

福岡市内河川における感染症起因菌の定点調査 1

— 福岡市東部河川について —

塩津 幸恵¹・川内 良介¹

大隈 英子²・尾崎 延芳¹

Isolation of Enteric Pathogen from River Water in Fukuoka City.

SHIOTSU Sachie, KAWAUCHI Ryouusuke
OKUMA Eiko and OZAKI Nobuyoshi

要 旨

福岡市東部を流れる河川に7ポイントの定点を設定し、1996年6月から1997年5月までの1年間、毎月1回の割合でチフス、パラチフス、その他のサルモネラ、コレラおよび腸炎起病性ビブリオを対象にのべ73ポイントの調査を行い、以下の結果を得た。

1. チフス、パラチフスおよびコレラ菌は全期間を通じて検出されなかった。
2. その他のサルモネラはのべ38ポイント(52.1%)から63株が検出され、21種類の血清型に分けられた。
3. *Vibrio parahaemolyticus* はのべ68ポイント(93.2%)から114株、*V. cholerae* non-O1 はのべ37ポイント(50.7%)、*V. mimicus* はのべ14ポイント(19.2%)、*V. fluvialis* はのべ11ポイント(15.1%)、*V. vulnificus* はのべ5ポイント(6.8%)から検出された。
4. 分離された全ての *V. cholerae* nonO1 について ct 遺伝子、*V. parahaemolyticus* について tdh 遺伝子および trh 遺伝子はみられなかった。
5. 分離されたサルモネラ63株について薬剤感受性試験を実施した結果、17株(27.0%)が使用薬剤のいずれかに耐性を示し、そのうちの7株(41.2%)が2剤に耐性であった。

Key Words: 河川水 river water, サルモネラ *Salmonella* spp., ビブリオ *Vibrio* spp.,
薬剤感受性試験 antibiotic sensitivity testing

I はじめに

河川水の病原細菌定点観測は、人や動物の保菌状況や潜在的流行状況を把握する上で有効な手段と考えられる。

サルモネラやビブリオなどの病原細菌が河川水から分離されることは、以前から報告されている^{1)~5)}。以前、当市で調査を行った頃に比べて、下水道普及率の上昇などにより衛生状態が良くなった一方で、海外渡航者や輸入食品、輸入飼料の増加による病原菌の国内持ち込みも増加するなど状況は変わってきている。

そこで今回、基礎資料を提供する目的でチフス、パラ

チフス、その他のサルモネラ、コレラおよび腸炎起病性ビブリオを対象に、市内河川水の定点観測を行ったので報告する。

また、検出されたサルモネラについては、薬剤感受性を実施したのであわせて報告する。

II 材料および方法

1. 調査地点

福岡市内東部を流れる河川に7ポイントの定点を設定した。表1に地点名を示し、図1に市内における位置を示した。

2. 調査期間

1996年6月から1997年5月までの1年間、毎月1回

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

2. 福岡市衛生試験所 微生物課

(現所属: こども病院・感染症センター)

