［原著］

2012～2015 年度に搬入された腸管出血性大腸菌のベロトキシンサブタイプと病原遺伝子及び細胞付着因子の保有状況について

齋藤 悦子*　秋山 由美　荻田 堅一　坂野 桂　二井 洋子　辻 英高

Comparison of Shiga Toxin Subtypes, Virulence Genes, Adhesin Genes Possessed in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated from Humans

Etsuko SAITO*, Yumi AKIYAMA, Kenichi OGITA, Katsura SAKANO,
Hiroko FUTAI and Hidetaka TSUJI

Infectious Disease Research Division, Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan,

We investigated the subtypes of *stx1* and *stx2*, virulence genes and adhesin genes in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) isolated from humans during 2012-2015 in Hyogo prefecture. The subtype *stx1a*, *stx2a*, and *stx2c* were primarily found and *stx2a* and *eae* were detected together from 2 strains of O157:H7 isolated from patients with HUS. Three strains of O26:H11 and 1 O176:H- harbored *astA* and1 O168:HUT harbored *estA1* in addition to *astA*. The incidence of hematochezia in humans infected with EHEC harboring *stx2a* was higher than *stx2c*. The distribution of putative adhesin genes among EHEC with same serotype showed the same pattern except 1 O26:H11 and *espP* was predominant (69/70), followed by *iha* (68/70), *toxB* (67/70) and $lpfA_{O113}$ (21/70) in *eae*-positive EHEC. All *eae*-negative strains harbored iha(4/4) and 3 strains harbored $lpfA_{O113}$.

Ⅰ　はじめに

腸管出血性大腸菌（Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC）感染症は,「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」で三類感染症に分類され, ベロ毒素（Shiga-toxin : Stx）により腹痛, 下痢, 血便などの消化器症状や溶血性尿毒素症候群（HUS）など様々な症状が引き起こされる.日本では年間3000～4000人程度の EHEC 感染者（患者及び無症状保菌者）が発生しており, 本県でも年間 100 人から 200 人程度の患者の届け出がある．また 2011 年の焼き肉を原因とする事例 [1], 2012 年の白菜浅漬けを原因とする事例 [2], 2015 年の冷やしきゅうりを原因とする事例 [3] など，しばしば大規模な集団食中毒事例も発生している. 2011 年にドイツで起こった EHEC によるアウトブレイクの原因となった O104 : H4 は, EHEC が通常保有する付着因子インチミン(*eae*)を持たず，腸管凝集付着性大腸菌（EAEC）が保有する付着因子 *aggR* 遺伝子を保有するハイブリッド型であったことが明らかとなった [4]．このような従来保有

感染症部
＊別刷請求先 : 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町 2-1-29
兵庫県立健康生活科学研究所　健康科学研究センター
感染症部　齋藤　悦子

している因子以外の病原因子が組み合わされた新たなEHEC の出現に対して，監視体制の強化が必要である．本稿では 2012～2015 年度に検出された EHEC の血清型，Stx サブタイプ，病原因子及び付着関連因子の検出結果について報告する．

Ⅱ　材料と方法

1．検査材料

2012～2015 年度に管内の医療機関及び健康福祉事務所で分離された EHEC249 株を用いた．血清型，サブタイプ及び病原遺伝子の検索は搬入された全株を対象として実施し，家族や集団事例など，疫学的に関連のある株は代表株の結果を集計した．付着関連因子の検索は，このうち各血清型を代表する 74 株について実施した．

2．疫学調査

発生状況や症状などの疫学調査は担当健康福祉事務所で行われた．

3．検査方法

TSI 培地， LIM 培地，VP 培地で大腸菌の性状を確認後，病原性大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて O 及び H 型別を実施した．DNA 抽出はアルカリ熱抽出法で行い，*stx* 検出はプライマーセット EVS，EVT（TaKaRa Bio）を用いて行った．

3.1 *stx* サブタイピング

stx サブタイピングは，デンマーク国立血清研究所のプロトコール[5]に準じて実施した．

3.2 *stx* 以外の病原遺伝子の検出

下痢原性大腸菌の病原性に関与する遺伝子 12 種（*stx1*, *stx2*, *stx2f*, *elt*, *est*, *invE*, *eae*, *aggR*, *afaD*, *astA*, *cdt*, *cnf*）を対象とした 3 セットのマルチプレックス PCR 法を既報[6]の方法で実施した．

