA</i>	－
	<i>bfpA</i>	－
	EAF	－
EAggEC	<i>astA</i>	－
	<i>aggR</i>	＋
	<i>sepA</i>	＋
	ShET1	－
	<i>pet</i>	－
	CVD432	＋
	<i>aggA</i>	－
	<i>aafA</i>	－
	<i>agg3A</i>	－
	<i>agg4A</i>	＋

り、検査及び調理従事者直腸ぬぐい液から原因菌は分離されなかったため、汚染経路及びメニューの特定には至らなかった。ただし、調査時点で従事者に保菌者はいなかったことから従事者由来の二次汚染である可能性は低い。一方、当該施設で検査として保管されていたのは加工後の原材料であり、さらに、僅かな量しか保管されていないことから、検査の結果は陰性であったが、原材料の一次汚染及び食材間の二次汚染を否定する根拠にはならない。これらのことから原因食品のメニューである可能性が高いものとして考えられるのは、患者全員が喫食しており、かつ、最終加熱工程がない「大根とコーンの和風サラダ」である。“Microbiological hazards in fresh fruits and vegetables”において、葉物野菜、種々のサラダの葉物野菜及び生鮮ハーブは生物学的ハザードが懸念される野菜果実の優先順位1位とされている⁴⁾。また、平成30年度食品の厚生労働省食中毒菌汚染実態調査の結果でも、アルファルファやみつば等の様々な野菜から0.7-55.6%の割合で糞便性大腸菌が検出されている¹²⁾。よって、サラダの原材料である大葉または大根がEAggECに一次汚染されており、洗浄工程で完全に除去されなければ、サラダに混入する可能性が考えられる。また、他のメニューの原材料が一次汚染されており、従事者等を介してサラダを二次汚染したという可能性は、器具使い分け等調理状況から考えて低いとは言え、否定はできない。しかし、EAggECの自然界での分布は、EHECと比較して研究が進んでおらず、汚染実態は不明である。EAggECによる食中毒及び感染症発生防止のためには、自然界におけるEAggECの浸

Table 6. 分離したEAggEC株の薬剤感受性試験

[illegible]

淫状況等基礎的な疫学調査も重要な課題である。

本事例で分離されたEAggECはリジン脱炭酸酵素弱陽性及び乳糖非分解の非定型性状を示す大腸菌であった。EAggECの生化学的性状は一般の大腸菌と同一であり、主要な性状であるリジン脱炭酸酵素活性及び乳糖分解能は大腸菌においてそれぞれ90%及び91%で陽性を示す¹⁷⁾。DHL及びSS寒天培地に白色コロニーが出現したため、乳糖及び白糖非分解を特徴とする*E.albertii*が疑われたが、生化学的性状試験とPCRによる病原性関連遺伝子保有状況の確認を並行して行うことで、迅速にEAggECであると判断することができた。非定型の性状を示す下痢原性大腸菌の存在を視野に入れて検査を進めていくこと、同定に際しては従来の生化学的性状試験と並行してキット等も補助的に利用し、さらに病原性関連遺伝子保有状況の情報も含めて、総合的に判断することが重要であることが示された。

本事例で分離されたEAggECの血清型はO15:H1であった。この血清型は、1989年以降の感染症発生動向調査等に報告された集団事例で分離された血清型とは異なっていた。また、国内外の調査において、国によって検出される血清型の傾向は異なっており、血清型別不能株も多いことが報告されている^{10), 13)}。大腸菌における血清型別は分離株の病原性及び重症化リスク等の推測につながる情報となるだけでなく、食中毒及び感染症の汚染範囲や汚染経路の特定においても重要な情報のひとつとなるため⁷⁾、国内におけるEAggECの血清型別分布調査情報の蓄積を行うと共に、広域な血清型に対応できるようにPCR検査等を整備しておく必要がある。

病原性関連遺伝子保有状況の確認において、EAggECの40%が保有するとされるEAST1毒素¹⁷⁾をコードする*astA*遺伝子を本事例の分離株は保有していなかった。一方、炎症の誘発に関与する*sepA*遺伝子は保有していた。また、AAF線毛はIV型を保有していた。保有遺伝子と病原性の関連は不明な点が多いことから、その関係性の解明についても今後の重要な課題である。

Clump形成と細胞付着性は強い相関があるため、本事例では、簡便に実施可能なClump形成試験にて表現型における病原性の推定を迅速に行い、その後、細胞付着性試験にて病原因子の確認を行った。判定まで時間がかかる細胞付着性試験だけでなく、Clump形成試験を先行して実施することは、正確性と迅速性が同時に求められる食中毒検査において有効である。

本事例で分離されたEAggECの薬剤感受性については、多くの大腸菌が耐性であるノボビオシン以外の薬剤について、耐性化は認められなかった。一方、2011年にドイツ等で患者が3,842名発生した大規模食中毒は、EAggECがベロ毒素産生性を獲得したEAgg-EHEC O104:H4が病因物質であり、原因菌は基質特異性拡張型βラクタマーゼ遺伝子を保有していた。薬剤耐性感染症の集団発生は、これまで病院内が中心であったが、食

