

総説

腸管出血性大腸菌と食品由来感染症

寺嶋 淳

要約

腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)) は重要な食中毒起因菌であり、無症状から出血性大腸炎や溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS), さらには死に至る場合も含め多様な病態を引き起こす。EHEC 感染症は公衆衛生上深刻な疾患であり、多くの国において報告義務がある。牛以外の動物からの EHEC 分離報告はあるが、牛などの反芻獣が主要な保菌動物と考えられている。EHEC の汚染はさまざまな食品におよび、牛肉だけではなく、牛の糞便を主とした動物の排泄物による交差汚染で生鮮野菜、水、環境も含めた汚染が成立している。EHEC 感染症は少数菌量の感染で成立するため、感染源が不明でしばしば集団発生が起こる。したがって、EHEC 感染症の制御には流行している EHEC の性状をサーベイランスにより把握しておくことが重要である。分離株の性状解析により共通の汚染源による未確認集団発生を探知することもあるが、疫学的な情報がなくては汚染源の同一性を結論づけることは困難である。したがって、細菌性食品由来感染症の発生では、分離株の解析結果を疫学調査の結果と組み合わせて結論づけることが必須となる。本稿では、EHEC 感染症を食品由来感染症としてとらえ、EHEC の病原性、病態およびその制御について述べる。

キーワード：腸管出血性大腸菌，溶血性尿毒症症候群，志賀毒素，食品由来感染症

1. はじめに

わが国では腸管出血性大腸菌 (EHEC, しばしば志賀毒素産生性大腸菌 Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* (STEC) と呼ばれる) 感染症は年間 4000 例前後の報告があるが、EHEC が原因として報告された食中毒の患者数は年間数百人程度で両者には著しい差がある (Fig.1)。サルモネラや腸炎ビブリオによる食中毒患者数は 2001 年以降徐々に減少してきたが、カンピロバクターによる食中毒患者数はブドウ球菌や EHEC による食中毒患者数と比べて比較的高い状態が続いている。2009 年～2015 年の期間において、EHEC 感染者数には 34% の無症状保菌者が含まれるが、その感染者数に比べると EHEC 食中毒患者数ははるかに少ない患者数となっている [1-6]。EHEC が食中毒の原因食品から分離されるのは極めて稀で、散発事例はもちろんのこと集団発生事例におい

ても、感染源を特定するのは非常に困難である。一方、患者や無症状病原体保有者から分離された EHEC の解析から、共通の感染源の存在が明らかになったり、

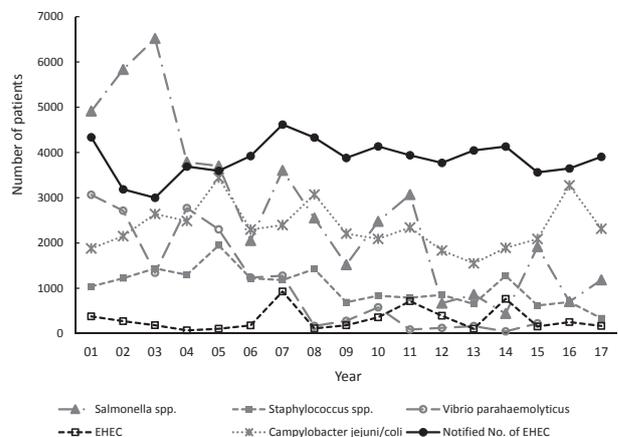


Fig. 1 主な食中毒菌による食中毒患者数と EHEC 感染者数

共通の感染源の存在を示唆する結果が得られたりすることがある。牛が保菌している場合があることから、食肉や肝臓などの内臓は EHEC に汚染されている可能性があり、生食による食中毒で犠牲者が出ている。また、野菜を原因とする EHEC 食中毒の発生は多くが高齢者施設や保育園等であり、EHEC 感染症でもっともリスクの高い年齢層における発生が主となっている。

2. 病原性

ヒトに下痢を発症させる大腸菌は、いわゆる下痢原性大腸菌として性状がよく解析された6つのカテゴリーに分けられている。すなわち、腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli* (EPEC)), 腸管出血性大腸菌 (EHEC), 腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)), 腸管凝集接着性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli* (EAEC)), 腸管侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli* (EIEC)) そして分散接着性大腸菌 (diffusely adherent *E. coli* (DAEC)) [7] である。下痢原性大腸菌のカテゴリーは、それぞれの大腸菌のもつ病原因子のプロファイルに基づいて設定されており、本稿では、EHEC を志賀毒素を保持する大腸菌と定義して使用する。

EHEC は、1982 年に加熱不十分な牛ひき肉を喫食して発生した、大腸菌 O157:H7 による二つの集団発生において見出されたものである [8, 9]。その後、EHEC O157:H7 だけでなく他の O 群の EHEC についても、食品に由来する集団発生において出血性大腸炎や HUS が世界各地で報告されている。EHEC は牛を含む反芻類が腸管に保持することから、EHEC による食肉の汚染が食料供給網への本病原菌の主な感染経路となっている。しかし、実に多様な食品が EHEC 関連の疾患から見出されており、原因となった食品には、牛ひき肉 [10]、ローストビーフ [11]、サラミ [12]、生乳 [13, 14]、チーズ [15, 16]、アイスクリーム [17]、ヨーグルト [18]、ロメインレタス [19]、レタス [20]、未殺菌のアップルサイダーやジュース [21-24]、カンタロープ [25]、ほうれん草 [26]、カイワレ大根 [27, 28]、アルファルファ [29] などがある。EHEC O157:H7 はヒトの腸管出血性大腸菌感染症における主な血清型として、多くの検出方法の標的となってきたが、志賀毒素あるいは志賀毒素遺伝子が EHEC サーベイランスの主要な標的となってきたから、非 O157 EHEC の検出報告が増加してきた。EHEC 感染症は、報告義務のある疾患のなかで胃腸炎の主要な原因であり、時に HUS のような生死に係る重症例が発生する場合がある。

2-1. Shiga toxins

志賀毒素 (Stxs) は、*Shigella dysenteriae* 血清型 1 と EHEC が産生する重要な病原因子であり、腸管の損傷を悪化させ腎臓や中枢神経系を含む全身合併症を惹起する。本毒素は、志賀潔博士が 1897 年に赤痢の集団発生においてその原因菌であった赤痢菌を発見した [30] ことに因んでいる。1977 年に Konowalchuk 等はある種の大腸菌がペロ細胞を殺す細胞毒を産生することを見出し、この細胞毒をペロ細胞毒あるいはペロ毒素と呼称した [31]。1980 年に *Shigella dysenteriae* 血清型 1 が産生する志賀毒素の精製が報告された [32, 33] のに加えて、米国で出血性大腸炎の集団発生を引き起こした O157:H7 が志賀毒素様の毒素を産生する [34] ことが報告され、さらにこの毒素が大腸菌 O157:H7 が産生するペロ毒素と同じものである [35] ことが明らかにされた。したがって、現在では志賀毒素あるいはペロ毒素は同じ毒素を意味している [36]。

EHEC が産生する Stxs には、プロトタイプとなる *Shigella dysenteriae* 血清型 1 が産生する Stx の抗原性との比較から、タイプ 1 (Stx1) とタイプ 2 (Stx2) の 2 種類の毒素 [37-39] が知られている。精製した Stx2 は Stx1 に比べて、マウス LD₅₀ が 400 倍ほど低く [40]、ヒト腎臓上皮細胞に対する毒性が 1000 倍ほど高い [41] ことが報告されている。また、Stx2 産生の EHEC O157:H7 が Stx1 産生株よりもしばしば HUS 発生例と関連していることが疫学的に示されている [42, 43]。X 線解析により、Stx は 1 つの A サブユニットと 5 つの B サブユニットからなる立体構造であり [44, 45]、触媒ドメインとなる A サブユニットが 5 つの B サブユニットと共有結合し、B サブユニットを介して細胞表面上のリセプターであるグリコシルセラミド Gb3 と結合する [46-48]。Gb3 リセプターとの結合後、Stxs は細胞内に取り込まれ逆行性の細胞内輸送により endoplasmic reticulum (ER) に運ばれる。ER への逆行輸送中に A サブユニットはタンパク質分解と SS 結合の還元により B サブユニットから解離する [49-52]。A サブユニットには特異的な RNA N-glycosidase 活性があり、真核生物の 28S リボソーム RNA の 4324 番目のアデニン残基を開裂する [53, 54] ことで、伸長因子依存性のアミノアシル tRNA 結合を阻害し続くペプチドの伸長を停止させる [55]。毒素の ER への移行と A サブユニットの細胞質内への移行は宿主細胞のタンパク質合成を停止させるだけではなく、アポトーシス、サイトカインやケモカインの誘導を惹起する場合がある [56]。

EHEC 株の stx 遺伝子はラムダ型のプロファージゲノム上のファージ後期遺伝子プロモーターの下流にコードされている [57]. stx1 遺伝子は鉄制御プロモーターの制御下にあり、低鉄イオン濃度下において誘導がかかる [58] が、stx2 遺伝子はファージ後期遺伝子プロモーターに依存している [59, 60]. マイトマイシン C のような DNA 障害性物質はプロファージ誘導により Stx 産生が増強されることが示されている [61, 62]. EHEC における Stx の産生は、したがって、Stx をコードしているファージと緊密に関連しているといえる.

2-2. 接着因子

Locus of enterocyte effacement (LEE)

EHEC が腸管上皮細胞に惹起する attaching and effacing (A/E) lesion は、EPEC, *Escherichia albertii*, および *Citrobacter rodentium* などでも生じる [63]. A/E 障害は、元来 EPEC に感染した患者や動物の腸管バイオプシーで観察される典型的な病変で、微絨毛の障害と上皮細胞表面と細菌の密着部に生じるものである [64, 65]. A/E 障害を惹起する細菌側の遺伝子は EPEC 及び EHEC のゲノム上の 35-kb の領域にコードされている. この領域は LEE と呼ばれ、非病原性の大腸菌には存在しないが、A/E 障害を惹起する EPEC 及び EHEC には存在している [63]. LEE 陽性の EHEC の血清型 (O157 : H7, O26 : H11, O103 : H2, O111 : NM, O121 : H19, and O145 : NM など) は、LEE 陰性の血清型よりしばしば HUS や流行した疾患と関連している [7, 66, 67]. LEE は 5 個の主要なオペロンが構成されており、Ⅲ型分泌装置、種々の分泌タンパク質、インチミンと呼ばれる細菌性接着因子およびそのリセプターであり細菌から分泌される Tir をコードしている [68-71]. インチミンは、95-kDa の細菌外膜タンパク質で eae 遺伝子 (*E. coli* attaching and effacing) にコードされており A/E 障害の形成に必要である [65, 72]. Ⅲ型分泌装置により宿主細胞表面に分泌された Tir にはインチミンが結合し、A/E 障害の形成が開始される [73]. EHEC においてはインチミンが主要な接着因子であるが、EHEC のその他の接着因子として、long-polar fimbriae などの線毛性接着因子 [74]、オートトランスポーター、鞭毛等がある [75].

