牛糞便中の下痢原性大腸菌(病原因子)保有調査 西尾俊介¹⁾ 野村竜也¹⁾ 渡邉仁¹⁾ 岩下陽子²⁾ 有塚真弓²⁾ 福田千恵美²⁾ 内 田順子²⁾

¹香川県食肉衛生検査所 ²香川県環境保健研究センター

1. はじめに:大腸菌は人の腸管正常菌叢の一つで、一部に下痢を引き起こすものがあり、下痢原性大腸菌と総称される。下痢原性大腸菌は腸管出血性大腸菌(EHEC)など5つに分類されており、それぞれが特殊な病原因子を保有している。そのため、下痢原性大腸菌を正常菌叢の大腸菌と鑑別するには病原因子を検査する必要がある。一方、牛の腸管正常菌叢には人に対して下痢を引き起こす下痢原性大腸菌が一定の割合で存在することが知られている。そこで今回、牛糞便中の大腸菌についてマルチプレックス PCR を用いて病原因子の有無と 0 群血清型について検査を実施し、若干の知見を得たので報告する。

2. 材料及び方法: 平成 25 年 6~7 月に県内と畜場でと殺された健康牛 60 頭(県内産 25 頭、県外産 35 頭) から直腸便を採取し検体とした。検体をドリガルスキー改良寒天培地に塗沫培養し、大腸菌と思われるコロニー(最大 8 コロニー)を 5%キレックス液に混和、 100° C 10 分加温遠心後、上澄液をテンプレートとした。 PCR はマルチプレックス PCR アッセイキット(タカラ)を使用し、プライマーに ExEC(LT、ST1a、ST1b、VT1、VT2、VT2f、invE)及び EpALL (eae、astA、aggR、afaD)を用いた。陽性検体については病原大腸菌免疫血清「デンカ生研」を用いて 0 群血清型を決定した後、大腸菌の確認試験を実施した。

3. 結果及び考察: 60 頭中 42 頭の牛から VT1、VT2、ST1a、eae、astA が単体あるいは複数検出された。VT2 は 7 頭から検出され、うち 1 頭は VT1 も検出された。ST1a は 6 頭から検出され、うち 3 頭は VT2 も重複して検出された。eae は 13 頭から検出された。astA は 36 頭から検出された。また、病原因子陽性株 64 株中 17 株が 0157 などの 0 群血清型に分類され、47 株が UT であった。このように、今回の調査では下痢原性大腸菌が牛の糞便中に高率に存在することが示され、糞便による枝肉汚染の危険性が改めて確認された。今後、と畜場関係者への情報提供・教育指導を含めた衛生対策の徹底が望まれる。また、近年 EPEC および EAggEC の判定基準の見直しがなされ、従来の 0 群血清型による分類から遺伝子による分類へと変更された。今回、病原因子陽性であっても 0 群血清型が UT となる株が多数みられたことから、PCR を用いた新たな判定基準の有用性が確認された。