

腸管出血性大腸菌感染症が多発した地域における感染経路の解明

Clarification of Infection Route in the Frequently Outbreak Regions of Enterohemorrhagic *E. coli* Infection Disease in Miyagi Prefecture

三品 道子*¹ 高橋 恵美 佐々木美江
畠山 敬 上村 弘 谷津 壽郎
齋藤 紀行

Michiko MISHINA, Emi TAKAHASHI, Mie SASAKI
Takashi HATAKEYAMA, Hiroshi UEMURA, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

本県における 2004 年の腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症の発生件数は例年の 3 倍に達した。特徴として、多発した地域があり、その地域で降雨後に環境 (河川等) が汚染源と考えられる事例も発生した。そこで、EHEC の発生と降雨との関連性を明らかにする目的で、降雨による河川の増水と EHEC の挙動との相関性について検討した。その結果、増水した河川が EHEC 感染症の多発した地域における感染経路の一つであった可能性が示唆された。

キーワード：腸管出血性大腸菌感染症；降水量

Key words：enterohemorrhagic *E. coli* infection；rainfall

1 はじめに

腸管出血性大腸菌 (EHEC: enterohemorrhagic *E. coli*) 感染症は、1996 年に西日本で発生した集団事例を皮切りに、大規模食中毒の全国的な発生がみられた。その後も夏場を中心に全国で発生しており、毎年約 3,500 事例前後にのぼる。原因が特定された事例の中には、輸入牛肉による広域な散発事例¹⁾ や焼肉店が原因の事例²⁾ も多く見受けられる。また、EHEC は、牛が常在菌として保有して排菌されていること³⁾、飼育豚の 10% 前後⁴⁾ あるいは、と畜場に搬入された牛の約 5%⁵⁾ から分離されること、牛糞や畜舎付近では多種類の EHEC が検出⁶⁾ されることから、畜舎等の環境が汚染・感染源の一つであると考えられている。宮城県においては、2000 年に自宅で飼養している子牛が感染源となった EHEC O26 感染事例が全国で初めて確認⁷⁾ され、牛の保菌率と三類感染症との関連性を指摘した^{8) 9)}。宮城県における平成 11～18 年度までの EHEC 感染事例数および感染者数の年度別推移 (図 1) において、平成 16 年度は両者とも突出している。この外的要因を調査した結果、EHEC 感染事例と初発患者の発症日の気温および肉用牛の飼養戸数・飼養頭数が高い正の相関^{10) 11)}、降水量とは負の相関^{12) 13)} があることが判明している。しかし、河川の増水も一つの要因であると考えられる事例も 5 件発生していた。そこで、多発した地域における河川水量の増減と EHEC の挙動との相関性を検討し、増水した河川が EHEC 感染症の感染経路の一つであった可能性を明らかにすることを目的に調査検討したので報告する。

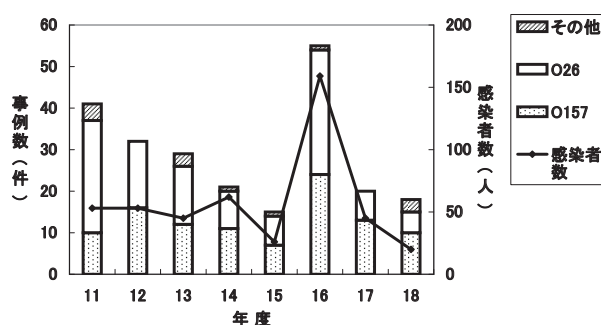


図 1 EHEC 感染症事例数および感染者数の年度別推移

2 材料および方法

2.1 降水量

気象庁電子閲覧室の観測定点別のデータを用いた。

2.2 採水定点と採水時期

白石川 (白石, 大河原, 柴田), 鳴瀬川と支流 (加美, 田川 (加美), 花川 (色麻)), 江合川 (古川), 迫川と支流 (佐沼, 三迫川 (金成)) を採水定点とし、四季 (平成 18 年 5 月 7 日～翌年 1 月 8 日, 水温 4～22℃) を通じて、一日の総雨量が 25～94mm であった降雨前後に採水した。

2.3 EHEC 分離同定

mEC 培地に各定点より採水した検水 100ml を接種して 24 時間増菌培養後、SMac (栄研), RMac (DIFCO) DHL 培地 (栄研) にて分離培養を実施し、EHEC を疑うコロニーを釣菌して、生化学性状、血清型を確認した。