2-3. 酸耐性

EHEC には酸耐性能があり [76-79]、それが EHEC では 100 個程度の少数菌で感染が成立する [80, 81]

ことに貢献していると考えられている. 酸耐性能は胃酸環境下で EHEC が生残する可能性を高めているほかに、多様な酸性食品中での生残にも貢献しており、リングサイダー (pH 3.7 to 4.0) [82]、バターミルク (pH 4.1) [83]、ヨーグルト (pH4.17 to 4.39) [84, 83] やサワークリーム (pH 4.3) [83] から菌が分離されている. 大腸菌における酸耐性機構はグルコース抑制システム、グルタミン酸およびアルギニン依存性システムがある [85]. シグマ因子をコードする *rpoS* はグルコース抑制システムに必須であるが、グルタミン酸デカルボキシラーゼおよびアルギニンデカルボキシラーゼがアミノ酸依存性システムには必須である. これらのデカルボキシラーゼシステムにおいては、グルタミン酸とアルギニンの脱炭酸の過程でプロトンを消費し菌体内の pH が致死的になるのを防いでいると考えられている [86].

3. 疫学

3-1. 動物における EHEC 保菌状況

牛とその他の反芻獣 [87, 88] が EHEC の主要なりザーバーと考えられているが、その他の動物、犬、猫、豚 [89] や馬からも EHEC が分離されている [90]. 両生類や魚類、さらに昆虫や軟体動物などの無脊椎動物については他の総説 [91, 92] を参照されたい. 魚類や貝類などの海洋生物種は終宿主 [92] として、食された際に他の動物に病原体を伝播し得る [93-95].

2011 年の夏に我が国の 25 の肉牛農場における 250 頭の牛と 25 の乳牛農場における 250 頭の乳牛の直腸内容物の調査から EHEC O157 は 7 つ (28%) の肉牛農場の肉牛 16 頭 (6.4%) から分離されたが、乳牛農場の乳牛からは分離されなかった [96]. 同一の著者らがその 4 年前に調べた際もほぼ同様の分離頻度 (8.9%) で EHEC O157 が分離された [97]. その他の研究では、123 農場の 932 頭の乳牛における EHEC の分離頻度は 12% で、31 種類の O 群の EHEC が分離され O26 は含まれていたが、O157 は分離されなかった [98]. 同じ研究のなかで、stx 遺伝子の PCR によるスクリーニングでは、30.4% の乳牛が陽性を示した.

3-2. 人への感染源

・加熱不十分な牛肉製品 :

ヒトの EHEC 感染症のもっとも一般的な感染源は汚染した食品であるが、牛に由来する生や加熱不十分な食品の喫食がもっとも一般的な感染経路となっている. 牛ひき肉は特に効率的な伝播媒体となっており、1993 年の集団発生ではチェーンレストランで提供さ

れたハンバーガーが原因 [99] となっており、調理不十分なハンバーガーは多くの集団発生で原因となっている [100-103]。家庭で調理されたハンバーガーによる事例も発生している [104, 105]。言うまでもなく、生や加熱不十分な牛肉製品は汚染した細菌をヒトに伝播させる可能性が高く、実際に 2010 年には生の牛レバー喫食による EHEC O157 感染があり [1]、ユッケを原因とする EHEC O111 の集団発生 [3] や成型肉であるサイコロステーキを原因としてチェーンレストランでの広域発生 (diffuse outbreak) がある [106]。

・汚染生鮮野菜 (食品)

EHEC は生あるいは加工された果物や野菜などの生鮮食品に接着するので、これらの食品は細菌伝播の媒体となってきた。EHEC の主要な集団発生にはレタスを原因とするもの [107] があり、複数の州にまたがる発生もある。スプラウト [27] とほうれん草 [108] は多くの HUS 事例の汚染源となっており、2011 年に欧州で発生した O104 : H4 の事例でもスプラウトの喫食が原因となっている [109]。2000 年から 2009 年に CDC が実施した生鮮食品による集団発生サーベイランスでは、生鮮食品のなかでは葉物野菜がもっとも頻りに EHEC 集団発生と関連していた [110]。生鮮食品による集団発生では、灌漑用水あるいはスプレー水による枝葉の汚染が関係しており [111]、EHEC O157 : H7 は植物の根に接着し貫通する [112] ことが示されている。発酵させた食品では EHEC の増殖を低減させることができる。Sodjouk ソーセージでは EHEC O157 : H7 を 3.5log ほど減少させる [113, 114] が、製法が不適切であると発酵食品自体が感染媒体となり得る。スウェーデンでの集団発生では、不適切に製造されたソーセージが原因であることが遡り調査で明らかにされた [115]。野菜類のピクルス [3] や新鮮なサラダの如き漬物も集団発生を引き起こしている [116, 117, 4]。寿司ネタとなった生イクラが EHEC O157 : H7 に汚染されていたことで発生した事例 [118] もある。

・環境からの感染

家畜の糞尿は EHEC の優れた媒体であり、糞尿で汚染された草地上で開催された公開イベントに関連して発生した事例もある。スコットランドでは、羊が放牧されている地で開催された青少年の集いにおいて集団発生があり、患者、牧野とヒツジの糞から分離された菌のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) パターンが一致していた [119]。さらに、同地では集団

発生から 15 週間後にも菌が分離された [120]。ミネソタ州で発生した EHEC O157 の散発事例では、土壌から分離された菌が 2ヶ月以上も土中で生残している [121] ことが示された。

家畜を展示する農業祭に関連したヒトの EHEC 集団発生事例 [122-124] もある。農業祭での EHEC O157 による集団発生事例の調査では、特定の飲食物から菌は分離されず建物の梁などから菌が分離されたことから、感染源は広く汚染された建物であろうと推測されている [125]。複数のロデオ大会に関連した EHEC O157 : H7 の集団発生では、14 名の患者由来株が同一の PFGE パターンを示し、9 名の患者由来株が同一の multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) パターンで 5 名の患者由来株は僅かな違いを示す MLVA パターンであった。さらに、ロデオ大会が開催されたうちの一会場の土壌から分離された株は、集団発生患者由来株と同一の PFGE および MLVA パターンであった [126]。牛の肥育場から 60 メートル離れた場所に植えられた葉物野菜からは EHEC O157 : H7 が 3.5% の頻度で分離され、180 メートル離れた場所の葉物野菜からは 1.8% の分離頻度であることから、肉牛の肥育場所からの EHEC O157 : H7 の空気感染のリスクが存在することが示唆されている [127]。

水が媒介する EHEC 感染症も散発および集団発生事例がある [128, 129]。湖 [130, 131] やプール [132] での水泳に関連した EHEC 集団発生事例があり、私的な井戸水の利用による事例 [133-135] が報告されている。

・直接接触による感染

動物との直接接触による EHEC の伝播もあるが、伝播を防ぐもっとも有効な予防手段は手洗い [136] である。EHEC の集団発生にはしばしば公共の場での動物が関連している。子供が最も高いリスクにさらされており、触れ合い動物園 [137]、触れ合い農場 [138, 139] や羊への餌やりイベント等 [140] における HUS の発生が報告されている。ヒトへの EHEC の伝播は、人から人へ直接伝播もあり得る。米国における集団発生報告システムによると、2009 年には 40 件の食品由来集団発生があり、さらに 5 件の EHEC 集団発生はヒト-ヒト感染によると報告 [141] されている。EHEC のヒト-ヒト伝播は保育園での集団発生 [142-145] の原因と認識されており、個人的な衛生管理手法が未熟で免疫システムが発達不十分である状態の子供間で感染が成立していると考えられる。

3-3. 臨床経過

EHEC 感染症は非常に広い臨床像を示す。無症状から、下痢、出血性下痢（出血性大腸炎）などや重症例では脳症や HUS がある。EHEC O157:H7 感染の典型的な臨床経過では、菌の経口摂取から最初の軟便が始まるまでに 3~4 日の潜伏期がある。症状は下痢や腹痛で始まり、病院を訪れる人の大半は出血性下痢、第 1 あるいは第 2 病日の典型的な症状、を示すようになる [146]。症状は通常、一週間程度で収まり、特に後遺症は見られない。しかし、患者の 6% ほどが HUS を発症 [147] し、通常下痢が発症してから 2 日~14 日後に HUS と診断されている [148]。HUS は幼児と高齢者において発症する可能性が高い。HUS 発症のリスク因子として、年齢に加えて、血便、発熱、白血球数の増加、抗生剤の投与、止瀉薬の使用 [149-151] が挙げられる。非 O157 EHEC の感染では軽度の臨床症状で経過する [152-154] ことが報告されているが、血清型により臨床症状が変化するか否か、あるいは病原因子による違いが臨床像の違いと関連しているかについてはさらなる研究が必要だと考えられる。EHEC 感染が成立する菌量に関しては情報が限られているが、比較的少数の菌量で感染が成立することが示唆されている。例えば、豪州で発生した EHEC O111 に汚染されたソーセージによる集団発生事例では、ソーセージ 10 グラムから菌が 1 個分離されたことから、感染が成立する菌量は 1~10 個と推計されている [80]。ベルギーで発生した O145 に汚染されたアイスクリームによる集団発生事例では、感染菌量は 400 CFU と推計されている [17]。これらは EHEC O157:H7 での疾患で感染菌量が 10 個程度と推計されている [81] のとほぼ同程度の数値である。

3-4. HUS

HUS は命に係わる病態で溶血性貧血、血小板減少と腎不全を三徴候とする症候群であり、米国において子供の急性腎不全の最も一般的な原因である [155]。また、米国では Foodborne Diseases Active Surveillance Network により、2000 年から 2006 年の間に 3464 件の EHEC O157 感染が報告され、218 名 (6.3%) が HUS を発症し 5 歳以下の子供で HUS の比率が最も高く (15.3%)、EHEC O157 の全患者のうち 0.6% が死亡したが、HUS 患者では 4.6% が死亡した [156]。イタリアでは、1988 年から 2012 年の間に年間平均 33 件の HUS 症例があり、0 歳から 15 歳においては 10 万人あたり 0.4 の年間発生率であった [157]。EU の 15 カ国においては、2012 年に 5746 件の EHEC

O157 症例のうち 382 件 (6.6%) の HUS が報告され、そのうち 59% (226 件) は 0 から 4 歳の O157 および O26 感染であり、続いて 5 から 14 歳の子供における EHEC O157 感染 (74%) であった [158]。アルゼンチンでは下痢発症後の HUS が流行しており、2002~2011 年の間に毎年およそ 400 件の HUS が報告された。5 歳以下の子供では 10 万人あたり 10 から 17 例の発生率で致死率は 1~4% であった [159]。