3.3 細胞付着性に関与する遺伝子の検出

細胞付着因子をコードする遺伝子 *iha*, *toxB*, *espP*, $lpfA_{O113}$, *saa* について，既報のプライマー[7]を使用して保有状況を調査した．PCR 反応試薬には GoTaq Hot Start Green Master Mix（Promega）を用い，増幅は 94℃ 5 分の熱変性後，94℃1 分，58℃1 分，72℃2 分の反応を 30 サイクル行い，最終伸長を 72℃5 分とした[8]．*iha*, *toxB*, *espP* は multiplex PCR で行った．*saa* 検出は Vidal らの増幅条件で実施した[9]．

Ⅲ　結果及び考察

1．血清型，*stx* サブタイプ及び病原遺伝子保有状況

血清型別，*stx* サブタイピングの結果及び病原遺伝子保有状況を Table 1 に示す．今回供試した株にはヨーロッパでアウトブレイクを起こした O104 のような *aggR* 保有株はみられなかった．血清型は O157:H7 が 138 株中 82 株（59.4%）で最も多く，O26:H11 が 31 株（22.5%），O157:H-が 12 株（8.7%），O121:H19 が 3 株（2.2%），O26:H-が 2 株（1.4%）であった．138 株中 134 株（97.1%）が *eae* を保有しており，*eae* 非保有株は O91:H21，O146:H-, O176:H-, O168:HUT それぞれ 1 株であった．*sx1* サブタイピングでは，*stx1c* を保有していた O176:H-1 株を除いて全て *stx1a* に分類された．*stx2* では *stx2a*,

Table 1　Summary of stx subtype pattern and virulence genes distribution

EHEC from humans	Number of strains	*stx1a*	*stx1c*	*stx2a*	*stx2b*	*stx2c*	*stx2g*	*eae*	*astA*	*estA1*
O157:H7	82	56		62		28		82		
O157:H-	12	9		3		9		12		
O26:H11	31	31						31	3	
O26:H-	2	2						2		
O103:H2	1	1						1		
O145:H-	1	1						1		
O111:H-	1	1		1				1		
O121:H19	3			3				3		
O103:H2	1	1						1		
O91:H21	1			1						
O146:H-	1				1					
O176:H-	1		1		1				1	
O168:HUT	1						1		1	1
Total	138	102	1	70	2	37	1	134	5	1

stx2c の順に多く，*stx2a* の単独保有(62 株)は *stx2c* 単独保有（30 株）の 2 倍以上となった. O157:H7 7 株（8.5%）が *stx2a* と *stx2c* を併せ持っていたが，これに対して O157:H-では *stx2c* が *stx2a* に比較して高率に検出された（P<0.01）.

ヒトから検出されることが稀なサブタイプを持つものとして，O176:H-が *stx1c* と *stx2b* を，O146:H-が *stx2b* を，O168:HUT が *stx2g* を保有しており，これらは全て *eae* を保有していなかった. O146:H-と O176:H-はどちらも無症状保菌者からの分離菌株であったが，HUS を呈した新生児と無症状保菌の母親から *stx2b* 保有 O146:H28 が，下痢症状を呈するヒトから *stx2b* 保有 O176:H-が分離されたとの報告もある [10,11]. また *stx1c* と *stx2b* を保有する EHEC が鹿の肉，羊・山羊の肉と乳製品から分離されている [12]. 病原遺伝子検索の結果，O176:H-は下痢原性大腸菌の病原因子の一つである腸管凝集付着性大腸菌耐熱性エンテロトキシン 1（EAggEC heat-stable enterotoxin-1:EAST1）をコードする遺伝子 *astA* を保有していた. *astA* 保有 EHEC についてはしばしば分離され [13,14]，O168:HUT と O26:H11 3 株からも検出された. *astA* 保有大腸菌は健康人からも分離されることがあり，EAST1 自体の下痢原性については未だ明らかではないが，単独保有株による集団事例の発生も複数報告されている [15,16]. *stx2g* を保有する O168:HUT は血便症状を呈する有症者から分離され，病原遺伝子検索の結果，*astA* に加えて耐熱性エンテロトキシン STp をコードする *estA1* を保有していた. *stx2g* は健康牛から分離された EHEC から発見されたサブタイプであり [17]，多くの株で *astA*, *estA1* を保有している [18]. 牛から分離された *stx2g* 保有 O168 が両遺伝子を保有していたことが報告されており [19]，今回供試した O168:HUT の結果と一致していた. またヒトから分離された *stx2g* 保有 O15 からも *astA* が検出されている（*estA1* 検出未実施）[20].

