

## 河川水から分離したエロモナスおよびビブリオの分離状況

植松 香星    中村 美奈子    金子 通治

### Isolation of *Aeromonas* and *Vibrio* Organisms from River Water

Kousei UEMATSU, Minako NAKAMURA  
and Michiharu KANEKO

エロモナス属は水の常在菌として知られ、両生類や魚類の病原菌として知られていたが、近年ヒトに対しても日和見感染症や外傷性感染症、消化器系感染症を起こすことが認識されるようになった<sup>1-3)</sup>。

また、*Vibrio cholerae* non-O1は海外旅行者の散发性下痢症事例や、河川水などからの分離例が報告され<sup>4)</sup>、1978年7月には長野県での集団発生例が報告されている<sup>5)</sup>。

1982年厚生省は食中毒原因菌に*Aeromonas hydrophila*と*A. sobria*、*V. cholerae* non-O1、*V. mimicus*等を新たに追加した。

このような状況下、本県におけるエロモナス感染症および、ビブリオ食中毒等の基礎的資料を得る目的で、今回は河川水からエロモナス、ビブリオの分離を試み、分離株の薬剤感受性試験をも実施したので報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 材料

県内河川の8採水地点から毎月1回採取した河川水900mlを試料とした。エロモナスについては、1987年10月から1989年3月までの1年6ヵ月間の144試料を、ビブリオについては、1987年4月から1989年3月までの2年間の192試料を検索用の材料とした。

##### 2. 検査方法

エロモナスについては、河川水900mlに10倍濃度のアルカリペプトン水(日水)100mlを入れ、37℃ 24時間培養後、PXA寒天培地<sup>6)</sup>のPril(3価のアンモニウム界面活性剤)をBile Salt No.3に変えたBXA寒天培地(表1)

へ塗抹し、37℃ 24時間培養後、キシロース非分解のコロニーをTSI、LIM培地へ接種した。さらに坂崎ら<sup>6)</sup>に従って生化学的性状を調べ、PopoffとVéronの分類<sup>7)</sup>に従って菌を同定した。

ビブリオについては、エロモナスと同様にアルカリペプトン水で、増菌後、二次増菌培地としてモンスールのペプトン水(日水)を用いた。アルカリペプトン水からの分離はTCBS寒天培地(栄研)を用い、モンスールのペプトン水からの分離はTCBS寒天培地およびPMT寒天培地(日水)を使用した。生じたコロニーについてはエロモナスと同様に同定した。

##### 3. 薬剤感受性試験

日本化学療法学会<sup>8)</sup>に基づき寒天平板希釈法にて最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。使用薬剤は、ストレプトマイシン(SM)、ドキシサイクリン(DOXY)クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、アミノベンジルペニシリン(ABPC)、セファロチン(CET)、セフォキシチン(CFX)、ラタモキシセフ(LMOX)、ナリジキシン酸(NA)およびサルファ剤(SA)の10薬剤であ

表1 BXA(Bile Salts-Xylose-Ampicillin)寒天培地の組成

|                        |         |
|------------------------|---------|
| 普通寒天培地(栄研)             | 35g     |
| キシロース                  | 10g     |
| Bile Salts No.3(Difco) | 1g      |
| フェノールレッド               | 0.02g   |
| Ampicillin             | 25μg/ml |
| 精製水                    | 1,000ml |

る。薬剤濃度はSM, DOXY, CP, KM, CET, CFX, NAについては0.2~100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , SAは3.1~1,600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ABPCは1.6~1,600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , LMOXは0.1~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ である。

薬剤耐性としたMIC値はSAが800  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上でその他の9薬剤は、すべて50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上とした。使用培地は感受性測定用ブイヨン（日水）および感受性測定用寒天培地（日水）である。

## 成 績

### 1. 分離結果

河川別のエロモナス分離状況を表2に示した。分離株数は、エロモナス合計が96株で内訳は*A. sobria*が61株、*A. hydrophila*が35株であった。河川別陽性数をみると、最も陽性率が高い河川は、甲府盆地を流れる平等川と荒川で66.7%、次いで黒沢川、日川、濁川、鎌田川の61.1%であり、8河川の平均陽性率は57.6%であった。試料数は少ないが、季節別にみると、6月~8月が最も陽性率が高く79.2%であり冬期においても50%の陽性率であった。また、分離株の菌種では年間を通じて*A. hydrophila*よりも*A. sobria*が多かった（表3）。