日本では 2006 年に改正された感染症法において、HUS 患者は便から志賀毒素が検出されるかあるいは O 抗原抗体価または志賀毒素抗体価の上昇が患者血清にみられることで HUS の報告義務が生じた。2006 年から 2015 年の期間において、HUS の年平均発生数は 99 件 (3.6%) であった (Fig. 2) [106, 160-167]。既報にあるように、10 歳以下の子供と高齢者における HUS の発生率が漸増 [168, 169] している。同期間においては、985 例の HUS のうち 65% は検査室で菌培養が陽性となり、残りは患者血清中の抗ポリサッカライド抗原抗体の検出あるいは患者糞便中の Stx の有無により診断された。菌培養陽性 HUS 症例のうち、85% は EHEC O157 が占め、さらに O111 (4.4%)、O26 (2.7%)、O121 (2.3%)、O165 (1.2%)、O145 (0.6%) と続き、その他にも O55、O74、O76、O115、O174、O183 などがあった。菌培養陽性の HUS 症例においても非 O157 の O 群の EHEC があるが、菌培養陽性の全 HUS 症例のうちの 94% は、Stx2 単独産生株あるいは Stx1 と Stx2 の両方を産生する株であり、Stx2 産生性の EHEC O157:H7 は Stx1 単独産生株より HUS の発生と高い頻度で関連している [42, 43, 66] という疫学的証拠とよく一致していた。

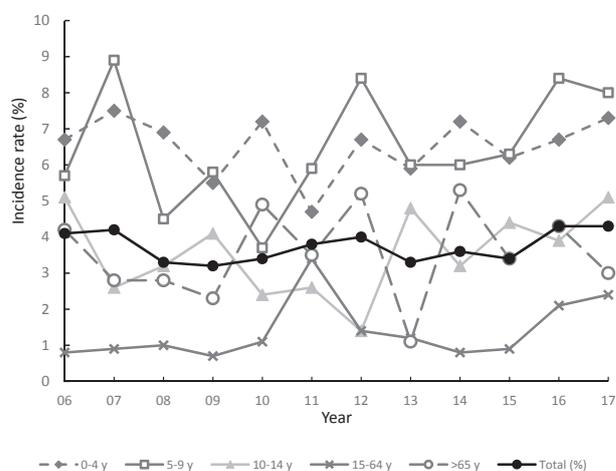


Fig. 2 国内の EHEC 感染症における年齢別 HUS 発症率 (2006 年~2015 年)

3-5. サーベイランス

米国ではすべての EHEC 感染症が Nationally Notifiable Diseases Surveillance System への報告を義務付けられている。日本および欧米諸国の EHEC 罹患率を Fig. 3 に示す。2010 年から 2014 年の米国における EHEC 罹患率は 1.98 である [170]。一方、米国 CDC が Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) を通じて収集されたデータでは、697 件の非 O157 EHEC の症例と 444 件の EHEC O157 の症例があり、それぞれの 10 万人あたりの罹患率は 1.43 及び 0.91 であった [171]。ミシガン州における EHEC の事例の研究から非 O157 事例の増加が示されている [172] が、他の研究においても同様の増加が報告されている [173-175]。カナダのオンタリオとブリティッシュコロンビア管轄区では、2011 年と 2012 年にわたって 61 例の EHEC 感染症が報告され、10 万人あたりの罹患率は 3.1 であった [176]。対照的にカナダ全体では、2011 年と 2012 年における 10 万人あたりの罹患率は 1.9 であった。カナダではわずかながら罹患率の減少が観察される一方で、ニュージーランドでは明らかな増加傾向が報告されている [177]。EU では恐らく 2011 年のドイツにおける EHEC O104 の集団事例の影響で同年に急激な罹患率増加があるものの、2014 年までのデータではあるが罹患率は 1.7 程度の状況が続いている [158]。豪州では 2007 年以降罹患率は約 0.5 である [178-182]。

日本では、EHEC 感染症は 1999 年 4 月に施行された「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」に基づき National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) を通じて *Vibrio cholerae* O1 あるいは O139, *Shigella* 属, *Salmonella enterica* serovar Typhi, そして *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A とともに三類感染症に

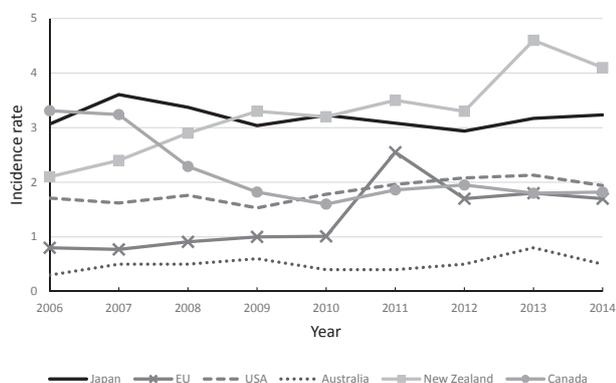


Fig. 3 日本, EU, 米国, 豪州, ニュージーランド, カナダにおける EHEC 感染症罹患率 (10 万人当たり)

規定されている。1996 年以来、EHEC 感染症に対して種々の予防対策が取られてきており、報告義務のある疾患に指定され、国内サーベイランスにより効果的なモニタリングがなされているが、毎年の 10 万人あたりの罹患率は約 3.0 にとどまり減少する気配はない (Fig. 3)。食品衛生法に基づくサーベイランスでは EHEC 感染事例は医師あるいは保健所長により食中毒と判断された場合に食中毒として各自治体から厚生労働省へ報告されている。集団発生事例における積極的なサーベイランスにより EHEC 感染症の約 35% は無症状保菌者であり、無症状保菌者は中年の者で多く、有症状者は幼児を含む若者と高齢者のグループで多いことが明らかになった [183]。

NESID の他にも、国立感染症研究所 (National Institute of Infectious Diseases; NIID) では Infectious Disease Surveillance Center (IDSC) において各自治体を実施している EHEC 分離株の性状解析 (血清型, Stx 型等) 結果を収集している。そのまとめによると、わが国では EHEC O157 が優勢な O 群であり、O26, O111, O103, O121, O145 やその他の血清型がそれに続いている。しかし、米国 [175] や欧州 [184, 157] と同様に、ヒトの EHEC 感染症においては非 O157 EHEC の割合が若干増加している。すべての EHEC 分離株のなかで、EHEC O157 の分離頻度は 2000 年に 70% であったものが 2015 年には約 60% になっている [185, 186]。個々の食中毒事例から集団発生事例を探知することを目的として、NIID と各自治体の協力サーベイランスシステムとして、分離株の DNA 型別を利用したサーベイランスシステムである、PulseNet Japan が構築された [187]。このサーベイランスシステムは、PulseNet International [188] の一部であり、EHEC O157 による国内事例 [189] や複数国に及ぶ海外事例の探知 [190] に貢献している。

・日本の EHEC 集団発生

2000 年から 2012 年に IDSC に報告された菌分離陽性者 10 名以上の EHEC 集団発生では、主な感染経路としてヒト-ヒト感染による集団発生事例が 41% を占め、次いで食品媒介性感染 29%、水媒介性感染 3% であり、およそ三分の一の事例において感染経路が不明であった [183]。これらの集団事例の主な発生場所は保育園であり、ヒト-ヒト感染経路が主であることが容易に理解できる。保育園における集団発生でもっとも頻繁に分離される EHEC の O 血清群は、O26 (52%) であり、次いで O157 (27%)、O111 (9%)、O103 (4%)、O145 (3%) など [183] であり、無症状

表 1. 国内における食品媒介性 EHEC 集団発生事例

年	県 / 市	施設 (reference)	血清型	Stx 型	有症者数	菌陽性者数	推定感染経路
2001	千葉県	患者宅 (116)	O157:H7	Stx1&2	195	257	牛肉製品 (a)
2002	福岡市	保育園 (117)	O157:H-	Stx2	74	112	キュウリの浅漬け (a)
2002	宇都宮市	高齢者施設及び病院 (117)	O157:H7	Stx1&2	123	111	香味和え (a)
2003	横浜市	小学校 (191)	O26:H11	Stx1	141	449	食品媒介性
2004	石川県	高校 (192)	O111:H-	Stx1&2	110	103	食品媒介性
2007	東京都	学校の食堂 (193)	O157:H7	Stx2	467	204	食品媒介性
2007	宮城県, 仙台市, 秋田市	飲食店 (193)	O157:H7	Stx1&2	314	173	弁当 (a)
2009	佐賀県	保育園 (1)	O26:H11	Stx1	N.D.	133	レタス (a)
2010	三重県	高校 (2)	O157:H7	Stx2	138	164	学校給食 (a)
2011	富山県	チェーンレストラン (3)	O111:H8 O157:H7	Stx2, Stx- Stx1, Stx2, Stx1&2	181	102 38	ユッケ (生の牛肉) (a)
2011	山形県	お祭り (3)	O157:H7	Stx1&2	287	189	饅頭 (a)
2012	大阪市	保育園 (4)	O26:H-	Stx1	68	115	食品媒介性
2014	静岡市	出店 (6)	O157:H7	Stx1&2	510	193	食品媒介性
2015	島根県	高等学校の寮 (178)	O157:H7	Stx2	62	70	食品媒介性
2016	沖縄県	飲食店 (223)	O157:H7	Stx2	28	31	さとうきびジュース
	千葉県, 東京都	高齢者施設 (223)	O157:H7	Stx1&2	84	98	きゅうりのゆかり和え (a)
	1都5県	家庭及び飲食店 (223)	O157:H7	Stx2	67	66	冷凍メンチカツ (a)

(a) は食品から菌が分離された事例

保菌者が多いことを含む比較的軽い臨床症状の存在をよく反映していると考えられるが、結果的にはこれらの集団発生でヒト-ヒト感染が多いことにつながっている。2010 から 2013 年の期間で O26 や O111 などの非 O157 の O 群による集団発生が保育園で多いことは、日本のほかのグループによる研究でも示されている [145]。2000 年から 2015 年の間に菌陽性者 100 名を超える集団発生事例は 13 事例報告されている (表 1) [191, 192]。13 事例全てが汚染した食品の喫食により発生しており、原因食品から菌が分離された事例もある。これらの原因食品には牛肉 [116]、キュウリの漬物 [117]、香味和え [117]、弁当 [193]、レタス [1]、学校給食 [2]、ユッケ [3]、饅頭 [3] などが含まれる。

EHEC の感染が容易に起こるといふ、場合によっては 10 個以下の菌数でも成立する、小菌数での感染が成り立つことは、寿司や野菜など生や半生に近い状態で喫食する食品を食べる際に EHEC 感染が起こるかどうかの決定的な要因となる。寿司や“たたき”のような半生の肉は人気の高い食品であるため、1998 年にはイクラ寿司 [118] で、2001 年には牛たたき

[116] の喫食により EHEC O157 の集団発生事例があった。焼肉チェーンレストランでのユッケの喫食による EHEC O111 の集団発生事例 [3] では、EHEC O111:H8 が 181 名の患者のうち 85 名 (平均年齢は 20 歳) から分離され、そのうち 34 名が HUS を発症し 21 名が脳症を発症して 5 名の犠牲者が出た。HUS は 5 歳から 9 歳の年齢でもっともよく発生し、この年齢層は急性脳症の発症と有意に関連していた [194]。この集団発生事例では EHEC 111:H8 がチェーンレストランで使用していたユッケの原材料肉からも分離された。