2.　*stx* サブタイプと血便発症者の割合

stx2 は *stx1* より重症化との関連性が高く [21,22]，さらに *stx2* のサブタイプでは *stx2a* と *stx2c* がより重症化した患者から分離されるという報告がある [23]. 今回供試した検体について、*stx* サブタイプ別の血便発症者の割合を Table 2 に示した. *stx1a* と *stx2a* の組み合わせが 61.4%，次いで *stx2a* と *2c* が 57.1%，*stx2a* が 55.6%となり，*stx2a* を保有する株で血便発症率が高かった. また，HUS 発症者由来株 2 株はどちらも *stx2a* を持つ株であり，それぞれ *stx1a* と *2a*, *stx2a* と *2c* を保有していた. *stx2a*, *stx2c* を単独で保有する株について血便発症率を比較すると，*stx2a* 保有株は 55.6%（10/18）となり，*stx2c* 保有株の 33.3%（4/21）より発症率が有意に高かった（P<0.05）. また 138 株についてロジスティック回帰分析を行った結果，血便発症と *stx2a* 保有の間に関連性が認められた（P<0.01）. これらの結果は，石川県で分離された O157 の *stx* サブタイプと血便, HUS 発症との関連性を解析し，*stx2a* が *stx2c* に比較して重症化への関連性が高く，*stx2c* のみ保有している株では重症化しにくいことを示唆した報告 [24] と一致するものであった. EHEC 感染症の重症化は *stx* サブタイプのみならず，その他の病原因子や宿主側の要因などさまざまな要素が関連していると考えられ，それらと併せさらなる解析が必要である.

3. 付着関連因子の保有状況

EHEC のヒトへの感染成立には腸管上皮細胞への初期接着に作用する因子が重要と考えられており，ヒトから分離される EHEC の主要血清群の多くは，*eae* を含む腸管上皮細胞への定着や宿主への感染成立に関与する遺伝子が多く存在する病原遺伝子領域 LEE（locus of enterocyte effacement）を保有している. LEE 陰性株のヒトへの感染リスクは高くないと考えられるが，上述し

Table 2　*stx* subtype pattern and insidence of hematochezia

Combination of *stx* subtype					Incidence of hematochezia			
stx1a	*stx2a*				27	/	44	(61.4%)
stx1a		*stx2c*			4	/	9	(44.4%)
stx1a					14	/	36	(38.9%)
	stx2a	*stx2c*			4	/	7	(57.1%)
	stx2a				10	/	18	(55.6%)
		stx2c			4	/	21	(33.3%)
			stx2b		0	/	1	
	stx1c		*stx2b*		0	/	1	
				stx2g	1	/	1	
					64	/	138	(46.4%)

Table 3　Distribution of putative adhesin genes

EHEC from humans		Number of strains	*saa*	*iha*	*espP*	*toxB*	*lpfA* O113	
eae+	O157:H7	38		38	38	38		
	O157:H-	9		9	9	9		
	O26:H11	15		15	15	14	15	*astA*
	O26:H-	2		2	2	2	2	
	O103:H2	1		1	1	1		
	O145:H-	1		1	1	1		
	O111:H-	1		1	1		1	
	O121:H19	2			2	2	2	
	O103:H2	1		1			1	
	Total	70	0	68	69	67	21	
eae-	O91:H21	1		1	1		1	
	O146:H-	1		1			1	
	O176:H-	1		1				*astA*
	O168:HUT	1		1			1	*astA, estA1*
	Total	4	0	4	1	0	3	

たように有症者から動物由来株と病原因子プロファイルが一致する株が分離されることもあることから，*eae* 以外の付着関連遺伝子保有状況を含め継続した監視が必要である．