2.4 EHEC の毒素遺伝子 (stx) の検出と遺伝子解析

各検水を mEC で 18～20 時間増菌培養し、これについて PCR 法による stx の検出を行った。stx プライマー

* 1 現 宮城県拓桃医療療育センター

は TAKARA を用いた。遺伝子解析はパルスフィールドドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE) 法によった。

2.5 *E.coli* MPN (most probable number) の測定

コリラート「アスカ」QT トレイにより検水 100ml 中の最確数 (MPN) を測定した。

2.6 EHEC MPN の測定

最確数法に準じ、各希釈段階 3 本ずつを用いた。培養後 PCR を実施し、*stx* を検出した試験管数を陽性管数とし、検水 100ml 中の EHEC MPN を算出した。

2.7 降水量と EHEC および *E. coli* MPN との相関性

各採水地点における降水量と EHEC および *E. coli* との相関性について、相関係数と回帰直線を求め比較検討した。

2.8 牛の飼養実態と家畜排せつ物施設整備状況

平成 15 - 18 年 2 月 1 日「主要家畜の市町村別飼養戸数・飼養頭羽数」(宮城県畜産課) を基に統計処理を行った。なお、市・郡の区分は平成 17 年度 3 月 31 日現在を用いた。

2.9 分子遺伝学的解析

検出された菌株は、血清型別を行い、さらに PFGE による遺伝子型別を行って、国立感染症研究所で実施されている解析結果¹⁴⁾ と比較検討した。

3 結果および考察

3.1 結果

3.1.1 降水量と *E.coli* MPN との相関性

E.coli MPN と当日降水量は、畜産団地に近い白石川(大河原) (R=0.9153 p<0.01 Y=24.71X+330.79), 白石川(柴田) (R=0.9009 p<0.01 Y=28.25X+269.34), 花川(色麻) (R = 0.8812 p<0.01 Y=39.24X+93.46) で高い正の相関が認められた。一方、数多くの支流が集まる江合川(古川) (R=0.2325) 迫川(佐沼) (R=0.5649) では相関が認められなかった(表 1, 図 2)。しかし、*E.coli* MPN および EHEC MPN の変動を経日的に調べた結果、降雨後にいずれの河川においても、両者とも増加することが判明した(図 3)。

3.1.2 *stx* の検出状況

stx が検出された地点は、白石川(大河原 1/6 回), 鳴瀬川(加美 2/7 回), 田川(加美 1/8 回), 花川(色麻 1/12 回), 江合川(古川 2/12 回), 迫川(佐沼 3/8 回), 三迫川(金成 5/8 回), で、特に迫川, 三迫川の 2 地点では高率に検出された(表 2)。

3.1.3 分離 EHEC

stx が検出された河川について EHEC の検索を行い、O26:H11 VT1 (江合川(古川)), O159:H19 VT2, OUT:HUT VT1,2 (鳴瀬川(加美)) が分離された(表 2)。

3.1.4 PFGE 遺伝子型

河川から分離された EHEC について PFGE 解析を行った結果、過去に県内の患者から分離された菌株と O26:

表 1 降水量と *E.coli* MPN の相関

調査地点	相関係数 (R)	回帰直線
白石川 (白石)	0.6830	Y=15.12X+453.49
白石川 (大河原)	0.9153**	Y=24.71X+330.79
白石川 (柴田)	0.9009**	Y=28.25X+269.34
鳴瀬川 (加美)	0.4293	Y=19.08X+194.47
田川 (加美)	0.7052**	Y=40.10X+263.08
花川 (色麻)	0.8812***	Y=39.24X+93.46
江合川 (古川)	0.2325	Y=23.73X+777.78
迫川 (佐沼)	0.5649	Y=32.25X+627.47
三迫川 (金成)	0.4330	Y=18.46X+337.23