品媒介性の薬剤耐性微生物による集団食中毒への対応能力強化も重要な課題であり¹¹⁾、大腸菌の病原性関連遺伝子、血清型及び薬剤耐性について今後も注視していく必要がある。

本研究は福岡市保健環境研究所倫理委員会で承認された研究である。

文 献

- 1) Albert, M. J., Qadri, F., Haque, A., Bhuiyan, N. A.: Bacterial clump formation at the surface of liquid culture as a rapid test for identification of enteroaggregative *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol., **31**, 1397-1399 (1993).
- 2) Banjo, M., Iguchi, A., Seto, K., Kikuchi, T., Harada, T., Scheutz, F., Iyoda, S.: *Escherichia coli* H-genotyping PCR: a complete and practical platform for molecular H typing. J. Clin. Microbiol., **56**, e00190-18 (2018).
- 3) Boisen, N., Scheutz, F., Rasko, A. D., Redman, C. J., Persson, S., et al.: Genomic characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali. J. Infect. Dis., **205**, 431-444 (2012).
- 4) FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization]: Microbiological hazards in fresh fruits and vegetables. 平成20年12月11日(2008).
- 5) 後藤哲志: 市中感染下痢症と旅行者下痢症の動向. 日本大腸肛門病会誌, **71**, 435-446 (2018).
- 6) Haider, K., Faruque, M. S., Albert, M. J., Nahar, S., Neoga, K. B. P., Hossain, A.: Comparison of a modified adherence assay with existing assay methods for identification of enteroaggregative *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol., **30**, 1614-1616 (1992).
- 7) 井口 純: 大腸菌のO血清群とO抗原とO抗原合成遺伝子. 日食微誌, **34**, 189-201 (2017).
- 8) 伊藤健一郎, 伊藤田淳, 八柳 潤, 甲斐明美, 磯部順子, 勢戸和子, 中嶋 洋, 村上光一: 下痢原性大腸菌の分類の見直しについて, 病原微生物検出情報IASR, **33**, 5-7 (2012).
- 9) 伊藤健一郎: 細菌感染症. *Escherichia coli*. EAggEC (EAEC) 腸管凝集接着性大腸菌. 食品由来感染症と微生物. 仲西寿男, 丸山務監修, p. 297-305, 中央法規出版, 東京(2009).
- 10) Ito, K., Matsushita, S., Yamazaki, M., Moriya, K., Kura-zono, T., et al.: Association between aggregative adherence fimbriae types including putative new variants and virulence-related genes and clump formation among aggR-positive *Escherichia coli* strains isolated in Thailand and Japan. Microbiol. Immunol., **58**, 467-473 (2014).
- 11) 国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議: 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン (2016-2020). 平成28年4月5日(2016).
- 12) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長: 平成30年度食品の食中毒菌汚染実態調査の結果について. 平成31年4月19日, 薬生食監発0419第1号(2019).
- 13) Kubomura, A., Misaki, T., Homma, S., Matsuo, C., Okabe, N.: Phenotypic and Molecular Characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* Isolated in Kawasa-

- ki, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., **70**, 507–512 (2017).
- 14) 窪村亜希子, 小嶋由香, 岡部信彦: 川崎市における腸管病原性大腸菌及び腸管凝集性大腸菌の分離状況と細胞付着性試験等による病原性の検討. 感染症誌, **89**, 37–45 (2015).
 - 15) Mercado, H. E., Ochoa, J. T., Ecker, L., Cabello, M., Durand, D., et al.: Fecal leukocytes in children infected with diarrheagenic *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol., **49**, 1376–1381 (2011).
 - 16) Mirzarazi, M., Rezaatofghi, E. S., Pourmahdi, M., Mohajeri, R. M.: Occurrence of genes encoding enterotoxins in uropathogenic *Escherichia coli* isolates. Braz. J. Microbiol., **46**, 155–159 (2015).
 - 17) 坂崎利一, 杉山和之: 細菌感染症. *Escherichia coli*. 腸管凝集接着性大腸菌(EAEC). 新訂食水系感染症と細菌性食中毒. 坂崎利一編, p. 254–265, 中央法規出版, 東京 (2000).
 - 18) 勢戸和子: 下痢原性大腸菌. モダンメディア, **57**, 25–28 (2011).
 - 19) Tobias, J., Vutukuru, R. S.: Simple and rapid multiplex PCR for identification of the main human diarrheagenic *Escherichia coli*. Microbiol. Res., **167**, 564–570 (2012).
 - 20) Toval, F., Köhler, D. C., Vogel, U., Wagenlehner, F., Mellmann, A., Fruth, A., Schmidt, M. A., Karch, H., Bielaszewska, M., Dobrindt, U.: Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection. J. Clin. Microbiol., **52**, 407–418 (2014).
 - 21) 鵜飼良平: 食品衛生検査指針, 微生物編2018. 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京 (2018).
 - 22) 八柳 潤, 木内 雄, 齊藤志保子, 佐藤宏康, 森田盛大: 腸管集合性大腸菌耐熱性エンテロトキシン-1 (EAST-1) 遺伝子を保有する, 食中毒様事例由来病原血清型大腸菌. 感染症誌, **70**, 73–79 (1996).