EHEC の *eae* 保有の有無及び血清型別の細胞付着因子の保有状況を Table 3 に示す．*eae* 保有株では 70 株中 69 株（98.6%）が *espP* を，68 株（97.1%）が *iha* を，67 株（95.7%）が *toxB* を，21 株(30%)が $lpfA_{O113}$ を保有していた．血清型別にみると，同じ血清型の株は O26 1 株を除き同じ保有状況であり，O157:H7 及び O157:H- は全て *iha*，*toxB*，*espP* を保有していた．O26:H11 及び O26:H-は全て *iha*，*espP*，$lpfA_{O113}$ を保有しており，17 株中 16 株（94.1%）が *toxB* を保有していた．*eae* 非保有株では，4 株中 4 株が *iha* を，3 株(75.0%)が $lpfA_{O113}$ を保有しており，*toxB* を保有している株はみられなかった．また今回供試した株には *saa* 保有株はみられなかった．

今回検索した *iha*，*toxB*，*espP*，$lpfA_{O113}$，*saa* は，いずれも EHEC を含む大腸菌の腸管上皮細胞への付着に関連しているとされる因子をコードしており，O157 以外の EHEC でも検出頻度が高いことが報告されている[7]．

Iha（IreA homologue adhesin）をコードする *iha* は染色体上にあり，O157:H7 の付着因子として発見され[25]，さまざまな血清型の EHEC で広く検出される．*iha* は O121:H19 2 株以外の全ての株で陽性となり，*eae* 陰性株も全て *iha* を保有していた．

toxB は LEE がコードしているⅢ型分泌装置の発現に関与していることが報告されている．Ⅲ型分泌装置は大腸菌を含む多くのグラム陰性菌に分布しており，宿主細胞へ病原因子を輸送する機構として感染に重要な役割を果たしている[26]．*toxB* は *eae* 保有と関連していることが多く[8]，今回用いた EHEC 菌株でも *eae* 保有株は全て *toxB* 陽性であり，*eae* 非保有株はすべて *toxB* 陰性となった．

EspP（a plasmidic serine protease）をコードする *espP* は補体タンパク質を阻害することで EHEC の腸管への定着や腸粘膜からの出血や HUS 発症に関与している可能性が示唆されており[27]，O157:H7 に広く分布し，O26 も保有することが報告されている[28]．今回の調査では *espP* をもつ 70 株中 3 株（O26:H11 1 株，O111:H- 1 株，O91:H21 1 株）を除く 67 株は *toxB* を保有していた．*toxB* と *espP* は病原プラスミド pO157 にコードされており，これらの遺伝子の発現は密接に関連していると考えられている[8]．

$lpfA_{O113}$（lpf: long polar fimbriae）は，LEE を欠失する株で高率に検出され，LEE を保有しない EHEC の腸管上皮への定着に作用していると考えられており，一方で，LEE を保有する O157:H7 以外の血清型の EHEC でも検出されることが報告されている[29]．今回，*eae* 保有 O157 で $lpfA_{O113}$ を保有するものはなく，O26 などその他の血清型（21/23）と *eae* 非保有株（3/4）で陽性となり，これらの報告に一致するものとなった．

saa は HUS 集団発生時の原因となった LEE を保有しない O113:H21 から発見された因子であり，LEE 陰性 EHEC の高病原性株の指標となり得ることが示唆されている[30]．今回，*eae* 陰性株を含む全ての株で *saa* は検出されなかった．*eae* 非保有株 4 株中 3 株は無症状保菌者由来株であり，HUS 発症者由来株は含まれなかった

が，供試した株数が少ないため，さらに検討を重ねる必要があると考えられる．

これら付着因子の作用については未だ明らかにされていないところが多く，さらなる研究が必要と考えられる．

Ⅳ 結 論

2012～2015 年度に医療機関及び健康福祉事務所で分離された EHEC 249 株について，*stx* サブタイピング，病原遺伝子検索，付着関連遺伝子の保有状況調査を行った．*stx1* では *stx1a*，*stx2* では *stx2a*，*stx2c* が高率に検出された．HUS 発症者から分離された O157 2 株はそれぞれ *stx1a* と *2a*，*stx2a* と *2c* を保有していた．*eae* と *stx* 以外の病原遺伝子は，O26:H11 3 株と O176:H- 1 株から *astA*，O168:HUT から *astA* と *estA1* が検出された．*stx2a* を保有する株に感染した人の血便発症率は，*stx2c* 保有株に感染した人に比較して高かった．付着関連遺伝子保有状況では，同じ血清型の株は O26:H11 1 株を除き同じパターンを示し，*eae* 保有株は 70 株中 69 株 *espP* を，68 株が *iha* を，67 株が *toxB* を，21 株が $lpfA_{O113}$ を保有しており，*eae* 非保有株では，4 株中 4 株が *iha* を，3 株が $lpfA_{O113}$ を保有していた．今回検索した *stx* サブタイプ，病原因子，付着関連因子の継続的な解析は，EHEC 患者の重症度や感染源等を推察する上で重要であると考えられる．