野菜が原因となった集団発生事例もある。表 1 中の 2011 年に発生した 2 つの集団発生事例に加えて、野菜の喫食が原因となった集団発生事例が 4 つある [3]。EHEC O26:H11 による集団発生事例ではキャベツが原因となり、EHEC O157:H7 の集団発生事例では、なすと大葉の漬物による事例、大葉と大根おろしによる事例及びキュウリによる事例の 3 事例において原因菌が分離されている。2012 年には北海道札幌市で野菜の浅漬けによる EHEC O157:H7 の集団発生事例が起こっている [4]。原因食品から EHEC O157:H7

が分離されており、当該製品が広く流通していたことから、169名の患者が北海道の5つの高齢者施設、ホテル、飲食店と一般家庭および他県からも報告され、分離株のPFGEパターンとMLVAタイプが一致していた。169名の患者のうち73名からEHEC O157:H7が分離され8名の高齢者が亡くなった。2014年8月には、静岡県の花火大会中に売店で売られていたキュウリの浅漬けでEHEC O157による510名の食中毒が発生した [6]。

4. EHEC 感染症の制御

EHEC 感染症の散発事例において感染源が見いだされるのは稀であるが、集団発生事例では、牛の排泄物で汚染された環境と直接あるいは間接的に接触することで汚染された食品を原因として発生している場合がある。したがって、ヒトのEHEC感染症を低減させるためには、生産から消費までのフードチェーンにおけるすべての段階でEHECを低減あるいは除去する効果的な対策が必要となる。牛がEHECを保菌することを低減させるところから始まり喫食前の調理段階まで、食品を準備する全工程においてEHECを低減あるいは死滅させる対策が含まれていなければならない。農場の管理手法で、特に衛生管理および飼料や飲料水におけるEHECの増殖を抑制させるような手法は、肉牛農場や屠畜場におけるEHECの汚染を低減させる実用的な手段となり得るかもしれない [195]。食品製造において適正な衛生管理が実践されていることは微生物の汚染を最小にするうえで必須である。食品からEHECを死滅させるもっともよい方法は、加熱 [196, 197] や放射線照射 [198-201] のような細菌死滅の過程を導入することである。ヒトとヒトの接触が糞口感染を介したEHEC感染の重要な経路であることから、適正な衛生管理を実施することは、特にEHEC感染の可能性が高い人口集団が長時間一緒に過ごす保育園のような施設では重要である。また、保育園でのEHEC集団発生事例では罹患者がEHECを排出する平均期間として20から50日間が報告されている [202, 203, 142, 204] ことから、患児の下痢が収まるまでは登園を控えるなどの対策も考慮されるべきである。一般的には、食事およびおむつ交換やトイレの後に手洗いを習慣化することが保育園における感染予防に最善な方法である。

・食品媒介性 EHEC 感染症の予防対策

収穫前の食材の安全を確保するための介入手法としては、牛におけるEHEC O157の保菌や排出を低減さ

せるため、ワクチンの導入による手法が現在のところ最も効果的である。現在、牛のEHEC O157に対するワクチンは2種類のみが市販されている。3型分泌タンパク質に対するワクチン (Bioniche Life Sciences Inc., Belleville, Ontario, Canada) とシデロフォア受容体とポーリタンパク質 (Epitopix, LLC, Wilmar, MN, USA) に対するワクチンである。両方のワクチンが効果的に牛の糞便中のEHEC O157を低減させるという総説とメタ解析研究が報告されている [205-208]。

EHECの集団発生事例から学んだことが、長期的視点からは食品安全の確立に役立っていることもある。1993年のEHEC O157に汚染したハンバーガーによる複数州での集団発生事例 [209] を受けて米国農務省 (USDA) の食品安全検査局 (FSIS) は、翌年にEHEC O157:H7は牛ひき肉の「不純物；本来入ってはいけない物質」であると宣言した。これらの集団発生事例を受けて米国食品医薬品局 (FDA) はハンバーガー調理時の内部温度に関してより厳しいガイドラインを発出した [210]。FSISの宣言は1999年にあらゆる生牛肉製品にまで拡大された [211]。非O157のEHEC感染者数の増大と集団発生事例の増加を受けて、FSISは非O157EHECのリスクプロファイルの評価を行い、EHEC O157が唯一のハザードとは限らないという結論を出した [212]。さらに、2012年にFSISは、トリミングした牛肉や挽肉製品に対して検査等を義務付ける決定をした [213]。EHEC O157に加えて、O群がO26, O111, O103, O145, O121及びO45のEHECについては、これらの肉製品では不純物と認定され、サンプリング時の試験検査の対象となった。

EUでは、ヒト以外の感染源としてのEHECの危険度分類に関して限界があるものの、Karmaliが唱える血清-病原型A及びB [214] に関して科学者の間ではある程度の合意が形成されており、European Food Safety Authority (EFSA) もそれを承認した。このスキームは、疾患の重篤度と集団発生事例に関連した病原性及び血清学的な特徴にもとづいたものである。EHECの菌株で、O群がO157, O26, O111, O103, およびO145に属するものは、血清-病原型A及びBに分類された。EFSAは食品検査に血清-病原型A及びBに属するEHECに集中するよう奨励した [215, 216]。しかし、2011年にドイツおよび他のEU諸国で発生した、腸管凝集接着性EHEC O104:H4による甚大な集団発生事例により、欧州委員会はEUにおける他のEHEC危機に対する予防手段を講じることとなっ

た。EFSA はヒトが食べる野菜の種や発芽野菜を汚染し得る EHEC や他の病原性細菌による健康リスクの評価を依頼された [217, 218]。最終的に、EU は Regulation (EU) 209/2013 を発出し、発芽野菜における EHEC O157, O26, O111, O103, および O145 さらに EHEC O104:H4 の有無の基準を初めて立法化した。

日本では 1996 年以来 EHEC 感染症は報告義務のある疾患であるが、食中毒のサーベイランスシステムでも医師あるいは保健所長の判断で EHEC を原因とする食中毒と報告されることになっている。食品からの EHEC 検出法に関して、EHEC O157, O26 及び O111 の公的試験法 [219] が使われてきたが、非 O157 の EHEC 感染が増加していることを反映して、食品における EHEC O26, O103, O111, O121, O145, 及び O157 の新しい検査法 [220] が開発され検証されている [221]。この方法は、特定の O 群の EHEC を標的として、種々の酵素基質培地と USDA [222] 及び EFSA [216] でも使用されているリアルタイム PCR のような分子試験法を組み合わせたものである。生の牛肉を原因とする食中毒が持続することに対して厚生労働省は 2011 年 10 月に生食用の牛肉製品の規格基準を改定して交付した。さらに、EHEC O157 が牛肝臓の内部から検出された試験成績に鑑み、生食用の牛肝臓の販売を禁止した。恐らくこれらの予防対策の結果と考えられるが、2011 年から 2012 年の 1 年間における生肉の喫食による EHEC O157 の発生件数は半減した [4]。

5. まとめ

EHEC 感染症は、本菌に汚染された多様な食品によって発生が続いている。牛由来食品が本菌に汚染されることが EHEC 感染症の主因であるが、生鮮野菜の喫食、水や他の環境への暴露が本疾患の原因となることもあることから、EHEC の低減あるいは排除には食品製造過程における包括的な手段が必要なことを示している。しかしながら、今日種々の予防対策が取られているにもかかわらず、非 O157 EHEC による事例は検査方法の進展もあって漸増しつつあり、欧州では稀なカテゴリーである腸管凝集接着性大腸菌に属する EHEC による甚大な集団発生事例が起こった。これらは、食品安全を確保するうえで EHEC に対応しなくてはならない場合には、対策が複雑になることを示している。

EHEC 感染症のサーベイランス、特に検査室における分子解析方法を用いた菌株解析から、本菌の生態や遺伝子構成が複雑であることが明らかになってお

り、分離株の解析結果と疫学的な情報を組み合わせることが感染源解明に重要であることを示唆している。したがって、EHEC 感染症の効果的な予防対策の確立には、公衆衛生、食品及び獣医領域に関連する機関の協調的な関係が必須となる。

文献

- [1] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of May 2010. *Infect Agen Surv Rep*, 31, 152-153 (2010).
- [2] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2011. *Infect Agen Surv Rep*, 32, 125-126 (2011).
- [3] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2012. *Infect Agen Surv Rep*, 33, 115-116 (2012).
- [4] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2013. *Infect Agen Surv Rep*, 34, 123-124 (2013).
- [5] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2014. *Infect Agen Surv Rep*, 35, 117-118 (2014).
- [6] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2015. *Infect Agen Surv Rep*, 36, 73-74 (2015).
- [7] Nataro JP and Kaper JB : Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 11, 142-201 (1998).
- [8] Centers for Disease Control and Prevention : Isolation of *E. coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis—United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, 31, 585 (1982).
- [9] Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA and Cohen ML : Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med*, 308, 681-685 (1983).
- [10] Erickson MC and Doyle MP : Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Food Prot*, 70, 2426-2449 (2007).
- [11] Rodrigue DC, Mast EE, Greene KD, Davis JP, Hutchinson