** : p<0.001 *** : p<0.01

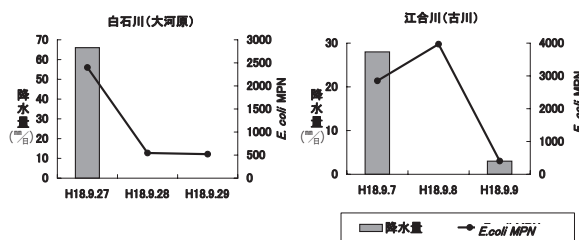


図 2 降水量と *E.coli* MPN の具体例

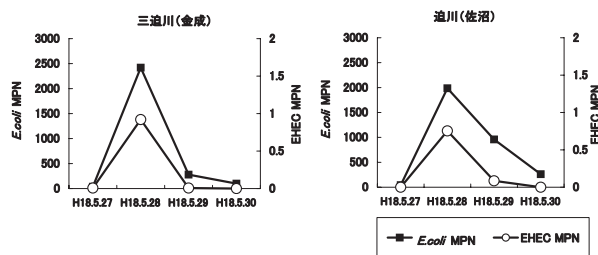


図 3 *E.coli* MPN と EHEC MPN の関係

表 2 *stx* と EHEC の検出状況

採水地点	PCR 結果 (<i>stx</i> 検出回数/採水回数)				
	H18.5	H18.9	H18.10	H18.11	H19.1
白石川 (白石)		0/4	0/2		
白石川 (大河原)		1/4	0/2		
白石川 (柴田)		0/4	0/2		
鳴瀬川 (加美)		1/3		0/3	1/1
					* (O159:H19 VT2) OUT:HUT VT1,2
田川 (加美)	1/4	0/3			0/1
花川 (色麻)	1/5	0/3		0/3	0/1
江合川 (古川)	1/4	0/3		1/4	0/1
					*(O26:H11 VT1)
迫川 (佐沼)	2/4	0/3			1/1
三迫川 (金成)	3/4	1/3			1/1

* : 分離された菌株

H11 VT1 (江合川(古川)) は約 90% の相同性があったが、他県にはこれと一致あるいは類似した菌株はなかった。なお、O159:H19 および OUT:HUT と同じ血清型による患者の発生はなかったため、PFGE の比較は行わなかった。

表3 EHEC と *E.coli* の存在比率

採水定点	採水日	EHEC MPN(A)	<i>E.coli</i> MPN(B)	(A) : (B)
鳴瀬川(加美)	1/7	0.0148	41	1 : 2,770
田川(加美)	5/28	0.086	816	1 : 9,493
花川(色麻)	5/28	0.48	2,419	1 : 5,040
江合川(古川)	5/28	0.086	1,986	1 : 23,096
迫川(佐沼)	5/28	0.754	1,986	1 : 2,634
	5/29	0.086	959	1 : 11,151
	1/7	0.006	504	1 : 84,000
三迫川(金成)	5/27	0.0072	37	1 : 5,125
	5/28	0.92	2,419	1 : 2,629
	5/29	0.0072	279	1 : 38,750
	1/7	0.186	85	1 : 456

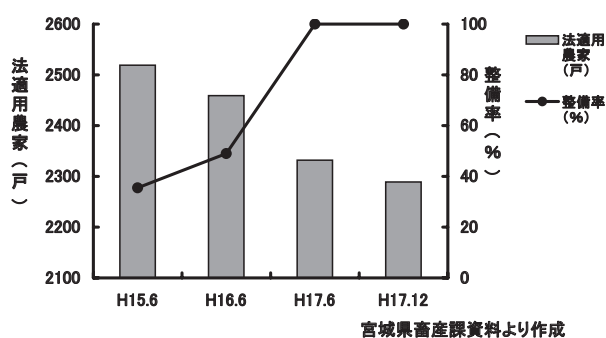


図4 家畜排せつ物法適用農家戸数と整備率

3.1.5 EHEC の存在比率

各定点での大腸菌数に対する EHEC 数の比を MPN 値で求めたところ、花川(色麻)が約 1/5,000、田川(加美)が約 1/10,000 で増水時平均して EHEC が検出されたのに対して、三迫川(金成)、迫川(佐沼)ではそれぞれ約 1/450 ~ 約 1/39,000、約 1/2,600 ~ 約 1/84,000 とバラツキが認められた(表3)。

3.1.6 家畜排せつ物法適用農家戸数と整備率

平成 16 年 11 月は、家畜排せつ物法の措置期間 5 年の最終年月で、施設の整備率は年度当初の 49% から平成 17 年には 100% に達しており、4 - 11 月に県内全域のほぼ半数の畜舎周辺などに糞尿処理施設や堆肥舎が建設された。また、この期間に約 100 戸の肉用牛飼養農家が廃業した(図4)。

3.2 考察

降雨後に *E.coli* MPN および EHEC MPN はいずれの河川でも増加し、降水量と菌数の上昇との相関性は河川毎に特徴のあることが判明した。これは肉用牛飼養農場排水等が測定点に到達するまでの時間の違いによるものであると考えられる。すなわち、①発生源の地形や測定点との位置関係と、②単位時間当たりの降水量や降りはじめからの総雨量に大きく影響され、さらに③検出された大腸菌に占める EHEC の割合が、迫川(佐沼)では高い時期があり、1/450 と取り分け高い時期があった支流の三迫川(金成)には規模の大きい発生源があることが示唆された。