*V. cholerae non-O1*は陽性率が21.4%で、児玉ら<sup>9)</sup>、小田ら<sup>10)</sup>の成績とはほぼ同率であった。各河川別でみると

表2 河川別エロモナス陽性率

| 河川名 | 検体数 | 陽性数 | 陽性率(%) |
|-----|-----|-----|--------|
| 黒沢川 | 18  | 11  | 61.1   |
| 日川  | 18  | 11  | 61.1   |
| 平等川 | 18  | 12  | 66.7   |
| 濁川  | 18  | 11  | 61.1   |
| 荒川  | 18  | 12  | 66.7   |
| 鎌田川 | 18  | 11  | 61.1   |
| 宮川  | 18  | 6   | 33.3   |
| 相模川 | 18  | 9   | 50.0   |
| 計   | 144 | 83  | 57.6   |

表3 季節別エロモナス陽性数(%)

| 季節                   | 春        | 夏        | 秋        | 冬        |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|
| 月別                   | 3~5      | 6~8      | 9~11     | 12~2     |
| 検体数                  | 32       | 24       | 40       | 48       |
| 陽性数(%)               | 21(65.6) | 19(79.2) | 18(45.0) | 25(52.1) |
| <i>A. hydrophila</i> | 8        | 5        | 9        | 13       |
| <i>A. sobria</i>     | 18       | 9        | 18       | 16       |

表4 河川別 *V. cholerae non-O1*陽性率

| 河川名 | 検体数 | 陽性数 | 陽性率(%) |
|-----|-----|-----|--------|
| 黒沢川 | 24  | 2   | 8.3    |
| 日川  | 24  | 2   | 8.3    |
| 平等川 | 24  | 7   | 29.2   |
| 濁川  | 24  | 11  | 45.8   |
| 荒川  | 24  | 7   | 29.2   |
| 鎌田川 | 24  | 6   | 25.0   |
| 宮川  | 24  | 4   | 16.7   |
| 相模川 | 24  | 2   | 12.5   |
| 計   | 192 | 41  | 21.4   |

濁川が最も陽性率が高く45.8%であり、最も低かったのは、黒沢川、日川でそれぞれ8.3%であった（表4）。季節別では夏期が最も陽性率が高く43.8%であった（表5）。分離株数は、*V. cholerae non-O1*が41株、*V. mimicus*が10株および*V. cholerae O1*（稲葉型）が1株であった。

### 2. 薬剤感受性

寒天平板希釈法によるMICの結果を図に示した。縦軸は、MIC値における株数の割合を%で示したものである。LMOXにおけるMIC分布図は、エロモナスおよびビブリオともにすべての株が0.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であったので省略した。またNAにおけるMIC分布図は、エロモナスは0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下（88.5%）、0.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ （2.1%）、100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ （2.1%）、100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上（7.3%）であり、ビブリオは、すべての株が、12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下だったので省略した。CPは、エロモナス、ビブリオともに0.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ に

表5 季節別 *V. cholerae non-O1*陽性数(%)

| 季節     | 春      | 夏        | 秋        | 冬      |
|--------|--------|----------|----------|--------|
| 月別     | 3~5    | 6~8      | 9~11     | 12~2   |
| 検体数    | 48     | 48       | 48       | 48     |
| 陽性数(%) | 4(8.3) | 21(43.8) | 13(27.1) | 3(6.3) |

ピークがあった。SAに対しては、ビブリオは400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ にピークをもち、エロモナスでは1段階低い200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ にピークを示した。SMは3.1~25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布しており、そのピークはエロモナスおよびビブリオともに12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。KM, SMは類似のパターンをとり、MICのピークは6.3~12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。CETに対してビブリオは0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ にピークをもち、すべての株が3.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の感受性であったがエロモナスに対しては感受性菌と、耐性菌の2つのグループにわかれた。