- MA, Wells JG, Barrett TJ and Griffin PM : A university outbreak of *Escherichia coli* O157 : H7 infections associated with roast beef and an unusually benign clinical course. *J Infect Dis*, 172, 1122-1125 (1995).
- [12] Centers for Disease Control and Prevention : *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami—Washington and California, 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 44, 157-160 (1995).
- [13] Centers for Disease Control and Prevention : *Escherichia coli* O157 : H7 infections in children associated with raw milk and raw colostrum from cows—California, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 57, 625-628 (2008).
- [14] Guh A, Phan Q, Nelson R, Purviance K, Milardo E, Kinney S, Mshar P, Kasacek W and Cartter M : Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clin Infect Dis*, 51, 1411-1417 (2010).
- [15] Gaulin C, Levac E, Ramsay D, Dion R, Ismail J, Gingras S and Lacroix C : *Escherichia coli* O157 : H7 outbreak linked to raw milk cheese in Quebec, Canada: use of exact probability calculation and casecase study approaches to foodborne outbreak investigation. *J Food Prot*, 75, 812-818 (2012).
- [16] Gill A and Oudit D : Enumeration of *Escherichia coli* O157 in Outbreak-Associated Gouda Cheese Made with Raw Milk. *J Food Prot*, 78, 1733-1737 (2015).
- [17] Buvens G, Posse B, De Schrijver K, De Zutter L, Lauwers S and Pierard D : Virulence profiling and quantification of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O145: H28 and O26:H11 isolated during an ice cream-related hemolytic uremic syndrome outbreak. *Foodborne Pathog Dis*, 8, 421-426 (2011).
- [18] Morgan D, Newman CP, Hutchinson DN, Walker AM, Rowe B and Majid F : Verotoxin producing *Escherichia coli* O 157 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiol Infect*, 111, 181-187 (1993).
- [19] Taylor EV, Nguyen TA, Machesky KD, Koch E, Sotir MJ, Bohm SR, Folster JP, Bokanyi R, Kupper A, Bidol SA, Emanuel A, Arends KD, Johnson SA, Dunn J, Stroika S, Patel MK and Williams I : Multistate outbreak of *Escherichia coli* O145 infections associated with romaine lettuce consumption, 2010. *J Food Prot*, 76, 939-944 (2013).
- [20] Doyle MP and Erickson MC : Summer meeting 2007 - the problems with fresh produce: an overview. *J Appl Microbiol*, 105, 317-330 (2008).
- [21] Besser RE, Lett SM, Weber JT, Doyle MP, Barrett TJ, Wells JG and Griffin PM : An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157: H7 in fresh-pressed apple cider. *Jama*, 269, 2217-2220 (1993).
- [22] Centers for Disease Control and Prevention : Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection and cryptosporidiosis associated with drinking unpasteurized apple cider—Connecticut and New York, October 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 46, 4-8 (1997).
- [23] Tamblyn S, deGrosbois J, Taylor D and Stratton J : An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with unpasteurized non-commercial, custom-pressed apple cider—Ontario, 1998. *Can Commun Dis Rep*, 25, 113-117; discussion 117-120 (1999).
- [24] Hilborn ED, Mshar PA, Fiorentino TR, Dembek ZF, Barrett TJ, Howard RT and Cartter ML : An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and haemolytic uraemic syndrome associated with consumption of unpasteurized apple cider. *Epidemiol Infect*, 124, 31-36 (2000).
- [25] Beuchat LR : Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. *J Food Prot*, 59, 204-216 (1996).
- [26] Centers for Disease Control and Prevention : Ongoing multistate outbreak of *Escherichia coli* serotype O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach—United States, September 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 55, 1045-1046 (2006).
- [27] Michino H, Araki K, Minami S, Takaya S, Sakai N, Miyazaki M, Ono A and Yanagawa H : Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol*, 150, 787-796 (1999).
- [28] Watanabe Y, Ozasa K, Mermin JH, Griffin PM, Masuda K, Imashuku S and Sawada T : Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan. *Emerg Infect Dis*, 5, 424-428 (1999).
- [29] Centers for Disease Control and Prevention : Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating alfalfa sprouts—Michigan and Virginia, June-July 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 46, 741-744 (1997).
- [30] Trofa AF, Ueno-Olsen H, Oiwa R and Yoshikawa M : Dr. Kiyoshi Shiga : discoverer of the dysentery bacillus. *Clin Infect Dis*, 29, 1303-1306 (1999).
- [31] Konowalchuk J, Speirs JI and Stavric S : Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 18, 775-779 (1977).
- [32] O'Brien AD, LaVeck GD, Griffin DE and Thompson MR : Characterization of *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) toxin purified by anti-Shiga toxin affinity chromatography. *Infect Immun*, 30, 170-179 (1980).
- [33] Olsnes S and Eiklid K : Isolation and characterization of *Shigella shigae* cytotoxin. *J Biol Chem*, 255, 284-289 (1980).
- [34] O'Brien AO, Lively TA, Chen ME, Rothman SW and Formal SB : *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (SHIGA) like cytotoxin. *Lancet*, 1, 702 (1983).
- [35] Johnson WM, Lior H and Bezanson GS : Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet*, 1, 76 (1983).
- [36] Kaper JB and O'Brien AD : Overview and Historical Perspectives. *Microbiol Spectr*, 2, 3-13 (2014).

- [37] Strockbine NA, Marques LR, Newland JW, Smith HW, Holmes RK and O'Brien AD : Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. *Infect Immun*, 53, 135-140 (1986).
- [38] Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Pierard D, Buvens G, Karch H, Mellmann A, Caprioli A, Tozzoli R, Morabito S, Strockbine NA, Melton-Celsa AR, Sanchez M, Persson S and O'Brien AD : Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol*, 50, 2951-2963 (2012).
- [39] Scheutz F : Taxonomy Meets Public Health: The Case of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr*, 2 (2014).
- [40] Tesh VL, Burris JA, Owens JW, Gordon VM, Wadolowski EA, O'Brien AD and Samuel JE : Comparison of the relative toxicities of Shiga-like toxins type I and type II for mice. *Infect Immun*, 61, 3392-3402 (1993).
- [41] Louise CB and Obrig TG : Specific interaction of *Escherichia coli* O157:H7-derived Shiga-like toxin II with human renal endothelial cells. *J Infect Dis*, 172, 1397-1401 (1995).
- [42] Scotland SM, Willshaw GA, Smith HR and Rowe B : Properties of strains of *Escherichia coli* belonging to serogroup O157 with special reference to production of Vero cytotoxins VT1 and VT2. *Epidemiol Infect*, 99, 613-624 (1987).
- [43] Ostroff SM, Tarr PI, Neill MA, Lewis JH, Hargrett-Bean N and Kobayashi JM : Toxin genotypes and plasmid profiles as determinants of systemic sequelae in *Escherichia coli* O157:H7 infections. *J Infect Dis*, 160, 994-998 (1989).
- [44] Stein PE, Boodhoo A, Tyrrell GJ, Brunton JL and Read RJ : Crystal structure of the cell-binding B oligomer of verotoxin-1 from *E. coli*. *Nature*, 355, 748-750 (1992).
- [45] Fraser ME, Chernaiia MM, Kozlov YV and James MN : Crystal structure of the holotoxin from *Shigella dysenteriae* at 2.5 Å resolution. *Nat Struct Biol*, 1, 59-64 (1994).
- [46] Jacewicz M, Clausen H, Nudelman E, Donohue-Rolfe A and Keusch GT : Pathogenesis of shigella diarrhea. XI. Isolation of a shigella toxin-binding glycolipid from rabbit jejunum and HeLa cells and its identification as globotriaosylceramide. *J Exp Med*, 163, 1391-1404 (1986).
- [47] Lindberg AA, Brown JE, Stromberg N, Westling-Ryd M, Schultz JE and Karlsson KA : Identification of the carbohydrate receptor for Shiga toxin produced by *Shigella dysenteriae* type 1. *J Biol Chem*, 262, 1779-1785 (1987).
- [48] Waddell T, Cohen A and Lingwood CA : Induction of verotoxin sensitivity in receptor-deficient cell lines using the receptor glycolipid globotriaosylceramide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87, 7898-7901 (1990).
- [49] Garred O, Dubinina E, Holm PK, Olsnes S, van Deurs B, Kozlov JV and Sandvig K : Role of processing and intracellular transport for optimal toxicity of Shiga toxin and toxin mutants. *Exp Cell Res*, 218, 39-49 (1995).
- [50] Garred O, van Deurs B and Sandvig K : Furin-induced cleavage and activation of Shiga toxin. *J Biol Chem*, 270, 10817-10821 (1995).
- [51] Garred O, Dubinina E, Poleskaya A, Olsnes S, Kozlov J and Sandvig K : Role of the disulfide bond in Shiga toxin A-chain for toxin entry into cells. *J Biol Chem*, 272, 11414-11419 (1997).
- [52] LaPointe P, Wei X and Garipey J : A role for the protease-sensitive loop region of Shiga-like toxin 1 in the retrotranslocation of its A1 domain from the endoplasmic reticulum lumen. *J Biol Chem*, 280, 23310-23318 (2005).
- [53] Endo Y, Tsurugi K, Yutsudo T, Takeda Y, Ogasawara T and Igarashi K : Site of action of a Vero toxin (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosidase activity of the toxins. *Eur J Biochem*, 171, 45-50 (1988).
- [54] Saxena SK, O'Brien AD and Ackerman EJ : Shiga toxin, Shiga-like toxin II variant, and ricin are all single-site RNA N-glycosidases of 28 S RNA when microinjected into *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem*, 264, 596-601 (1989).
- [55] Hale TL and Formal SB : Cytotoxicity of *Shigella dysenteriae* 1 for cultured mammalian cells. *Am J Clin Nutr*, 33, 2485-2490 (1980).
- [56] Johannes L and Romer W : Shiga toxins--from cell biology to biomedical applications. *Nat Rev Microbiol*, 8, 105-116 (2010).
- [57] Waldor MK and Friedman DI : Phage regulatory circuits and virulence gene expression. *Curr Opin Microbiol*, 8, 459-465 (2005).
- [58] Calderwood SB and Mekalanos JJ : Iron regulation of Shiga-like toxin expression in *Escherichia coli* is mediated by the fur locus. *J Bacteriol*, 169, 4759-4764 (1987).
- [59] Wagner PL and Waldor MK : Bacteriophage control of bacterial virulence. *Infect Immun*, 70, 3985-3993 (2002).
- [60] Tyler JS, Mills MJ and Friedman DI : The operator and early promoter region of the Shiga toxin type 2-encoding bacteriophage 933W and control of toxin expression. *J Bacteriol*, 186, 7670-7679 (2004).
- [61] al-Jumaili I, Burke DA, Scotland SM, al-Mardini H and Record CO : A method of enhancing verocytotoxin production by *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*, 72, 121-125 (1992).
- [62] Wagner PL, Neely MN, Zhang X, Acheson DW, Waldor MK and Friedman DI : Role for a phage promoter in Shiga toxin 2 expression from a pathogenic *Escherichia coli* strain. *J Bacteriol*, 183, 2081-2085 (2001).
- [63] McDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS and Kaper JB : A genetic locus of enterocyte effacement conserved

