

島根県内のと畜場搬入牛における腸管出血性大腸菌 保有状況と分離株の分子疫学解析

中村祥人^{1)†} 川瀬 遵²⁾ 菅 美穂¹⁾ 藤田葉子¹⁾ 村上佳子²⁾
川上優太²⁾ 田原研司¹⁾ 平田 克¹⁾

1) 島根県食肉衛生検査所 (〒699-2212 大田市朝山町仙山 1677-2)

2) 島根県保健環境科学研究所 (〒690-0122 松江市西浜佐陀町 582-1)

(2015年7月13日受付・2015年11月2日受理)

要 約

島根県内のと畜場に搬入された牛の腸管出血性大腸菌 (EHEC) の保有状況を把握するため、20農場で飼養された牛100頭を2014年4～12月に調査した。その結果、5～8月にかけて、6農場 (A～F農場) で飼養された牛6頭の直腸便と4頭の体表面からEHEC O157 (O157) を10株分離し、そのうち9株は*stx2a* または*stx2c* を保有していた。さらに、IS-Printing system で、O157牛由来株と2014年に島根県内で分離された人由来株の分子疫学解析を行った。牛由来株と人由来株の間で同一パターンは確認されなかったが、A農場とB農場の体表面由来株が同一パターンであった。——キーワード：牛、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、IS-Printing 法、と畜場、*stx*。

-----日獣会誌 69, 101～106 (2016)

近年、富山県や北海道で腸管出血性大腸菌 (EHEC) による大規模な集団食中毒事例が発生し、数名の死者が出るなど社会的に大きな問題となった[1, 2]。ここ数年、島根県でのEHECによる食中毒事件の発生はないが、2011年にはEHEC O26 (O26)、2013年にはEHEC O111 (O111) による感染症事例が発生し、多数の感染者が確認された (島根県感染症情報センター <http://www1.pref.shimane.lg.jp/contents/kansen/topics/ehec/tp100914.htm>)。

EHECのおもな保菌動物は牛や羊などの反芻獣であり[3]、と畜場における牛枝肉のEHEC汚染は、保菌動物である牛の糞便によるほか、牛の糞便による体表面の汚染が汚染要因となるおそれがある。EHEC汚染を防止するため、牛の保菌率や牛枝肉の汚染状況を把握することは必要であるが、島根県 (県内) のと畜場搬入牛におけるEHECの保有状況は、2000年度にFukushimaら[4]が行った調査のみであり、近年の状況はわかっていない。そこで、今回、県内のと畜場搬入牛を調査対象とし、国内で分離頻度の高いO26、O111及びEHEC O157 (O157) の保有状況を調査した。また、分離株の

薬剤感受性、病原性関連遺伝子の保有状況について検討を行うとともに、県内で分離されたO157人由来株及び牛由来株の分子疫学解析を行ったので、報告する。

材料及び方法

調査期間及び調査対象：2014年4～12月にかけて県内と畜場に搬入された牛100頭を対象とした。なお、搬入実績の多い県内の20の農場を選定し、その農場の搬入牛から調査対象牛を無作為に抽出した。また、各農場の調査頭数は搬入頭数に応じて2～10頭とした。材料は同一個体の体表面 (肛門周囲部) の拭き取り検体、直腸便、胆汁及び枝肉 (肛門周囲部) の拭き取り検体を採取し、試験に供した。体表面及び枝肉の拭き取り検体は、いずれも滅菌綿棒 (メンティップ, 日本綿棒株, 東京) を用いて肛門周囲部の100cm²を拭き取った。さらに、直腸便は肛門から滅菌綿棒を用いてスワブ材料を採取し、胆汁は胆嚢から注射器を用いて約1mlを無菌的に採取した。

EHECの分離同定：体表面及び枝肉の拭き取り検体、直腸スワブ検体、胆汁検体をノボビオン加mEC培地

† 連絡責任者 (現所属)：中村祥人 (島根県益田保健所)