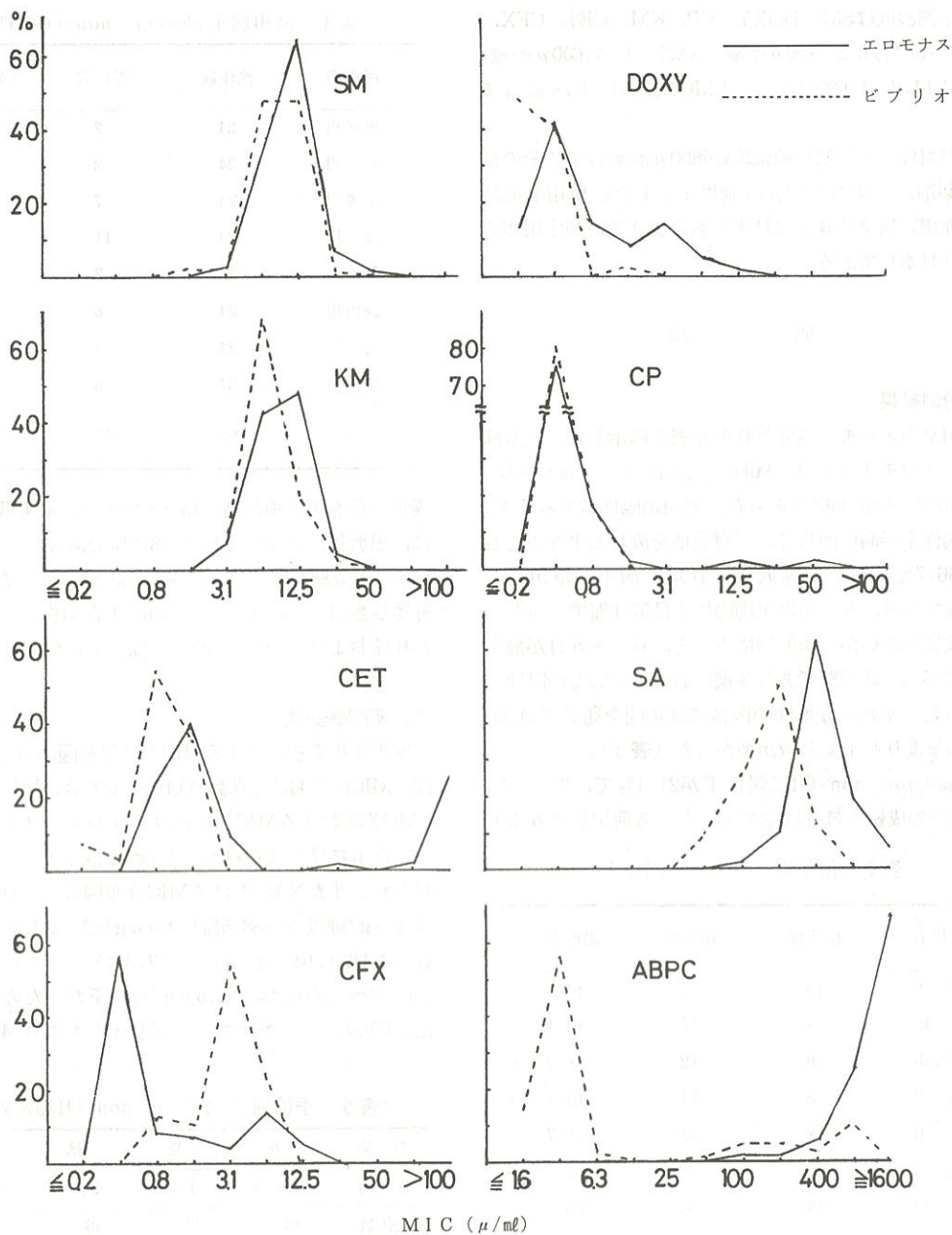


図 エロモナスおよびビブリオのMIC分布

DOXY, CFXに対しては、エロモナス、ビブリオともにKM同様、すべての株が、感受性であったが、CFXはエロモナスのMIC値のピークが $0.4 \mu\text{g/ml}$ でビブリオの $3.1 \mu\text{g/ml}$ のピークより低かった。ABPCのピークはエロモナス、ビブリオにそれぞれ $1,600 \mu\text{g/ml}$ 以上、 $3.1 \mu\text{g/ml}$ 以下にピークがあった。

エロモナスについて、耐性株の割合を高い順にみると自然耐性のABPCをのぞき、CET (27.1%)、SA (25.0%)、NA (9.4%)、CP (1.0%)であり、DOXYおよびLMOXに対して耐性株はなかった。*V. cholerae* non-O1,

*V. mimicus* の耐性株の割合が比較的高かったのは、ABPC (26.3%)であった。ほかSAの1.8%以外、SM, DOXY, CP, KM, CET, CFX, LMOXに対してはすべての株が感受性であった。すでに報告した<sup>10)</sup>同じ属の *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* とは、CET, KMのMICのピークが大きく異なっていた。