- among diverse enterobacterial pathogens. Proc Natl Acad Sci U S A, 92, 1664-1668 (1995).
- [64] Moon HW, Whipp SC, Argenzio RA, Levine MM and Giannella RA : Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. Infect Immun, 41, 1340-1351 (1983).
- [65] Jerse AE, Yu J, Tall BD and Kaper JB : A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. Proc Natl Acad Sci U S A, 87, 7839-7843 (1990).
- [66] Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP and Gyles CL : Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. J Clin Microbiol, 37, 497-503 (1999).
- [67] Kaper JB, Mellies, J.L., Nataro, J. : Pathogenicity islands and other mobile genetic elements of diarrheagenic *Escherichia coli*. Washington, D.C., ASM Press (1999).
- [68] Kenny B, DeVinney R, Stein M, Reinscheid DJ, Frey EA and Finlay BB : Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. Cell, 91, 511-520 (1997).
- [69] Elliott SJ, Wainwright LA, McDaniel TK, Jarvis KG, Deng YK, Lai LC, McNamara BP, Donnenberg MS and Kaper JB : The complete sequence of the locus of enterocyte effacement (LEE) from enteropathogenic *Escherichia coli* E2348/69. Mol Microbiol, 28, 1-4 (1998).
- [70] Perna NT, Mayhew GF, Posfai G, Elliott S, Donnenberg MS, Kaper JB and Blattner FR : Molecular evolution of a pathogenicity island from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. Infect Immun, 66, 3810-3817 (1998).
- [71] Stevens MP and Frankel GM : The Locus of Enterocyte Effacement and Associated Virulence Factors of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Microbiol Spectr, 2, EHEC-0007-2013 (2014).
- [72] Yu J and Kaper JB : Cloning and characterization of the eae gene of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. Mol Microbiol, 6, 411-417 (1992).
- [73] DeVinney R, Stein M, Reinscheid D, Abe A, Ruschkowski S and Finlay BB : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 produces Tir, which is translocated to the host cell membrane but is not tyrosine phosphorylated. Infect Immun, 67, 2389-2398 (1999).
- [74] Ross BN, Rojas-Lopez M, Cieza RJ, McWilliams BD and Torres AG : The Role of Long Polar Fimbriae in *Escherichia coli* O104:H4 Adhesion and Colonization. PloS one, 10, e0141845 (2015).
- [75] McWilliams BD and Torres AG : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Adhesins. Microbiol Spectr, 2 (2014).
- [76] Arnold KW and Kaspar CW : Starvation- and stationary-phase-induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. Appl Environ Microbiol, 61, 2037-2039 (1995).
- [77] Benjamin MM and Datta AR : Acid tolerance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Appl Environ Microbiol, 61, 1669-1672 (1995).
- [78] Conner DE and Kotrola JS : Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 under acidic conditions. Appl Environ Microbiol, 61, 382-385 (1995).
- [79] Cheville AM, Arnold KW, Buchrieser C, Cheng CM and Kaspar CW : rpoS regulation of acid, heat, and salt tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. Appl Environ Microbiol, 62, 1822-1824 (1996).
- [80] Paton AW, Ratcliff RM, Doyle RM, Seymour-Murray J, Davos D, Lanser JA and Paton JC : Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. J Clin Microbiol, 34, 1622-1627 (1996).
- [81] Tilden J, Jr., Young W, McNamara AM, Custer C, Boesel B, Lambert-Fair MA, Majkowski J, Vugia D, Werner SB, Hollingsworth J and Morris JG, Jr. : A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. Am J Public Health, 86, 1142-1145 (1996).
- [82] Miller LGK, C.W. : *Escherichia coli* O157:H7 Acid Tolerance and Survival in Apple Cider. J Food Prot, 57, 460-546 (1994).
- [83] Dineen SS, Takeuchi K, Soudah JE and Boor KJ : Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy fermentation systems. J Food Prot, 61, 1602-1608 (1998).
- [84] Hudson LM, Chen, J., Hill, A.R., Griffiths, M.W. : Bioluminescence: a rapid indicator of *Escherichia coli* O157:H7 in selected yogurt and cheese varieties. J Food Prot, 60, 891-897 (1997).
- [85] Foster JW : *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. Nat Rev Microbiol, 2, 898-907 (2004).
- [86] Castanie-Cornet MP, Penfound TA, Smith D, Elliott JF and Foster JW : Control of acid resistance in *Escherichia coli*. J Bacteriol, 181, 3525-3535 (1999).
- [87] Gyles CL : Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. J Anim Sci, 85, E45-62 (2007).
- [88] La Ragione RM, Best A, Woodward MJ and Wales AD : *Escherichia coli* O157:H7 colonization in small domestic ruminants. FEMS Microbiol Rev, 33, 394-410 (2009).
- [89] Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S and Scheutz F : Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. J Clin Microbiol, 31, 2483-2488 (1993).
- [90] Trevena WB, Hooper RS, Wray C, Willshaw GA, Cheasty T and Domingue G : Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 associated with companion animals. Vet Rec, 138, 400 (1996).
- [91] Ferens WA and Hovde CJ : *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. Foodborne Pathog Dis, 8, 465-487 (2011).
- [92] Persad AK and LeJeune JT : Animal Reservoirs of Shiga

- Toxin-Producing *Escherichia coli*. Microbiol Spectr, 2, EHEC-0027-2014 (2014).
- [93] Gourmelon M, Montet MP, Lozach S, Le Mennec C, Pommepey M, Beutin L and Vernozy-Rozand C : First isolation of Shiga toxin 1d producing *Escherichia coli* variant strains in shellfish from coastal areas in France. J Appl Microbiol, 100, 85-97 (2006).
- [94] Manna SK, Das R and Manna C : Microbiological quality of finfish and shellfish with special reference to shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157. J Food Sci, 73, M283-286 (2008).
- [95] Bennani M, Badri S, Baibai T, Oubrim N, Hassar M, Cohen N and Amarouch H : First detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in shellfish and coastal environments of Morocco. Appl Biochem Biotechnol, 165, 290-299 (2011).
- [96] Sasaki Y, Murakami M, Maruyama N, Yamamoto K, Haruna M, Ito K and Yamada Y : Comparison of the prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains O157 and O26 between beef and dairy cattle in Japan. J Vet Med Sci, 75, 1219-1221 (2013).
- [97] Sasaki Y, Tsujiyama Y, Kusakawa M, Murakami M, Katayama S and Yamada Y : Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and O26 in beef farms. Vet Microbiol, 150, 140-145 (2011).
- [98] Kobayashi H, Kanazaki M, Ogawa T, Iyoda S and Hara-Kudo Y : Changing prevalence of O-serogroups and antimicrobial susceptibility among STEC strains isolated from healthy dairy cows over a decade in Japan between 1998 and 2007. J Vet Med Sci, 71, 363-366 (2009).
- [99] O'Brien AD, Melton AR, Schmitt CK, McKee ML, Batts ML and Griffin DE : Profile of *Escherichia coli* O157:H7 pathogen responsible for hamburger-borne outbreak of hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome in Washington. J Clin Microbiol, 31, 2799-2801 (1993).
- [100] Roberts CL, Mshar PA, Cartter ML, Hadler JL, Sosin DM, Hayes PS and Barrett TJ : The role of heightened surveillance in an outbreak of *Escherichia coli* O157:H7. Epidemiol Infect, 115, 447-454 (1995).
- [101] Shefer AM, Koo D, Werner SB, Mintz ED, Baron R, Wells JG, Barrett TJ, Ginsberg M, Bryant R, Abbott S and Griffin PM : A cluster of *Escherichia coli* O157:H7 infections with the hemolytic-uremic syndrome and death in California. A mandate for improved surveillance. West J Med, 165, 15-19 (1996).
- [102] Cieslak PR, Noble SJ, Maxson DJ, Empey LC, Ravenholt O, Legarza G, Tuttle J, Doyle MP, Barrett TJ, Wells JG, McNamara AM and Griffin PM : Hamburger-associated *Escherichia coli* O157:H7 infection in Las Vegas: a hidden epidemic. Am J Public Health, 87, 176-180 (1997).
- [103] Torso LM, Voorhees RE, Forest SA, Gordon AZ, Silvestri SA, Kissler B, Schlackman J, Sandt CH, Toma P, Bachert J, Mertz KJ and Harrison LH : *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Associated with Restaurant Beef Grinding. J Food Prot, 78, 1272-1279 (2015).
- [104] Mead PS, Finelli L, Lambert-Fair MA, Champ D, Townes J, Hutwagner L, Barrett T, Spitalny K and Mintz E : Risk factors for sporadic infection with *Escherichia coli* O157:H7. Archives of internal medicine, 157, 204-208 (1997).
- [105] Rivas M, Caletti MG, Chinen I, Refi SM, Roldan CD, Chillemi G, Fiorilli G, Bertolotti A, Aguerre L and Sosa Estani S : Home-prepared hamburger and sporadic hemolytic uremic syndrome, Argentina. Emerg Infect Dis, 9, 1184-1186 (2003).
- [106] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection 2010 (in Japanese). Infec. Dis. Weekly. Rep., 13, 11-19 (2011).
- [107] Ackers ML, Mahon BE, Leahy E, Goode B, Damrow T, Hayes PS, Bibb WF, Rice DH, Barrett TJ, Hutwagner L, Griffin PM and Slutsker L : An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. J Infect Dis, 177, 1588-1593 (1998).
- [108] Grant J, Wendelboe AM, Wendel A, Jepson B, Torres P, Smelser C and Rolfs RT : Spinach-associated *Escherichia coli* O157:H7 outbreak, Utah and New Mexico, 2006. Emerg Infect Dis, 14, 1633-1636 (2008).
- [109] Beutin L and Martin A : Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104:H4 infection in Germany causes a paradigm shift with regard to human pathogenicity of STEC strains. J Food Prot, 75, 408-418 (2012).
- [110] Erickson MC, Doyle, M.P. : Plant food safety issues: linking production agriculture with One Health, In Improving food safety through a One Health approach—workshop summary. Institute of Medicine, National Academies Press, Washington, DC., 140-175 (2012).
- [111] Solomon EB, Pang HJ and Matthews KR : Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce plants following spray irrigation with contaminated water. J Food Prot, 66, 2198-2202 (2003).
- [112] Wachtel MR, Whitehand LC and Mandrell RE : Association of *Escherichia coli* O157:H7 with preharvest leaf lettuce upon exposure to contaminated irrigation water. J Food Prot, 65, 18-25 (2002).
- [113] Porto-Fett AC, Hwang CA, Call JE, Juneja VK, Ingham SC, Ingham BH and Luchansky JB : Viability of multi-strain mixtures of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, or *Escherichia coli* O157:H7 inoculated into the batter or onto the surface of a soudjouk-style fermented semi-dry sausage. Food Microbiol, 25, 793-801 (2008).
- [114] Hwang CA, Porto-Fett AC, Juneja VK, Ingham SC, Ingham BH and Luchansky JB : Modeling the survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and