夏季は冬季よりも環境からの大腸菌および *stx* の検出率が高いのは、大腸菌汚染河川には降雨後に大量の EHEC が存在し、環境中で死滅することなく維持されるだけでなく、増殖していることも考えられる。

平成 16 年度は家畜排せつ物法措置期間の最終年で糞尿処理施設等が駆け込みで数多く建設された。旧堆肥舎や野積みの区域が整理整地される際に、多量の大腸菌が雨水や土砂とともに河川に流出し、EHEC は現在とは比較にならないほど多かったことが推測される。

一方、平成 16 年に、我々は河川水から患者菌株と PFGE 遺伝子型の一致した菌を分離している^{10) 11) 12) 13)}。また、今回分離された O26:H11 VT1 株は過去に発生した患者由来株と近似であったことから、河川が EHEC 感染症発生に何らかの関与があった可能性が示唆された。

平成 17 年以降は、河川底質の泥土化、小規模牛飼養農家の減少および家畜排泄物の適正処理等により河川への大腸菌の流出は激減しているものと思われる。これを裏付けるように、県内における河川を感染源とした EHEC 感染症は発生していない。今後、河川底質における EHEC の生残性の調査など、河川の微生物学的監視を継続し、感染予防の観点から地域住民と河川、特に増水後の関わり方について注意を喚起することが重要であると考えられる。

4 まとめ

EHEC 感染症が多発した地域の降雨による河川水量の増減と EHEC の挙動との相関性について調査検討した。その結果、増水した河川が EHEC 感染症の多発した地域における感染経路の一つであった可能性が示唆された。

なお、本研究は「宮城県公衆衛生研究振興基金による研究・助成」により実施したものである。

参考文献

- 1) 川本薫, 河辺充美, 笹本史, 轟いずみ, 高岸哲文, 小山田喬, 戸田秀一, 水谷純男, 平井茂: 散発広域食中毒事件について - 腸管出血性大腸菌 O157 が検出された食肉について -, 食品衛生研究, 52 (11), 73 (2002)
- 2) 丸住美都里, 新屋拓郎, 松岡由美子, 藤井幸三, 植川厚子, 中村 勉: 焼肉店を原因とした腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒事例, 病原微生物検出情報, 26, 149 (2005)
- 3) 中澤宗生, 鮫島俊哉: 牛の腸管出血性大腸菌 O157:H7 の排菌と飼料の関連, 感染症学雑誌, 76, 76 (2002)
- 4) 福山正文, 古畑勝則, 大仲賢二, 八木原怜子, 小泉雄史, 原元宣, 堂ヶ崎知格, 島田時博, 栗林尚志, 中澤宗生, 渡邊忠男: 豚からの Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分離および血清型, 感染症学雑誌, 77, 1032, (2003)

- 5) 坂口浩章, 京塚明美, 児玉実, 佐伯幸三, 山岡弘二: 牛の腸管出血性大腸菌 O157 の保菌状況と分離株, 日本獣医師会雑誌, 56, 745 (2003)
- 6) Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S, Scheutz F.: Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin) -producing *Esherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals, *J. Clin. Microbil.*, 31, 2483 (1993)
- 7) 齋藤紀行, 伊藤友美, 畠山 敬, 秋山和夫, 白石廣行: 飼育牛からの感染が疑われた腸管出血性大腸菌 O26 感染散発事例, 病原微生物検出情報, 21, 35 (2000)
- 8) 畠山敬, 神尾好是: 家畜の腸管出血性大腸菌 (EHEC) 保有と分離方法の開発, 宮城県獣医師会会報, 57, 138 (2004)
- 9) 山口友美, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 御代田恭子, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症 (EHEC) の発生とその傾向, 宮城県保健環境センター年報, 22, 42 (2004)
- 10) 田村広子, 三品道子, 菅原直子, 佐藤由美, 畠山敬, 谷津壽郎, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因, 宮城県保健環境センター年報, 23, 47 (2005)
- 11) 谷津壽郎, 田村広子, 三品道子, 佐藤由美, 畠山敬, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因, 宮城県獣医師会会報, 59, 20 (2006)
- 12) 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 川野みち, 谷津壽郎, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因と予防対策の検証, 宮城県保健環境センター年報, 24, 50 (2006)
- 13) 谷津壽郎, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 三品道子, 齋藤紀行, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因と予防対策の検証, 宮城県獣医師会会報, 60, 10 (2007)
- 14) 国立感染症研究所細菌第一部: <特集>腸管出血性大腸菌感染症 2007年4月現在, 病原微生物検出情報, 28, 131 (2007)