

下水中の分布を指標とした秋田県内における腸管系病原細菌の侵淫実態に関する調査研究に係る実施可能性調査

齊藤志保子 八柳 潤 今野貴之

県内における腸管系病原細菌に対する健康被害発生予防策を構築するためには、腸管系病原細菌侵淫実態の全体像を把握することが重要である。その方法として流域全体の汚染実態を表すと考えられる下水における病原細菌の検出とその分離株の性状検査、及び結果解析が考えられる。そこで、本格的調査研究事業に先立つ実施可能性調査として、環境検体としての下水の有効性を確認することを目的とし、腸管出血性大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、腸管起病性大腸菌(eaeA 保有株)、腸炎ビブリオを対象に、終末処理場流入水と河川水の検査を実施した。また県内の医療機関における当該菌の患者発生状況を把握するとともに、分離株を入手し、下水等環境由来株と患者由来株の性状について比較した。その結果、下水からカンピロバクター及びサルモネラが高率に分離され、またその分離株と患者由来株との関連性が認められたことから、下水中の腸管系病原細菌の調査結果は患者発生状況を反映しており、腸管系病原細菌の侵淫状況の把握に下水調査は有効であると考えられた。

1. はじめに

腸管系病原細菌による食中毒事例や散発下痢症患者発生による健康被害は現在も重要な問題となっている。この健康被害の発生予防対策を推進していくためには、腸管系病原細菌の県内における侵淫実態を適切に把握することが必須である。本格的調査研究事業は、県内における腸管系病原細菌侵淫実態の全体像を下水の汚染状況からの確に把握することによりその健康被害発生予防策構築に資する知見を得ることを目的とする。実施可能性調査は本格的な調査に先立ち、環境検体としての下水の有効性を確認するため、下水及び河川水から、秋田県内において健康被害の原因として重要な腸管出血性大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、腸管起病性大腸菌(eaeA 保有株)、腸炎ビブリオの分離を試み、さらに患者から分離された菌との比較等を行い、関連性について検討した。

2. 方法

2.1 検体種（採取場所）

下水流入水（秋田市終末処理場）と河川水（草生津川、下面影橋付近）

2.2 検査期間・検体数

平成19年9月～平成20年2月に月1回、下水と河川水を1検体ずつ採取し、検査に供した。

2.3 検査項目・検査方法

2.3.1 腸管出血性大腸菌・腸管起病性大腸菌 (eaeA 保有株)

検水 500 ml の遠心沈渣に BPW 200 ml を加え、また検水 1000 ml に BPW の粉末培地を加えて溶解し、35℃で前増菌した。次いで mEC 培地で増菌後、病原遺伝子 (VT, eaeA) の有無を PCR で確認し、陽性の培養液について選択培地で分離を試みた。

2.3.2 サルモネラ

検水 500 ml の遠心沈渣に RV 培地 200 ml を加え 42℃で増菌培養後、選択分離培地に塗布した。

2.3.3 カンピロバクター

検水 10 ml をプレストン培地 100 ml に、また検水 50 ml を 2 倍濃度のプレストン培地 100 ml に接種し、42℃で微好気培養後、CCDA 培地で分離した。

2.3.4 腸炎ビブリオ

検水 1000 ml にアルカリペプトン水の粉末を加えて溶解した後、37℃で増菌培養し、次いで食塩ポリミキシングイオンで増菌後、クロモアガービブリオ寒天培地で分離した。

2.4 患者由来株

秋田市内の医療機関で分離され、分与されたカンピロバクター40株、サルモネラ18株、及び秋田市以外の医療機関から分与されたサルモ

ネラ 15 株を検査に供した。

2.5 分離株の比較

患者由来及び下水・河川由来カンピロバクターについては血清型別，サルモネラについては血清型別と薬剤感受性試験を実施し，比較した。血清型別はデンカ生研の型別用免疫血清を使用した。薬剤感受性試験は ABPC (アンピシリン), CAZ (セフトジジム), CET (セファロチン), CFPM (セフェピム), CFX (セフォキシチン), CTX (セフォタキシム), FOM (ホスホマイシン), IPM (イミペネム), KM (カナマイシン), NFLX (ノルフロキサシン), TC (テトラサイクリン), GM (ゲンタマイシン) の 12 薬剤についてセンシディスクを用いた KB 法で実施した。

