

# 15. 岐阜県内の環境水におけるエシェリキア・アルバーティーの検出状況および性状解析

○水野 卓也 （岐阜県保健環境研究所）

## 【研究目的および必要性】

日本国内において、エシェリキア・アルバーティー (*Escherichia albertii*) による食中毒等集団感染事例が複数の自治体から報告されており、有症者が100人を超える事例も確認されている<sup>1)</sup>。近年、患者検体から検出された*E. albertii* に関する情報収集や感染症情報の集積およびリスク評価が進められているものの、食中毒等集団感染の原因菌として複数報告があるものの、*E. albertii* に関する知見は十分でない状況である。特に、保菌動物からヒトへの感染経路については十分に解明されていない。

地方自治体が行う食中毒等集団感染事例対応では、「原因解明」および「拡大予防・再発防止」が求められるため、ヒトへの感染経路の解明は重要である。過去の食中毒事例において、湧水や井戸水が原因と推定される事例や、環境水からの*E. albertii* 検出報告があることに着目し、本研究では、岐阜県内の環境水の*E. albertii* 検出状況を調査し、検出菌の性状を明らかにすることで、今後発生しうる食中毒等集団感染事例対応に活用することを目的とした。

## 【研究計画】

### 1. 調査研究対象

2024年9月から2025年8月にかけて、岐阜県内の公共用水域における水質測定地点20地点から河川水を採取し、検体とした。20地点は長良川水系10地点（A～J）、木曽川水系10地点（K～T）とした。6地点（A、C、F、J、L、N）は四半期ごと（2月、5月、8月、11月）、その他14地点は毎月1回検査を実施し、計192検体の検査を行った。検水は採水後、冷蔵保管を行い、当日中に検査を行った。ただし、9月および10月分については、研究体制が整った11月まで冷蔵保管後に、検査を行った。

### 2. *Escherichia albertii* 検出

#### （1）検体処理

検体100 mLをメンブレンフィルター（ポリカーボネートタイプ、孔径0.4μm、ADVANTEC）によりろ過捕集を行った。ろ過後のメンブレンフィルターをPBSで洗い出した後、3,000×gで10分間遠心し、100倍濃縮液を作製した。

## (2) 遺伝子スクリーニング

100倍濃縮液全量をノボバイオシン・セフィキシム・亜テルル酸カリウム添加変法TSB培地（以下、NCT-mTSB培地）<sup>2)</sup>10 mLに添加し、42°C、22±2時間培養した。培養液100 µLからアルカリ熱抽出法によりDNAを抽出し、リアルタイムPCRにより*E. albertii* 特異遺伝子検出<sup>3)</sup>を行った。Ct値が45未満の検体を遺伝子スクリーニング陽性と判定し、分離培養を行った。

## (3) 分離培養

増菌液を1%キシロース・ラムノース添加MacConkey基礎平板培地（以下、XR-MAC培地）に塗抹し、37°C、1晩培養した。XR-MAC培地上の凝集落（無色コロニー）について、トリプティックソイ寒天培地に最大10コロニーを塗抹し、37°C、1晩培養した。発育したコロニーに対し、オキシダーゼ試験を実施し、オキシダーゼ陰性株を対象として、*clpX*、*mdh*、*lysP* を標的とした*E. albertii* 同定用PCR<sup>4,5)</sup>を行い、すべての遺伝子が検出された場合、*E. albertii* 検出と判定した。

## 3. *Escherichia albertii* の性状評価

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 法<sup>6)</sup>により同一検体から分離された菌株間の比較解析を行った。同一増幅パターンを示す株は同一由来と判定し、代表株1株について生化学性状、主要病原因子検索、およびO遺伝子型別を実施した。生化学性状は、API20Eキット（バイオメリュー・ジャパン）を用いて、取扱説明書に従って実施した。また、β-グルクロニダーゼ活性および37°C下での運動性も確認した。主要病原因子の検索は、下痢原性大腸菌の病原因子（*stx1*, *stx2*, *eae*, *astA*）について既報<sup>7,8)</sup>に従いPCR法により確認した。O遺伝子型は既報<sup>9)</sup>に従い、PCR法により決定した。