〒698-0007 益田市昭和町 13-1

☎ 0856-31-9550 FAX 0856-31-9568

E-mail: nakamura-yoshito@pref.shimane.lg.jp

表1 分離菌株の血清型, ペロ毒素産生性, 病原性関連遺伝子, 薬剤感受性試験の結果

菌株 No.	採取日	品種	性別	農場	検体	血清型	毒素型 (VT)	病原性関連遺伝子			薬剤耐性
								<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	
1	5月26日	黒	去	A	体表面	O157:H7	VT2	+	-	<i>stx2c</i>	ABPC
2	5月26日	黒	雌	B	体表面	O157:H7	VT2	+	-	<i>stx2c</i>	ABPC
3	5月26日	黒	雌	B	体表面	O157:H7	VT2	+	-	<i>stx2c</i>	ABPC
4	5月26日	黒	雌	B	直腸便	O157:H7	VT1	+	<i>stx1a</i>	-	ABPC, SM
5	6月23日	ホル	去	C	体表面	O157:H7	VT1/2	+	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	ABPC
6	6月23日	ホル	去	C	直腸便	O157:H7	VT1/2	+	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	ABPC
7	7月10日	黒	雌	D	直腸便	O157:H7	VT2	+	-	<i>stx2a</i>	ABPC, SM, TC
8	8月7日	黒	去	E	直腸便	O157:H-	VT1/2	+	<i>stx1a</i>	<i>stx2c</i>	
9	8月7日	黒	去	F	直腸便	O157:H7	VT2	+	-	<i>stx2c</i>	
10	8月7日	黒	去	F	直腸便	O157:H7	VT2	+	-	<i>stx2c</i>	

No. 2 と No. 4 は同一牛から分離された株

(極東製薬工業(株), 東京) 10ml に接種し, 42°C, 24 時間増菌培養後, アルカリ熱抽出法により DNA を抽出した. O157 PCR Screening Set (タカラバイオ(株), 滋賀) を用いた PCR 法によるスクリーニングを行い, ペロ毒素 (VT) 遺伝子陽性となった検体を CT-SMAC 寒天培地 (極東製薬工業(株), 東京) 及び ViEHEC 寒天培地 (栄研化学(株), 栃木) により 37°C, 24 時間培養した. 血清型 O26, O111 及び O157 を疑うコロニーを釣菌し, TSI 培地 (栄研化学(株), 栃木), LIM 培地 (栄研化学(株), 栃木) 及び CLIG 培地 (極東製薬工業(株), 東京) に接種し 37°C, 24 時間培養後, 生化学的性状を確認するとともに, 普通寒天培地 (栄研化学(株), 栃木) にて純培養後, 病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研(株), 東京) を用いた血清型別試験 (O 群抗原・H 型抗原) を行った. さらに, 血清型 O26, O111 及び O157 と判定された株について, 逆受身ラテックス凝集反応法 (VTEC-RPLA 「生研」, デンカ生研(株), 東京) によりペロ毒素を検出したものを EHEC と同定した.

薬剤感受性試験: 分離された EHEC の薬剤耐性について, センシ・ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン(株), 東京) を用いて Kirby-Bauer 法により実施した. 試験薬剤はアンピシリン (ABPC), カナマイシン (KM), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), ナリジクス酸 (NA), スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST), クロラムフェニコール (CP), ホスホマイシン (FOM), ノルフロキサシン (NFLX), シプロフロキサシン (CPFX), セフォタキシム (CTX), ゲンタマイシン (GM) の 12 薬剤を用いた.

病原性関連遺伝子の検出: Scheutz ら [5] が報告した PCR 法により, *stx1* (*stx1a*, *stx1c*, *stx1d*) 及び *stx2* (*stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*) をサブタイプに分類した. さらに, *eae* を検出するために, Paton ら [6] が報告した PCR 法を行った.