- Salmonella* Typhimurium during fermentation, drying, and storage of soudjouk-style fermented sausage. International journal of food microbiology, 129, 244-252 (2009).
- [115] Sartz L, De Jong B, Hjertqvist M, Plym-Forsell L, Alsterlund R, Lofdahl S, Osterman B, Stahl A, Eriksson E, Hansson HB and Karpman D : An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in southern Sweden associated with consumption of fermented sausage; aspects of sausage production that increase the risk of contamination. Epidemiol Infect, 136, 370-380 (2008).
- [116] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection as of April 2002. Infec. Agen. Surv. Rep, 23, 137-138 (2002).
- [117] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection as of May 2003. Infec. Agen. Surv. Rep, 24, 129-130 (2003).
- [118] Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Tamura K and Watanabe H : Detection of a multi-prefectural *E. coli* O157:H7 outbreak caused by contaminated Ikura-Sushi ingestion. Jpn J Infect Dis, 52, 52-53 (1999).
- [119] Strachan NJ, Fenlon DR and Ogden ID : Modelling the vector pathway and infection of humans in an environmental outbreak of *Escherichia coli* O157. FEMS Microbiol Lett, 203, 69-73 (2001).
- [120] Ogden ID, Hepburn NF, MacRae M, Strachan NJ, Fenlon DR, Rusbridge SM and Pennington TH : Long-term survival of *Escherichia coli* O157 on pasture following an outbreak associated with sheep at a scout camp. Lett Appl Microbiol, 34, 100-104 (2002).
- [121] Mukherjee A, Cho S, Scheftel J, Jawahir S, Smith K and Diez-Gonzalez F : Soil survival of *Escherichia coli* O157:H7 acquired by a child from garden soil recently fertilized with cattle manure. J Appl Microbiol, 101, 429-436 (2006).
- [122] Keen JE, Wittum TE, Dunn JR, Bono JL and Durso LM : Shiga-toxicogenic *Escherichia coli* O157 in agricultural fair livestock, United States. Emerg Infect Dis, 12, 780-786 (2006).
- [123] Keen JE, Durso LM and Meehan TP : Isolation of *Salmonella enterica* and Shiga-toxicogenic *Escherichia coli* O157 from feces of animals in public contact areas of United States zoological parks. Appl Environ Microbiol, 73, 362-365 (2007).
- [124] Centers for Disease Control and Prevention : Notes from the field: *Escherichia coli* O157:H7 gastroenteritis associated with a State Fair - North Carolina, 2011. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 60, 1745-1746 (2012).
- [125] Varma JK, Greene KD, Reller ME, DeLong SM, Trottier J, Nowicki SF, DiOrio M, Koch EM, Bannerman TL, York ST, Lambert-Fair MA, Wells JG and Mead PS : An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. JAMA, 290, 2709-2712 (2003).
- [126] Lanier WA, Hall JM, Herlihy RK, Rolfs RT, Wagner JM, Smith LH and Hyytia-Trees EK : Outbreak of Shiga-toxicogenic *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with rodeo attendance, Utah and Idaho, 2009. Foodborne Pathog Dis, 8, 1131-1133 (2011).
- [127] Berry ED, Wells JE, Bono JL, Woodbury BL, Kalchayanand N, Norman KN, Suslow TV, Lopez-Velasco G and Millner PD : Effect of proximity to a cattle feedlot on *Escherichia coli* O157:H7 contamination of leafy greens and evaluation of the potential for airborne transmission. Appl Environ Microbiol, 81, 1101-1110 (2015).
- [128] Chalmers RM, Aird H and Bolton FJ : Waterborne *Escherichia coli* O157. Symp Ser Soc Appl Microbiol, 124S-132S (2000).
- [129] Muniesa M, Jofre J, Garcia-Aljaro C and Blanch AR : Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the environment. Environ Sci Technol, 40, 7141-7149 (2006).
- [130] Friedman MS, Roels T, Koehler JE, Feldman L, Bibb WF and Blake P : *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with an improperly chlorinated swimming pool. Clin Infect Dis, 29, 298-303 (1999).
- [131] Samadpour M, Stewart J, Steingart K, Addy C, Louderback J, McGinn M, Ellington J and Newman T : Laboratory investigation of an *E. coli* O157:H7 outbreak associated with swimming in Battle Ground Lake, Vancouver, Washington. Journal of environmental health, 64, 16-20, 26, 25 (2002).
- [132] Verma A, Bolton FJ, Fiefield D, Lamb P, Woloschin E, Smith N and McCann R : An outbreak of *E. coli* O157 associated with a swimming pool: an unusual vehicle of transmission. Epidemiol Infect, 135, 989-992 (2007).
- [133] Olsen SJ, Miller G, Breuer T, Kennedy M, Higgins C, Walford J, McKee G, Fox K, Bibb W and Mead P : A waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and hemolytic uremic syndrome: implications for rural water systems. Emerg Infect Dis, 8, 370-375 (2002).
- [134] Bopp DJ, Sauders BD, Waring AL, Ackelsberg J, Dumas N, Braun-Howland E, Dziejewski D, Wallace BJ, Kelly M, Halse T, Musser KA, Smith PF, Morse DL and Limberger RJ : Detection, isolation, and molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* associated with a large waterborne outbreak. J Clin Microbiol, 41, 174-180 (2003).
- [135] Hruday SE, Payment P, Huck PM, Gillham RW and Hruday EJ : A fatal waterborne disease epidemic in Walkerton, Ontario: comparison with other waterborne outbreaks in the developed world. Water Sci Technol, 47, 7-14 (2003).

- [136] National Association of State Public Health Veterinarians INCfDCaPC : Compendium of measures to prevent disease associated with animals in public settings, 2011: National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. MMWR Recomm Rep, 60, 1-24 (2011).
- [137] Goode B, O'Reilly C, Dunn J, Fullerton K, Smith S, Ghneim G, Keen J, Durso L, Davies M and Montgomery S : Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections after Petting Zoo visits, North Carolina State Fair, October-November 2004. Arch Pediatr Adolesc Med, 163, 42-48 (2009).
- [138] Waguri A, Sakuraba M, Sawada Y, Abe K, Onishi M, Tanaka J, Kudo Y and Saito K : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infection presumably caused by contact with infected cows, Aomori Prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis, 60, 321-322 (2007).
- [139] Ihekweazu C, Carroll K, Adak B, Smith G, Pritchard GC, Gillespie IA, Verlander NQ, Harvey-Vince L, Reacher M, Edeghere O, Sultan B, Cooper R, Morgan G, Kinross PT, Boxall NS, Iversen A and Bickler G : Large outbreak of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infection in visitors to a petting farm in South East England, 2009. Epidemiol Infect, 140, 1400-1413 (2012).
- [140] Rowell S, King C, Jenkins C, Dallman TJ, Decraene V, Lamden K, Howard A, Featherstone CA and Cleary P : An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O157 linked to a lamb-feeding event. Epidemiol Infect, 144, 2494-2500 (2016).
- [141] Wikswo ME, Hall AJ, Centers for Disease C and Prevention : Outbreaks of acute gastroenteritis transmitted by person-to-person contact--United States, 2009-2010. MMWR Surveill Summ, 61, 1-12 (2012).
- [142] Brown JA, Hite DS, Gillim-Ross LA, Maguire HF, Bennett JK, Patterson JJ, Comstock NA, Watkins AK, Ghosh TS and Vogt RL : Outbreak of shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotype O26:H11 infection at a child care center in Colorado. Pediatr Infect Dis J, 31, 379-383 (2012).
- [143] Gallagher L, Soyemi K, Conover C, Austin C, Saathoff-Huber L, Nelson S, Chudoba M and Vernon M : Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in a child care center in Cook County, Illinois, with prolonged shedding and household transmission. Am J Infect Control, 41, 936-938 (2013).
- [144] MacDonald E, Dalane PK, Aavitsland P, Brandal LT, Wester AL and Vold L : Implications of screening and childcare exclusion policies for children with Shiga-toxin producing *Escherichia coli* infections: lessons learned from an outbreak in a daycare centre, Norway, 2012. BMC infectious diseases, 14, 673 (2014).
- [145] Kanayama A, Yahata Y, Arima Y, Takahashi T, Saitoh T, Kanou K, Kawabata K, Sunagawa T, Matsui T and Oishi K : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* outbreaks related to childcare facilities in Japan, 2010-2013. BMC infectious diseases, 15, 539 (2015).
- [146] Ostroff SM, Kobayashi JM and Lewis JH : Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. The first year of statewide disease surveillance. JAMA, 262, 355-359 (1989).
- [147] Griffin PM : *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Infections of the gastrointestinal tract. S. P. Blaser MJ, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL. New York, Raven Press: 739-761 (1995).
- [148] Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS and Lior H : The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. J Infect Dis, 151, 775-782 (1985).
- [149] Pavia AT, Nichols CR, Green DP, Tauxe RV, Mottice S, Greene KD, Wells JG, Siegler RL, Brewer ED, Hannon D and et al. : Hemolytic-uremic syndrome during an outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections in institutions for mentally retarded persons: clinical and epidemiologic observations. The Journal of pediatrics, 116, 544-551 (1990).
- [150] Bell BP, Griffin PM, Lozano P, Christie DL, Kobayashi JM and Tarr PI : Predictors of hemolytic uremic syndrome in children during a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections. Pediatrics, 100, E12 (1997).
- [151] Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL and Tarr PI : The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. N Engl J Med, 342, 1930-1936 (2000).
- [152] Pai CH, Ahmed N, Lior H, Johnson WM, Sims HV and Woods DE : Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: a two-year prospective study. J Infect Dis, 157, 1054-1057 (1988).
- [153] Huppertz HI, Busch D, Schmidt H, Aleksic S and Karch H : Diarrhea in young children associated with *Escherichia coli* non-O157 organisms that produce Shiga-like toxin. The Journal of pediatrics, 128, 341-346 (1996).
- [154] Hedican EB, Medus C, Besser JM, Juni BA, Koziol B, Taylor C and Smith KE : Characteristics of O157 versus non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in Minnesota, 2000-2006. Clin Infect Dis, 49, 358-364 (2009).
- [155] Siegler RL : The hemolytic uremic syndrome. Pediatric clinics of North America, 42, 1505-1529 (1995).
- [156] Gould LH, Demma L, Jones TF, Hurd S, Vugia DJ, Smith K, Shiferaw B, Segler S, Palmer A, Zansky S and Griffin PM: Hemolytic uremic syndrome and death in persons with *Escherichia coli* O157:H7 infection, foodborne diseases active surveillance network sites, 2000-2006. Clin Infect Dis, 49, 1480-1485 (2009).
- [157] Germinario C, Caprioli A, Giordano M, Chironna M, Gallone MS, Tafuri S, Minelli F, Maugliani A, Michelacci V, Santangelo L, Mongelli O, Montagna C, Scavia G and all