## 【実施内容・結果】

### 1. 採水地点の状況

採水時、各地点に特段異常は認められず、河川は平常時の状況であった。

### 2. *Escherichia albertii* 検出状況

検出状況の結果を表1に示す。遺伝子スクリーニングでは13地点22検体（陽性率11.5%）が陽性となった。陽性検体のCq値は19.73～36.93であった。分離培養の結果、凝集落が認められた11地点15検体で*E. albertii* 特異遺伝子が検出され、検出率は7.8%（15/192検体）であった。11地点のうち、地点IおよびRで3回、他9地点では1回のみの検出であった。また、月別では7月4検体、8月3検体、6月・11月・12月が各2検体、1月・5月が各1検体であった。

### 3. 河川水由来*Escherichia albertii* の性状

RAPD法により同一検体から検出された株はすべて同一増幅パターンを示したため、

同一検体分離株はすべて同一由来と判断し、計15株の性状確認を行った。

### (1) 生化学性状

生化学性状の結果を表2に示す。リジン脱炭酸試験、インドール試験の結果によって分類した生物型は、リジン脱炭酸陽性・インドール陽性の生物型3が14株、リジン脱炭酸陽性・インドール陰性の生物型1が1株であった。菌株ごとに性状が異なった項目はONPG、インドール、ウレアーゼ、ソルビトール、スクロースであり、それぞれ陽性率は73%(11/15株)、93%(14/15株)、7%(1/15株)、67%(10/15株)、および7%(1/15株)であった。

### (2) 主要病原因子

*eae*は15株すべて検出されたが、*stx1*、*stx2*、*astA* は検出されなかった。

### (3) O遺伝子型

15株のO遺伝子型は、EAOg12が3株、EAOg18が3株、EAOg8が2株、EAOg5が1株、EAOg7が1株、EAOg36が1株、EAOgUT(型別不能)が4株であった。

## 【考察と今後の課題】

岐阜県内の河川水 20 地点 192 検体から 11 地点 15 株の *E. albertii* を分離し、県内河川水における検出状況を明らかにした。国内の他研究でも河川水からの *E. albertii* 検出が報告されており、検出率は1%～17%<sup>3, 10, 11)</sup>と幅がある。本研究の検出率は中間値であった。検出率の違いは、検体量や培養法など検査条件の違いが一因と考えられる。NCT-mTSB 培地では *E. albertii* の一部が発育できない可能性が指摘されており<sup>12)</sup>、検出率が本研究結果より高くなる可能性も否定できない。一方、遺伝子スクリーニング陽性検体のうち、68% (15 検体/22 検体) から *E. albertii* を分離できしており、分離率は他の研究(17%～56%)<sup>3, 10, 11)</sup>に比べ高率であったことから、NCT-mTSB 培地の有用性が示唆された。ただし、夏季採取検体では XR-MAC 培地上にオキシダーゼ陽性のブドウ糖非発酵菌が多く発育し、疑集落との鑑別が容易ではなかったため、今後は選択分離培地上での鑑別もしくは抑制方法の確立が必要であると考ええる。

*E. albertii* が検出された 11 地点のうち、2 地点のみ複数回検出され、他は 1 回のみの検出であった。すべての類型で *E. albertii* が検出され、類型ごとの分離率に顕著な差は認められなかった。また、水系による検出率の差もなかった。このことは、河川水の *E. albertii* の検出状況が水質や水域によらず、別の要因が関与している可能性が示唆された。保菌動物として野鳥<sup>13)</sup> やタヌキ、キツネなどの哺乳類<sup>14)</sup> が報告されており、複数回検出された、地点 I および地点 R は田んぼなどの野鳥の餌場が近く、野鳥が集まりやすい環境であることが一因であると考えられる。今後、これら 2 地点について、周辺調査を拡大し、継続的な調査を行うことで、汚染経路の一端を明らかにしていきたい。

分離された 15 株の性状については、14 株が生物型 3 であり、病原遺伝子として *eae* を保有し、ヒト由来株との相違は認められなかった。一部のヒト由来株で保有が報告されている *stx2f* は検出されず、岐阜県の河川水由来 *E. albertii* では *stx2f* の保有は稀であると考えられる。一方で、日本での分離が少ない生物型 1 およびウレアーゼ陽性株が各 1 株検出された。O 遺伝子型別では 6 遺

伝型が検出され、ヒト由来株で多い、EAOg8、EAOg18 が含まれていた。他調査でも、河川水から 10 遺伝子型が検出されたことが報告されており<sup>15)</sup>、河川水由来の *E. albertii* は多様な株が存在し、一部はヒト由来株と同様の性状を有することから、両者の関連性は高い可能性が示唆された。