人由来株と牛由来株の分子疫学的解析: IS-Printing

表2 直腸便からの O157 月別分離状況

月	検査頭数	分離頭数	分離率
4月	15	0	-
5月	10	1	10.0%
6月	10	1	10.0%
7月	10	1	10.0%
8月	14	3	21.4%
9月	10	0	-
10月	11	0	-
11月	10	0	-
12月	10	0	-

system (東洋紡(株), 大阪) を用いて, 2 種類の Multiplex PCR (First set 及び Second set) を取扱説明書に従って行った. 各 set の 18 領域の増幅産物の有無を確認した後, 増幅産物のパターン別に分類した. なお, 使用した菌株は 2014 年に県内で分離された O157 人由来株と今回分離された牛由来株を用いた.

成 績

EHEC 保有状況: 調査した 100 頭中 6 頭 (6.0%) の直腸便及び 4 頭 (4.0%) の体表面から EHEC が 10 株分離された (表 1). しかし, 胆汁及び枝肉からは分離されなかった. なお, 1 頭は体表面及び直腸便の両方から分離されたが, 3 頭は体表面のみ, 5 頭は直腸便のみから分離された (表 1). 分離株はいずれも血清型が O157 であり, O26, O111 は分離されなかった (表 1).

農場別の直腸便からの O157 分離状況は, 20 農場のうち, 5 農場 (B~F 農場) から分離され, 農場ごとの分離率はおおの 25.0%, 14.3%, 12.5%, 14.3%, 20.0% であった.

月別の O157 の分離状況について直腸便に限ってみると, 5~8 月の夏季を中心に O157 が分離され, 4 月及び 9 月以降は分離されなかった (表 2).

O157 の薬剤感受性試験の結果: 薬剤感受性試験で

表3 O157 人由来株と牛由来株の IS-Printing system の結果

		人 由 来 株																																			
No.	18 領域の増幅産物の有無 (First set) ¹⁾																		18 領域の増幅産物の有無 (Second set) ¹⁾																		パター ン型
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	H1			
2	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	H2			
3	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	H3			
4	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	H3			
5	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	H3			
6	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	H4			
7	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	H5			
8	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	H6			
9	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	H6			
10	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	H7			
11	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	H7			

		牛 由 来 株																																			
No. ²⁾ 農場	18 領域の増幅産物の有無 (First set) ¹⁾																		18 領域の増幅産物の有無 (Second set) ¹⁾																		パター ン型
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1	A	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	C1		
2	B	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	C1			
3	B	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	C1				
4	B	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	C2			
5	C	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	C3		
6	C	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	C3		
7	D	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	C4		
8	E	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	C5		
9	F	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	C6		
10	F	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	C6		

1) 1: 増幅あり 0: 増幅なし 2) 下線: 体表面由来株 太字: 直腸便由来株

は、ABPC の 1 剤耐性が 5 株、ABPC と SM の 2 剤耐性が 1 株、ABPC と SM と TC の 3 剤耐性が 1 株であった (表 1)。

O157 のベロ毒素産生性: ベロ毒素産生性の結果を表 1 に示した。VT1 のみの産生が 1 株であり、VT2 のみの産生が 6 株、VT1 及び VT2 の両方を産生した株が 3 株であった。

O157 の eae の保有及び stx のサブタイピング: eae の保有状況、stx1 及び stx2 のサブタイピングの結果を表 1 に示した。すべての分離株で腸管への定着に参与する eae を保有していた。なお、stx1 のサブタイプについては、4 株が stx1a であった。stx2 のサブタイプについては、3 株が stx2a であり、6 株が stx2c であった (表 1)。

O157 の分子疫学解析: IS-Printing system による増幅産物の有無を表 3 に示した。増幅産物のパターンは牛由来株で 6 パターン (C1 ~ C6) に分類された (表 3)。同一のパターンに分類された株は、すべて血清型、毒素