文 献

1) 磯部順子，嶋智子，木全恵子，金谷潤一，綿引正則，佐多徹太郎：腸管出血性大腸菌 O111 による焼き肉チェーン店での集団食中毒事例．病原微生物検出情報（IASR），**33**, 119-120 (2012)
2) 坂本裕美子，廣地敬，大西麻実，伊藤はるみ，高橋広夫，宮北佳恵，細海伸仁，片岡郁夫，久保亜希子，池田徹也，小川恵子，長瀬敏之，森本洋，清水俊一，伊豫田淳，寺嶋淳：白菜浅漬けによる腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例について．病原微生物検出情報（IASR），**34**, 126 (2013)
3) 浅沼貴文，井手忍，渡邊由佳，小田真也，塩野正義，星雪野，山口真澄，井上一，鈴木忍：花火大会関連腸管出血性大腸菌 O157VT1&2 集団発生事例. 病原微生物検出情報（IASR），**36**, 80-81 (2015)
4) 大西真，伊豫田淳，三戸部治郎，寺嶋淳：ドイツを中心とした EAggEC-EHEC　O104：H4 による大規模集団事例．病原微生物検出情報（IASR），**33**, 131-132 (2012)
5) Scheutz, F., Teel, L.D., Beutin, L., Plerard, D., Buvevs, G., Karch, H., Mellmann, A., Caprloll, A., Tozzoll, R., Morabito, S., Strockblune, N. A., Melton-Celsa, A. R., Sancez, M., Persson, S. and Oblren, A. D.: Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. J. Clin. Microbiol., **50**, 2951-2963 (2012)
6) Akiyama, Y., Saito, E., Futai, H., Ogita, K., Sakae, K., Fukunaga, M., Tsuji, H., Chikahira, M. and Mimura, M.: Comprehensive study of pathogenic genes distributed in *Escherichia coli* isolated from cattle. Food Hyg. Saf. Sci., **56**, 118-122 (2015)
7) Monaghan, A., Byrne, B., Fanning, S., Sweeney, T., McDowell, D. and Bolton, D. J.: Serotypes and virulence profiles of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from bovine farms. Appl. Environ. Microbiol., **77**, 8662-8 (2011)
8) Tatarczak, M., Wieczorek, K., Posse, B. and Osek, J.: Identification of putative adhesion genes in shigatoxigenic *Escherichia coli* isolated from different sources. Vet. Microbiol., **110**, 77-85 (2005)
9) Vidal, M., Escobar, P., Prado,V., Hormazabal, J. C. and Vidal, R.: Distribution of putative adhesion in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from different source in Chile. Cambridge Univ. Press, **135**, 688-694 (2007)
10) Stritt, A., Tschumi, S., Kottanattu, L., Bucher, B.S., Steinmann, M., von Steiger, N., Stephan, R., Hachler, H. and Simonetti G. D.: Neonatal hemolytic uremic syndrome after mother-to-child transmission of a low-pathogenic *stx2b* harboring Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Infect. Dis., **56**, 114-116 (2013)
11) EFSA Panel on Biological Hazards: Scientific opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. EFSA Journal, **11**, 3138 (2013)
12) Martin, A. and Beutin, L.: Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with food producing animals as main contamination sources. Int. J. Food Microbiol., **146**, 99-104 (2011)
13) 徳岡英亮，古川真斗，永村哲也，原田真也，浴永圭吾，徳永晴樹，東竜生：非典型的病原血清型大腸菌（OUT:HNM）が主因と推定された食中毒事例．病