今後の課題として、分離株のゲノム情報を取得し、ヒト・保菌動物由来株地域の異なる河川由来株と比較することで、地域性、ヒトへの感染経路等についてさらに検討していく必要がある。

表 1. 河川水の *E. albertii* 検出状況

地点名	類型 <sup>1)</sup>	調査回数	遺伝子スクリーニング結果				分離培養結果			
			検出回数	年月日	Cq値	分離	生物型	EAOg型	株No.	
長良川水系	A	AA	4	1	2025/8/27	21.71	+	3	UT*	1
	B	AA	12	1	2025/8/27	24.49	+	3	8	2
	C	A	4	0						
	D	A	12	0						
	E	AA	12	1	2025/7/2	19.73	+	3	18	3
	F	指定なし	4	0						
	G	AA	12	1	2025/7/2	33.92	—			
	H	A	12	2	2025/7/2	34.61	—			
	I	A	12	3	2025/8/27	24.08	+	3	18	4
					2024/11/6	32.16	+	3	8	5
					2025/5/7	25.38	+	3	UT	6
					2025/6/4	33.66	+	3	UT	7
	J	指定なし	4	1	2025/5/7	36.21	—			
木曽川水系	K	A	12	1	2025/7/9	31.81	+	3	UT	8
	L	A	4	0						
	M	A	12	0						
	N	B	4	0						
	O	B	12	1	2024/11/13	23.39	+	1	7	9
	P	C	12	1	2025/7/9	27.29	+	3	12	10
	Q	B	12	3	2024/11/13	36.93	—			
					2024/12/11	23.58	+	3	5	11
					2025/7/9	27.47	—			
	R	B	12	5	2024/12/11	23.08	+	3	12	12
					2025/1/22	24.43	+	3	12	13
					2025/6/18	28.22	+	3	18	14
					2025/7/9	31.03	—			
					2025/8/20	29.81	—			
	S	AA	12	0						
	T	AA	12	1	2025/7/9	24.71	+	3	36	15
計		192	22			15				

\*UT: Untypable

1) 生活環境の保全に関する環境基準

表 2 生化学性状結果

	陽性率(陽性株数/検査数)				
	ONPG	インドール	ウレアーゼ	ソルビトール	スクロース
本研究(n=15)	73% (11/15)	93% (14/15)	7% (1/15)	67% (10/15)	7% (1/15)
非定型株No.	No.3, 12, 13, 15	No.9	No.4	No.5, 9, 11, 12, 13	No.9
既報 <sup>1)</sup> (n=43) ヒト便由来株	72%	100%	0%	54%	5%

1) 参考文献16) から一部抜粋

**【参考文献】**

- 1) 大岡唯祐. 食品衛生研究, 70, 19–35, 2020.
- 2) Wakabayashi, Y., et al. J. Appl. Microbiol., 132, 2121–2130, 2022.
- 3) 高橋志保ら. 日食微誌, 37, 81–86, 2020.
- 4) Hyma, K.E. et al. J. Bacteriol., 187, 619–628, 2005.
- 5) Oaks, J.L., et al. Emerg. Infect. Dis., 6, 638–646, 2010.
- 6) Ooka, T., et al. Open Forum Infectious Diseases, 10, ofac695, 2022.
- 7) Mizuno, T., et al. Foodborne Pathog. Dis., 19, 126–135, 2022.
- 8) 小林一寛ら. 感染症誌, 6, 911–920, 2002.
- 9) Ooka, T., et al. Microb. Genom., 5, e000314, 2019.
- 10) 市川めぐみら. 東京健安研セ年報, 75, 95–100, 2024.
- 11) 溝越朗人ら. 大分県衛生環境研究センター年報, 47, 33–37, 2019.
- 12) 日根野谷淳ら. 日食微誌, 42, 34–43, 2025.
- 13) Murakami, K., et al. Front. Microbiol., 10, Article 1543, 2019.
- 14) Naka, A., et al. Jpn. J. Vet. Res., 72, 13–27, 2024.
- 15) Konno, T., et al. Jpn. J. Infect. Dis., 74, 381–384, 2021.
- 16) Fujioka, M., et al. Jpn. J. Infect. Dis., 74, 604–606, 2021.

**【経費使途明細】**

使 途	金 額
検体濃縮用消耗品	70,576 円
選択増菌培地用試薬・消耗品	24,343 円
選択分離培地用試薬・消耗品	42,482 円
リアルタイム PCR 用試薬・消耗品	103,631 円
コンベンショナル PCR 用試薬・消耗品	57,310 円
事務用品	1,658 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円