型、薬剤耐性パターンが一致していた (表 1)。A 農場の検体 No. 1 (体表面) は、B 農場の検体 No. 2 (体表面) 及び検体 No. 3 (体表面) と同じパターンを示したが、検体 No. 2 (体表面) と同一の牛から採取された検体 No. 4 (直腸便) は、異なるパターンを示した。C 農場の検体 No. 5 (体表面) と検体 No. 6 (直腸便) は同じパターンを示した。F 農場の検体 No. 9 (直腸便) と No. 10 (直腸便) も同じパターンを示した。今回の調査で分離された O157 牛由来 10 株と人由来 11 株との間でパターンが一致する株はなかった (表 3)。

考 察

今回、県内と畜場に搬入された牛の EHEC 保有状況を調査したが、体表面から 4.0%、直腸便から 6.0% の分離率で O157 が分離された。Fukushima ら [4] は、県内のと畜場搬入牛の直腸内容物から O157 が 1.5%、O26 が 3.3%、O111 が 0.2% の分離率であったことを報

告している。さらに、他自治体のと畜場搬入牛の O157 分離率が直腸便で 6.5% や 11.2% という報告や、体表面で 6.6% という報告がある [7, 8]。一方で、Ezawa ら [9] は約 400 頭の若雌牛を調査し、O157 分離率が 31.7% から 46.3% であったことを報告している。Ezawa ら [9] の検査法は糞便 10g を検体として使用しており、検体量が多い点が本調査や上述の報告 [4, 7, 8] と異なっている。さらに、今回 O26 及び O111 は分離されなかったが、Fukushima ら [4] は腸管出血性大腸菌の酸抵抗性を利用した塩酸処理 [10, 11] や増菌培養に TSB を使用している。検体量や検査法の違いが分離率に影響を与えている可能性があり、これらについて今後検討する必要があると思われる。

直腸便からの O157 分離状況を農場別でみると、調査した 20 農場のうち、5 農場に限られていた。検査対象数が十分ではないためさらなる調査が必要であるが、これら O157 陽性牛が確認された農場には汚染源が存在する可能性が高いと考えられた。

本調査で O157 は、5~9 月にかけて分離された。坂口ら [12] の 3 年間にわたる牛の O157 の保有状況調査では、5~9 月の分離数が全体の約 75% と多かったことを報告しており、今回の調査でも同様の傾向がみられた。この理由については、気温や湿度の上昇によって細菌が増殖しやすい状況である可能性が考えられた。また、中澤ら [13] は乾草給餌が濃厚飼料 50% 含む通常飼料給餌に比べ、O157 の排菌数を減少させることを報告している。一部の農場で O157 が分離されたことも考慮すると、夏季における農場間の飼養管理に違いがあるかもしれない。これらを明らかにするためには、農場での牛の飼養管理方法、気候状況を含めた詳細な調査が必要と考えられた。

今回分離された O157 は ABPC, SM, TC に薬剤耐性が確認された。既報 [14, 15] でも O157 の耐性率は 45.9~64.3% であり、その多くが ABPC, SM, ジヒドロストレプトマイシンに薬剤耐性を示していることから、鳥根県も既報と同程度に O157 の薬剤耐性化が進んでいることが判明した。また、本調査では人の治療で使用される薬剤（ニューキノロン系や FOM）[16] の耐性化は認められなかったが、これら薬剤の耐性化も報告されており [15]、今後も継続した調査が必要であると考えられた。

今回分離された O157 の病原性関連遺伝子は、腸管粘膜への付着に関与する遺伝子の一つである *eae* をすべて保有していた [17]。さらに、10 株中 9 株の O157 は、*stx2a* と *stx2c* を保有していた。*stx2a*, *stx2c*, *stx2d* を保有している EHEC は重症患者から分離されることがある [18, 19]、その他の *stx2* サブタイプはそのような報告はない [20-22]。したがって、今回分離された