- participants of the Outbreak investigation t : Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O26:H11 in southern Italy, summer 2013. *Euro Surveill*, 21 (2016).
- [158] European Centre for Disease Prevention and Control : Annual epidemiological report for 2016. Stockholm, ECDC (2016).
- [159] Rivas M, Chinen I, Miliwebsky E and Masana M : Risk Factors for Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*-Associated Human Diseases. *Microbiol Spectr*, 2 (2014).
- [160] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2009. *Infec Agen Surv Rep*, 30, 119-120 (2009).
- [161] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection 2006, 2007. *Infec. Dis. Weekly. Rep.*, 11, 16-22. Japanese (2009).
- [162] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection 2009. *Infec. Dis. Weekly. Rep.*, 12, 11-19. Japanese (2010).
- [163] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection 2011. *Infec. Dis. Weekly. Rep.*, 14, 9-19. Japanese (2012).
- [164] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Hemolytic uraemic syndrome that appeared in NESID: trends in 2012. *Infec. Agen. Surv. Rep*, 34, 140-141 (2013).
- [165] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Hemolytic uraemic syndrome among EHEC patients in Japan, 2013. *Infec. Agen. Surv. Rep*, 35, 130-132. Japanese (2014).
- [166] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Hemolytic uraemic syndrome among EHEC patients in Japan, 2014. *Infec. Agen. Surv. Rep*, 36, 84-86. Japanese (2015).
- [167] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Hemolytic uraemic syndrome among EHEC patients in Japan, 2015. *Infec. Agen. Surv. Rep*, 37, 97-98. Japanese (2016).
- [168] Boyce TG, Swerdlow DL and Griffin PM : *Escherichia coli* O157:H7 and the hemolytic-uraemic syndrome. *N Engl J Med*, 333, 364-368 (1995).
- [169] Tarr PI, Gordon CA and Chandler WL : Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*, 365, 1073-1086 (2005).
- [170] Adams DA, Thomas KR, Jajosky RA, Foster L, Sharp P, Onweh DH, Schley AW, Anderson WJ and Nationally Notifiable Infectious Conditions G : Summary of Notifiable Infectious Diseases and Conditions - United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 63, 1-152 (2016).
- [171] Centers for Disease Control and Prevention : Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) : FoodNet Surveillance Report for 2014 (Final Report). Atlanta, Georgia, U.S. Department of Health and Human Services, CDC (2014).
- [172] Tseng M, Sha Q, Rudrik JT, Collins J, Henderson T, Funk JA and Manning SD : Increasing incidence of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Michigan and association with clinical illness. *Epidemiol Infect*, 144, 1394-1405 (2016).
- [173] Manning SD, Madera RT, Schneider W, Dietrich SE, Khalife W, Brown W, Whittam TS, Somsel P and Rudrik JT : Surveillance for Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Michigan, 2001-2005. *Emerg Infect Dis*, 13, 318-321 (2007).
- [174] Stigi KA, Macdonald JK, Tellez-Marfin AA and Lofy KH : Laboratory practices and incidence of non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Emerg Infect Dis*, 18, 477-479 (2012).
- [175] Gould LH, Mody RK, Ong KL, Clogher P, Cronquist AB, Garman KN, Lathrop S, Medus C, Spina NL, Webb TH, White PL, Wymore K, Gierke RE, Mahon BE and Griffin For The Emerging Infections Program Foodnet Working Group PM : Increased Recognition of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections in the United States During 2000-2010: Epidemiologic Features and Comparison with *E. coli* O157 Infections. *Foodborne Pathog Dis*, 10, 453-460 (2013).
- [176] Canada Go : Canadian National Enteric Pathogen Surveillance System (FoodNet Canada) 2015. Guelph, ON, Public Health Agency of Canada (2015).
- [177] Institute of Environmental Science, and Research : Notifiable disease; N002 - Trend rates by year since 1997 2016, from <http://www.nzpho.org.nz/NotifiableDisease.aspx> (2016).
- [178] Vally H, Hall G, Dyda A, Raupach J, Knope K, Combs B and Desmarchelier P : Epidemiology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in Australia, 2000-2010. *BMC public health*, 12, 63 (2012).
- [179] National Notifiable Diseases Surveillance System and Annual Report Working Group : Australia's notifiable disease status, 2011: Annual report of the National Notifiable Diseases Surveillance System. *Communicable Diseases Intelligence*, 37, E313-E393 (2013).
- [180] National Notifiable Diseases Surveillance System and

- Annual Report Working Group : Australia's notifiable disease status, 2013: Annual report of the National Notifiable Diseases Surveillance System. Communicable Diseases Intelligence, 39, E387-478 (2015).
- [181] National Notifiable Diseases Surveillance System and Annual Report Working Group : Australia's notifiable disease status, 2012: Annual report of the National Notifiable Diseases Surveillance System. Communicable Diseases Intelligence, 39, E46-E136 (2015).
- [182] National Notifiable Diseases Surveillance System and Annual Report Working Group : Australia's notifiable disease status, 2014: Annual report of the National Notifiable Diseases Surveillance System. Communicable Diseases Intelligence, 40, E48-E145 (2016).
- [183] Terajima J, Iyoda S, Ohnishi M and Watanabe H : Shiga Toxin (Verotoxin)-Producing *Escherichia coli* in Japan. Microbiol Spectr, 2 (2014).
- [184] Bielaszewska M, Mellmann A, Bletz S, Zhang W, Kock R, Kossow A, Prager R, Fruth A, Orth-Holler D, Marejkova M, Morabito S, Caprioli A, Pierard D, Smith G, Jenkins C, Curova K and Karch H : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H-: a new virulent clone emerges in Europe. Clin Infect Dis, 56, 1373-1381 (2013).
- [185] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2001. Infec. Agen. Surv. Rep, 22, 135-136 (2001).
- [186] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2016. Infec. Agen. Surv. Rep, 37, 85-86 (2016).
- [187] Watanabe H, Terajima J, Izumiya H, Iyoda S and Tamura K : [PulseNet Japan: surveillance system for the early detection of diffuse outbreak based on the molecular epidemiological method]. Kansenshogaku Zasshi, 76, 842-848 (2002).
- [188] Swaminathan B, Gerner-Smidt P, Ng LK, Lukinmaa S, Kam KM, Rolando S, Gutierrez EP and Binsztein N : Building PulseNet International: an interconnected system of laboratory networks to facilitate timely public health recognition and response to foodborne disease outbreaks and emerging foodborne diseases. Foodborne Pathog Dis, 3, 36-50 (2006).
- [189] Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Mitobe J, Miura M and Watanabe H : Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japan. Foodborne Pathog Dis, 3, 68-73 (2006).
- [190] Centers for Disease Control and Prevention : *Escherichia coli* O157:H7 Infections Associated with Ground Beef from a U.S. Military Installation -- Okinawa, Japan, February 2004. Morbid. Mortal. Weelky Rep., 54, 40-42 (2005).
- [191] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection as of May 2004, Japan. Infec. Agen. Surv. Rep, 25, 138-139 (2004).
- [192] Kato K, Shimoura R, Nashimura K, Yoshifuzi K, Shiroshita K, Sakurai N, Kodama H and Kuramoto S : Outbreak of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 among high school participants in excursion to Korea. Jpn J Infect Dis, 58, 332-333 (2005).
- [193] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2008. Infec. Agen. Surv. Rep, 29, 117-118 (2008).
- [194] Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N and Team EcOOI : Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect, 143, 2721-2732 (2015).
- [195] Hancock DD, Besser TE and Rice DH : Ecology of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle and impact of management practices. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. J. B. Kaper and A. D. O'Brien, Washington, DC, ASM Press: 85-91 (1998).
- [196] U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, : Compliance guideline for validating cooking instructions for mechanically tenderized beef products. Department of Agriculture (2013).
- [197] Gill CO, Devos J, Badoni M and Yang X : Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Beef Roasts Cooked in Conventional or Convection Ovens or in a Slow Cooker under Selected Conditions. J Food Prot, 79, 205-212 (2016).
- [198] Thayer DW and Boyd G : Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation. Appl Environ Microbiol, 59, 1030-1034 (1993).
- [199] Thayer DW, Rajkowski KT, Boyd G, Cooke PH and Soroka DS : Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and Salmonella by gamma irradiation of alfalfa seed intended for production of food sprouts. J Food Prot, 66, 175-181 (2003).
- [200] Rezende AC, Igarashi MC, Destro MT, Franco BD and Landgraf M : Effect of gamma radiation on the reduction of *Salmonella* strains, *Listeria monocytogenes*, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and sensory evaluation of minimally processed spinach (*Tetragonia expansa*). J Food Prot, 77, 1768-1772 (2014).
- [201] Sommers C, Rajkowski KT, Scullen OJ, Cassidy J, Fratamico P and Sheen S : Inactivation of Shiga toxin-

- producing *Escherichia coli* in lean ground beef by gamma irradiation. *Food Microbiol*, 49, 231-234 (2015).
- [202] Shah S, Hoffman R, Shillam P and Wilson B : Prolonged fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 during an outbreak at a day care center. *Clin Infect Dis*, 23, 835-836 (1996).
- [203] Wahl E, Vold L, Lindstedt BA, Bruheim T and Afset JE : Investigation of an *Escherichia coli* O145 outbreak in a child day-care centre--extensive sampling and characterization of eae- and stx1-positive *E. coli* yields epidemiological and socioeconomic insight. *BMC infectious diseases*, 11, 238 (2011).
- [204] Dabke G, Le Menach A, Black A, Gamblin J, Palmer M, Boxall N and Booth L : Duration of shedding of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in children and risk of transmission in childcare facilities in England. *Epidemiol Infect*, 142, 327-334 (2014).
- [205] Snedeker KG, Campbell M and Sargeant JM : A systematic review of vaccinations to reduce the shedding of *Escherichia coli* O157 in the faeces of domestic ruminants. *Zoonoses and public health*, 59, 126-138 (2012).
- [206] Varela NP, Dick P and Wilson J : Assessing the existing information on the efficacy of bovine vaccination against *Escherichia coli* O157:H7--a systematic review and meta-analysis. *Zoonoses and public health*, 60, 253-268 (2013).
- [207] Vogstad AR, Moxley RA, Erickson GE, Klopfenstein TJ and Smith DR : Assessment of heterogeneity of efficacy of a three-dose regimen of a type III secreted protein vaccine for reducing STEC O157 in feces of feedlot cattle. *Foodborne Pathog Dis*, 10, 678-683 (2013).
- [208] Vogstad AR, Moxley RA, Erickson GE, Klopfenstein TJ and Smith DR : Stochastic simulation model comparing distributions of STEC O157 faecal shedding prevalence between cattle vaccinated with type III secreted protein vaccines and non-vaccinated cattle. *Zoonoses and public health*, 61, 283-289 (2014).
- [209] Barrett TJ, Lior H, Green JH, Khakhria R, Wells JG, Bell BP, Greene KD, Lewis J and Griffin PM : Laboratory investigation of a multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. *J Clin Microbiol*, 32, 3013-3017 (1994).
- [210] U.S. Department of Health, and Human Services : Food Code 1997. section 3-401.11. (1997).
- [211] U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, : FSIS Policy on Nonintact Raw Beef Products Contaminated with *E. coli* O157:H7 (1999).
- [212] U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, : Risk Profile for Pathogenic Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (non-O157 STEC). Department of Agriculture (2012).
- [213] U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, : Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in certain raw beef products. Federal Register, 76, 58157-58165 (2011).
- [214] Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, Isaac-Renton J, Clark C, Rahn K and Kaper JB : Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *J Clin Microbiol*, 41, 4930-4940 (2003).
- [215] European Food Safety Authority, Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) : Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from EFSA on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. *EFSA Journal*, 579, 1-61 (2007).
- [216] European Food Safety Authority : Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food) on request of EFSA. *EFSA Journal*, 7, 1366-1408 (2009).
- [217] European Food Safety Authority, Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) : Scientific Opinion on the risk posed by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and other pathogenic bacteria in seeds and sprouted seeds. *EFSA Journal*, 9, 2424-2524 (2011).
- [218] European Food Safety Authority, Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) : Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA Journal*, 11, 3138-3243 (2013).
- [219] Ministry of Health, Labour and Welfare : Notification No. 1217 (17 December 2012) (2012).
- [220] Ministry of Health, Labour and Welfare : Notification No. 1120 (20 November 2014) (2014).
- [221] Hara-Kudo Y, Konishi N, Ohtsuka K, Iwabuchi K, Kikuchi R, Isobe J, Yamazaki T, Suzuki F, Nagai Y, Yamada H, Tanouchi A, Mori T, Nakagawa H, Ueda Y and Terajima J : An interlaboratory study on efficient detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O103, O111, O121, O145, and O157 in food using real-time PCR assay and chromogenic agar. *International journal of food microbiology*, 230, 81-88 (2016).
- [222] U.S. Department of Agriculture : Laboratory guidebook MLG 5B appendix 1.01. Primer and probe sequences and reagent concentrations for non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) real-time PCR assay (2012).
- [223] National Institute of Infectious Diseases and Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Labour and Welfare : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Japan as of April 2017. *Infect Agen Surv Rep*, 38, 87-88 (2017) .