3. 結果・考察

平成 19 年度の患者発生状況について，秋田市内の協力医療機関で確認された患者数はカンピロバクター 40，サルモネラ 18，腸炎ビブリオ 4，腸管起病性大腸菌(eaeA 保有株) 9 であった。また秋田市保健所管内で発生した腸管出血性大腸菌感染事例は 15 であった。下水・河川水の調査結果は表 1 のとおりで，全調査期間中，腸管出血性大腸菌はいずれからも分離されなかった。ただし病原遺伝子 (VT) スクリーニングでは 9 月の下水検体で陽性であった。腸管起病性大腸菌 (eaeA 保有株) は 10 月の下水検体，2 月の河川水検体からのみ分離された。腸炎ビブリオは 10 月の下水検体，9 月と 10 月の河川水検体から分離されたが，分離株は病原因子未保有の

非病原株であった。カンピロバクターについては調査期間中下水検体すべてから分離された。河川水からは 11 月と 2 月の検体から分離された。下水由来カンピロバクター 17 株中，患者由来 40 株と血清型が一致した株は 3 株であった。サルモネラは 10～2 月に下水検体から，河川水検体からは 10 月と 11 月に分離された。下水由来株は 20 種，河川水由来株は 1 種類の血清型に型別された。同時期に分離された患者由来株 11 種類の血清型のうち 6 種類は下水・河川水からも分離された (表 2)。

サルモネラ分離株について 12 薬剤に対する薬剤感受性試験を実施したところ，下水・河川水由来株は約 30% がいずれかの薬剤に耐性であり，ヒト由来株も同様の傾向が認められた (表 3)。限られた期間における少ない検体数の検討であったが，患者発生数の多いカンピロバクター及びサルモネラが下水から高率に分離され，またその分離株と患者由来株との関連性が認められたことから，下水中の腸管系病原細菌の調査結果は患者発生状況を反映しており，腸管系病原細菌の侵淫状況の把握に下水調査は有効であると考えられた。

残された課題としては，細菌性腸管感染症の増加する夏季の検出状況の把握，検体中の菌数が非常に少なかった腸管出血性大腸菌や腸管起病性大腸菌の検査における検体量や検査方法の改良，他地域においても患者発生状況と下水調査結果との関連性があるかどうかの確認等であり，今後検討が必要と考えられた。

表 1 下水と河川水からの菌検出状況 (分離株数)

菌種名	H19年9月		10月		11月		12月		H20年1月		2月	
	下水	河川	下水	河川	下水	河川	下水	河川	下水	河川	下水	河川
腸管出血性大腸菌	—*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
腸管起病性大腸菌	—	—	+(1)	—	—	—	—	—	—	—	—	+(1)
サルモネラ	—	—	+(5)	+(1)	+(4)	+(1)	+(7)	—	+(8)	—	+	—
腸炎ビブリオ	—	+(1)	+(1)	+(1)	—	—	—	—	—	—	—	—
Campylobacter jejuni	—	—	+	—	+	+	+	—	+	—	—	+
Campylobacter coli	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—

* 病原遺伝子 (VT) スクリーニング陽性，分離陰性

表2 月別サルモネラ分離状況

O群	血清型	平成19年				平成20年			
		4~8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
04	Stanley						○		
04	Saintpoul					○			
04	Agona				○		○		
04	Typhimurium	●			▲	●	○▲		
04	04:i:-	●	▲	○◎●	◎				
07	07:k:-			○▲		○			
07	Virchow					○			
07	Infantis	▲				○●	○	○	▲
07	Bareilly					○			
07	Tennessee						○		
07	Thompson				○			○	●
07	Mbandaka							○	
08	Emek			○					
06, 8	Hadar	●▲(2)		○		○	○	○	
09	Enteritidis			●(3)▲	●(2)		○		
03, 10	Anatum						○	○	
03, 10	Zanzibar							○	
01, 3, 19	01, 3, 19:-			○					
013	Worthington					○			
016	Gaminara				○				
018	018:Z4, Z23:-				○				
06, 8	Newport	▲							
06, 8	Nagoya	●							
06, 8	Narashino				▲	▲	▲		
07	Othmarschen	●				●			
07	Rissen					▲			
07	Livingstone					●(2)			
04	04:-	●							
OUT	UT:y:1, 7			▲					

●秋田市内患者由来株(株数), ▲秋田市以外患者由来株(株数),

○下水由来株, ◎河川水(草津川, 下面影橋付近)由来株

表3 サルモネラ分離株の薬剤感受性試験結果

		下水由来 ('07.9~'08.2)		ヒト由来 ('07.4~'08.3)	
		株数	%	株数	%
感受性		23	71.9	22	71.0
耐性	ABPC	1	3.1	0	0.0
	TC	3	9.4	4	12.9
	ABPC/TC	1	3.1	2	6.5
	KM/TC	1	3.1	2	6.5
	ABPC/KM/TC	0	0.0	1	3.2
	ABPC/CET/TC	3	9.4	0	0.0
	小計	9	28.1	9	29.0
合計		32	100.0	31	100.0