### 3. 薬剤耐性パターン

エロモナスのみ表6に示した。1剤から4剤耐性の9種類に分類された。エロモナスはABPCに自然耐性とき

れ、96株のうち53株がABPC 1 剤耐性であった。CP耐性株が1株あり、CP-ABPC型であった。*V. cholerae non-O1*は、ABPC単剤が14株、SA-ABPCが1株であり、*V. mimicus*は耐性株がみられず10株すべてが感受性であった。

## 考 察

1987年10月から1989年3月までに、エロモナスを分離した結果144試料のうち57.6%にあたる83試料が陽性で分離株数は *A. sobria*, *A. hydrophila* あわせて計96株であった。今回の調査では、宮川の陽性率が低かったが、その原因は不明であるが、今後の調査の継続で明らかになっていくであろう。

薬剤感受性試験の結果、CP耐性のエロモナスを分離したが、猿渡<sup>12)</sup>も臨床材料からCP耐性株を分離している。これらのCP耐性の機構が同じであるか、興味深い。

沖津<sup>13)</sup>は井戸水からのエロモナスを分離し、赤血球溶血性試験をした結果、*A. hydrophila* および *A. sobria* が34.6%の陽性率であると報告している。河川水由来のエロモナスの赤血球溶血性はどうか、ヒト由来株とあわせ、今後検討していく予定である。

*V. cholerae non-O1*のCT産生性については、河川由来株では、安形<sup>14)</sup>は検出菌の52.8%が陽性であると報告している。今回我々が分離した *V. cholerae O1*はCT産生性陰性であったが自然界の *V. cholerae non-O1*のCT産生性はどうか今後とも分離を試み、さらに検討していくつもりである。

表6 エロモナスの薬剤耐性パターンと株数

|    |    | 耐性パターン      | 株数 |
|----|----|-------------|----|
|    |    | ABPC        | 53 |
|    |    | ABPC CET    | 12 |
| SA |    | ABPC CET    | 11 |
| SA |    | ABPC        | 9  |
|    |    | ABPC NA     | 6  |
| SA |    | ABPC CET NA | 2  |
| SA | SM | ABPC CET    | 1  |
| SA |    | ABPC NA     | 1  |
|    |    | CP ABPC     | 1  |
| 計  |    |             | 96 |

## ま と め

1) 1987年10月から1989年3月までの県内8河川144

試料からエロモナスの分離を試みた結果、83試料からエロモナスが分離され、陽性率は57.6%であった。内訳は、*A. hydrophila* 33株、*A. sobria* 55株である。また季節により陽性率が異なり6月～8月が最も高く79.2%であった。

2) 1987年10月から1989年3月までの県内8河川192試料のうち、41試料からビブリオが分離され、陽性率は21.4%で、6月～8月が最も高く43.8%であった。

3) *V. cholerae O1*が1株分離されたが、RPLA法によるCT産生性試験は陰性であった。また、*V. mimicus*は計10株が分離された。

4) 薬剤感受性試験の結果、エロモナスにCP耐性株がみられた。

稿を終るにあたり、河川水を採水していただいた県薬剤師会環境衛生センターの職員の方々に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 戴内英子：医学のあゆみ，111，845～849(1979)
- 2) 坂本裕二，金城勇徳，伊藤直美，大谷雅彦，中村 功：感染症誌，54，157～163 (1980)
- 3) 猪狩淳，小酒井望，小栗豊子：感染症誌，56，679～684 (1982)
- 4) 島田俊雄，坂崎利一，小迫芳正：感染症誌，56，1017～1024 (1982)
- 5) 村松絃一，和田正道，小林正人，島田俊雄，坂崎利一：感染症誌，55，1～5 (1981)
- 6) 坂崎利一ら：食中毒II，69～123 中央法規出版 (1983)
- 7) Popoff, M. and Véron, M.: J. Gen. Microbiol., 94, 11～22 (1976)
- 8) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法，Chemotherapy, 29, 76～79 (1981)
- 9) 児玉博英ら：昭和56年度富山衛研年報，53～62 (1982)
- 10) 小田隆弘，永井 誠，大久保忠敬，西本幸一：福岡市衛試報，5，75～80 (1980)
- 11) 金子通治，岩下まさ子：感染症誌，61，9～16 (1987)
- 12) 猿渡勝彦：臨床病理，25，217～225 (1977)
- 13) 沖津忠行，浅井良夫，松島章喜，滝沢金次郎：日本公衛誌，33，317～321 (1986)
- 14) 安形則雄ら：名古屋市衛研所報，29，15～17 (1982)