O157 は重症化を引き起こす可能性があると考えられた。

O157 牛由来株の IS-Printing system の増幅産物パターンは 6 パターン (C1~C6) に分類され、A 農場の検体 No. 1 (体表面)、B 農場の検体 No. 2 (体表面) 及び No. 3 (体表面) は同一パターンを示したが、それ以外については、農場間で同一パターンを示すものはなかった。また、検体 No. 2 と検体 No. 4 (直腸便) は同一個体の牛から分離されているが、異なるパターンであった。したがって、検体 No. 2 は、同一個体の糞便汚染を受けたのではなく、他の牛の糞便汚染を受けた可能性が考えられた。このことについては、農場及びと畜場の係留所で検体 No. 3 の牛との接触の可能性が考えられる一方で、A 農場と B 農場の牛の疫学的関連は係留所のみであり、A 農場の牛 (検体 No. 1) が B 農場の牛 (検体 No. 2 と検体 No. 3) と係留所で接触した可能性が考えられた。これは、係留所で牛が接触することによる O157 交差汚染の可能性を示唆している。

今回の調査では、O157 牛由来株と人由来株との間で増幅産物のパターンが一致する株はなかった。しかしながら、他自治体においては、分子疫学解析により EHEC 牛由来株と人由来株が近縁株と判定され、感染症の原因究明に結びついた事例 (病原体検出情報 <http://www.nih.go.jp/niid/ja/ehc-m/ehc-iasrd/2328-kj3891.html>) があることから、引き続き、牛から分離される EHEC の保有状況を把握し、人由来株と比較することは感染症及び食中毒の原因究明に重要と考えられた。

結論として、県内と畜場で O157 を保有する牛が一定の割合で存在することが判明したが、分離培養法の検討や疫学調査を追加した継続調査が必要であると考えられた。また、分子疫学解析の結果から、O157 牛由来株と人由来株との関連は認められなかったが、係留所で牛が接触することにより O157 の交差汚染が起きている可能性が示唆された。

引用文献

- [1] 磯部順子：焼肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒の概要、日本食品微生物学雑誌, 29, 94-97 (2012)
- [2] 飯島義雄, 坂本裕美子, 綿引正則, 大西貴弘, 五十君静信：事例に学ぶ細菌学, 日本細菌学雑誌, 69, 349-355 (2014)
- [3] 勢戸利子：A 細菌感染症 4 *Escherichia coli*, 食品由来感染症と食品微生物, 仲西寿男, 丸山 努監修, 281-296, 中央法規, 東京 (2009)
- [4] Fukushima H, Seki R: High numbers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* found in bovine faeces collected at slaughter in Japan, FEMS Microbiol Lett, 238, 189-197 (2004)
- [5] Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Piérard D, Buvens G,