原微生物検出情報（IASR），**33**, 8-9 (2012)
14) 笠原ひとみ，上田ひろみ，宮坂たつ子，藤田暁，小野諭子，松本清美，倉石雅彰，宮川公子：プール水が原因と推定された腸管出血性大腸菌 O26 集団感染事例．病原微生物検出情報（IASR），**34**, 132-133 (2013)
15) 中村寛海，梅田薫，山本香織，長谷篤，平井有紀，小笠原準，入谷展弘，西小孝之，西村真衣，小山浩嗣，西康之，西村直己，中野有一：腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子（*astA*）保有大腸菌 O166:H15 が原因と考えられた社員食堂における食中毒事例について．病原微生物検出情報（IASR），**36**, 89-90 (2015)
16) 緒方喜久代，成松浩志，鷲見悦子，内山静夫：既知の病原因子を保有しない大腸菌 O6:H10（*astA* 保有）が検出された下痢症集団発生事例．病原微生物検出情報（IASR），**25**, 101-102 (2003)
17) Leung, P. H. M., Peiris, J. S. M., Ng, W. W. S., Robins-Browne, R. M., Bettelheim, K. A. and Yam, W. C.: A newly discovered verotoxin variant VT2g, produced by bovine verocytotoxigenic *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol., **69**, 7549-7553 (2003)
18) Prager, R., Fruth, A., Busch, U. and Tietze, E.: Comparative analysis of virulence genes, genetic diversity, and phylogeny of Shiga toxin 2g and heat-stable enterotoxin STla encoding *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and environmental sources. Int. J. Med. Microbiol., **301**, 181-91 (2011).
19) 山口友美, 木村葉子, 矢崎知子, 後藤郁男, 畠山敬, 沖村容子：基質特異性拡張型β-ラクタマーゼを産生する腸管出血性大腸菌 O15 の遺伝子解析．宮城県保健環境センター年報，第 30 号，27-30 (2012)
20) Nyholm, O., Heinikainen, S., Pelkonen, S., Hallanvuo, S., Haukka, K. and Siitonen, A.: Hybrids of Shigatoxigenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) among human and animal isolates in Finland. Zoonoses Public Health, **62**, 518-24 (2015)
21) Boerlin, P., McEwen, S. A., Boerlin-Petzold, F., Wilson, J. B., Johnson, R. P., Gyles, C. L.: Association between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans, J. Clin. Microbiol., **37**, 497-503 (1999)
22) Ethelberg, S., Olsen, K. E., Scheutz, F., Jensen, C., Schiellerup, P., Enberg, J., Petersen, A. M., Olsen, B., Gerner-Smidt, P. and Molbak, K.: Virulence factors for hemolytic uremic syndrome, Denmark. Emerg. Infect. Dis., **10**, 842-847 (2004)
23) Eklund, M., Leino, K., Siitonen, A.: Clinical *Escherichia coli* strains carrying *stx* genes: *stx* variants and *stx* positive virulence profiles, J. Clin. Microbiol., **40**, 4585-4593 (2002)
24) 加藤夏美ら：第 41 回石川県医学検査学会講演要旨集, http://ishikawa-amt.jp/wp/wp-content/uploads/2016/03/9a432d95ed5de22a14c8a272a7000be0.pdf (accessed 2017-2-10)
25) Tarr, P. I., Bilge, S. S., Vary, Jr. J. C., Jelacis, S., Habeeb, R. L., Ward, T. R., Baylor, M. R. and Besser, T. E: Iha: A novel *Escherichia coli* O157:H7 adherenc-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. Infect. Immune., **68**, 1400-1407 (2000)
26) 石原（森田）朋子：腸管病原菌のⅢ型分泌装置と細胞付着・侵入のメカニズム．Jpn. J. Lactic Acid. Bact., **19**, 37-45 (2008)
27) Dorothea, O., Silvia, E., Jens, B., Abdul, B. K., Geoyg, H., Helge, K., Bettina, S., Herbert, L. and Reinhard, W.: EspP: A serine protease of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, impairs complement activation by cleaving complement factors C3/C3b and C5. Infect. Immun., **78**, 4294-4301 (2010)
28) Brunder, W., Schmidt, H. and Kahch, H: EspP, a novel extracellular serine protease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 cleaves human coagulation. V. Mol. Microbiol., **24**, 767-778 (1997)
29) Doughty, S., Sloan, J., Bennett-Wood, V., Robertson, M., Robins-Browne, R. M. and Hartland, E. L.: Identification of a novel fimbrinal genes cluster related to long polar fimbriae in locus of enterocyte effacement-negative strains of enterohemorrhagic *Escherichia coli.* Infect. Immun., **70**, 6761- 6769 (2002)
30) Paton, A. W. and Paton, J. C.: Direct detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae ehxA*, and *saa*. J. Clin. Microbiol., **40**, 271-274 (2002)

（平成 29 年 2 月 28 日受理）