- Karch H, Mellmann A, Caprioli A, Tozzoli R, Morabito S, Strockbine NA, Melton-Celsa AR, Sanchez M, Persson S, 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)
- [6] Paton AW, Paton JC : Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*, *J Clin Microbiol*, 36, 598-602 (1998)
- [7] 久島昌平, 前原智史, 久保雅敏, 星野利得, 後藤公吉, 重茂克彦, 品川邦汎 : 2 種類の増菌培養法による牛の腸管出血性大腸菌 O157 保菌状況, *日獣会誌*, 54, 391-394 (2001)
- [8] 重茂克彦, 品川邦汎 : 日本国内における牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離菌株の薬剤感受性, *獣医畜産新報*, 62, 807-811 (2009)
- [9] Ezawa A, Gocho F, Saitoh M, Tamura T, Kawata K, Takahashi T, Kikuchi N : A three-year study of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 on a farm in Japan, *J Vet Med Sci*, 66, 779-784 (2004)
- [10] Fukushima H, Gomyoda M : An effective, rapid and simple method for isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O111 and O157 from faeces and food samples, *Zent Bacteriol*, 289, 415-428 (1999)
- [11] Fukushima H, Gomyoda M : Hydrochloric acid treatment for rapid recovery of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O111 and O157 from faeces, food and environmental samples, *Zent Bacteriol*, 289, 285-299 (1999)
- [12] 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の性状, *日獣会誌*, 56, 745-749 (2003)
- [13] 中澤宗生, 鮫島俊哉 : 乾草給餌による牛の腸管出血性大腸菌 O157:H7 の排菌抑制, *感染症誌*, 77, 635-636 (2003)
- [14] Sasaki Y, Murakami M, Maruyama N, Yamamoto K, Haruna M, Ito K, 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*, 1219-1221 (2013)
- [15] 前原智史, 木太俊雅, 藤野靖子, 辻本光広 : 夏季における牛の腸管出血性大腸菌 O157 保菌状況と分離株の薬剤感受性, *日獣会誌*, 58, 205-208 (2005)
- [16] 大西健児 : 腸管感染症, *JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014*, *JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会*, 274-277, 日本感染症学会・日本化学療法学会, 東京 (2014)
- [17] 西川禎一, 王 麗麗 : 志賀毒素産生性大腸菌の疫学, *日本食品微生物学会雑誌*, 29, 141-154 (2012)
- [18] Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, Pulz M, Kuczius T, Ammon A, Karch H : *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms, *J Infect Dis*, 185, 74-84 (2002)
- [19] Persson S, Olsen KE, Ethelberg S, Scheutz F : Subtyping method for *Escherichia coli* shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations, *J Clin Microbiol*, 45, 2020-2024 (2007)
- [20] Feng PC, Jinneman K, Scheutz F, Monday SR : Specificity of PCR and serological assays in the detection of *Escherichia coli* Shiga toxin subtypes, *Appl Environ Microbiol*, 77, 6699-6702 (2011)
- [21] Prager R, Fruth A, Busch U, Tietze E : Comparative analysis of virulence genes, genetic diversity, and phylogeny of Shiga toxin 2g and heat-stable enterotoxin ST1a encoding *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and environmental sources, *Int J Med Microbiol*, 301, 181-191 (2011)
- [22] van Duynhoven YT, Friesema IH, Schuurman T, Roovers A, van Zwet AA, Sabbe LJ, van der Zwaluw WK, Notermans DW, Mulder B, van Hannen EJ, Heilmann FG, Buiting A, Jansen R, Kooistra-Smid AM : Prevalence, characterization and clinical profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the Netherlands, *Clin Microbiol Infect*, 14, 437-445 (2008)

Prevalence and Molecular Epidemiological Analysis of Enterohemorrhagic
Escherichia coli in Cattle at a Slaughterhouse in Shimane Prefecture, Japan

Yoshito NAKAMURA^{1)†}, Jun KAWASE²⁾, Miho SUGA¹⁾, Yoko FUJITA¹⁾,
Yoshiko MURAKAMI²⁾, Yuta KAWAKAMI²⁾, Kenji TABARA¹⁾
and Atau HIRATA¹⁾

1) *Meat Inspection Office, Shimane Prefecture, 1677-2 Senyama, Asayama-cho, Oda-shi, 699-2212, Japan*

2) *Shimane Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, 582-1 Nishihama-sada-cho, Matsue-shi, 690-0122, Japan*

SUMMARY

To examine the prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) among cattle transported to a slaughterhouse in Shimane Prefecture, 100 cows raised on 20 farms were surveyed between April and December 2014. As a result of the survey, 10 EHEC O157 strains were isolated from the rectal feces of six cows and the body surfaces of four cows raised on six different farms (A-F) between May and August. Of these strains, nine carried either the *stx2a* or *stx2c* gene. In addition, molecular epidemiological analysis was conducted in 2014 using the IS-Printing system, resulting in the isolation of cow and human O157 strains in Shimane Prefecture. These strains showed no identical patterns. However, those isolated from the body surfaces of cows from farms A and B exhibited the same patterns.

— Key words : Cattle, enterohemorrhagic *Escherichia coli*, IS-Printing system, slaughterhouse, *stx*.

† *Correspondence to (Present address) : Yoshito NAKAMURA (Masuda Shimane Prefectural Public Health Center)*
13-1 Showamachi, Masuda-shi, 698-0007, Japan
TEL 0856-31-9550 FAX 0856-31-9568
E-mail : nakamura-yoshito@pref.shimane.lg.jp

— *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 69, 101 ~ 106 (2016)