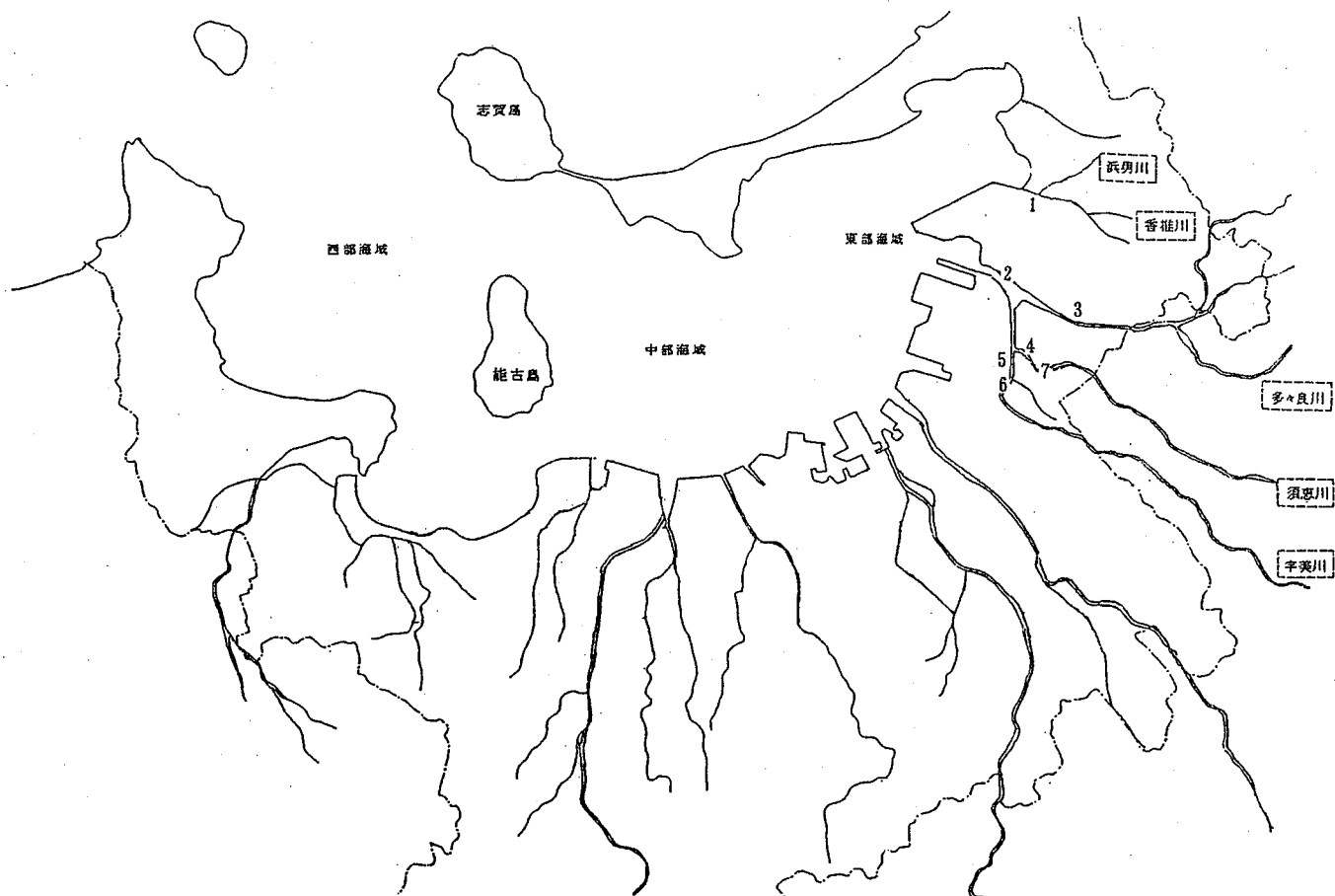


図1 福岡市内東部河川の調査地点

の割合で、計12回行った。

表1 福岡市内東部河川における調査地点

ポイント	地名
1	新御島橋 (浜男川と香椎川合流点, 御島寄)
2	名島橋 (多々良川と宇美川合流点, 川口寄)
3	多々良橋 (多々良川下流)
4	休也橋 (須恵川と宇美川合流点, 須恵川寄)
5	塔の本橋 (須恵川と宇美川合流点, 宇美川寄)
6	新橋 (宇美川と綿打川合流点)
7	原田橋 (須恵川下流)

3. 検査方法

検体採取はタンポン法により行った。直径10cm (8g) の脱脂綿製タンポン4個をネットに入れ河川水中に4日間浸漬したのち回収し、検査に供した。

河川水を絞り出した後のタンポンは増菌培地450mlで、絞った水50mlは3倍濃度の増菌培地25mlで増菌した。

チフスおよびパラチフスについてはセレナイトマンニッ

ト培地で増菌後、SS寒天培地および亜硫酸ピスマス寒天培地で分離培養を行った。疑わしい集落をTSI, LIM寒天培地でスクリーニングし、常法⁶⁾に従って同定した。

その他のサルモネラについてはハーナのテトラチオン酸塩培地で42℃一夜増菌後、SS寒天培地およびMLCB寒天培地で分離培養を行った。疑わしい集落はTSI, LIM寒天培地でスクリーニングし、常法⁶⁾に従って同定した後、サルモネラ型別用免疫血清 (デンカ生研) と当所作製のO6血清を用いて血清型別を行った。

コレラおよび腸炎起病性ビブリオについては1% NaCl加アルカリペプトン水 (pH9.0) および食塩ポリミキシンプイオンで増菌後、TCBS寒天培地で分離培養を行った。疑わしい集落は2% NaCl加TSI, LIM寒天培地でスクリーニングし、常法⁶⁾に従って同定した。Vibrio choleraeと同定された場合にはO1血清およびO139血清での凝集を確認した。

4. 薬剤感受性試験

サルモネラについて、微量液体希釈法による最小発育阻止濃度 (MIC) の測定を行った。あらかじめ薬剤の入ったMIC測定用フローズプレート (栄研化学製) に最終菌量が約 10^4 CFU/ウェルとなるように接種した。

測定対象薬剤は ampicillin (ABPC), chloramphenicol (CP), kanamycin (KM), gentamicin (GM), tetracyclin (TC), nalidixic acid (NA), norfloxacin (NF LX), cefazolin (CEZ), cefmetazole (CMZ), cefotaxime (CTX), imipenem (IPM) の11 薬剤とし, 耐性判定の基準は NCCLS の基準⁷⁾に従った。

5. 毒素産生性試験

V. cholerae と同定できた全ての株について, コレラ

エンテロトキシン (CT) 産生性をコレラ毒素遺伝子検出用 PrimerSet (TAKARA) を用いて PCR 法により調べた。

V. parahaemolyticus と同定できた全ての株について, 耐熱性溶血毒 (TDH) 産生性を耐熱性溶血毒遺伝子 (tdh) 検出用 PrimerSet (TAKARA) を用い, 耐熱性溶血毒類似毒素 (TRH) を耐熱性溶血毒類似毒素遺伝子 (trh) 検出用 PrimerSet (TAKARA) を用いて PCR 法により調べた PCR 法はそれぞれの取扱説明書に従っ

表 2 河川水からのサルモネラ月別検出状況

	平成 8 年 6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月
1. 新御島橋	S. Hvitvingfoss S. Miyazaki S. Infantis	S. Thompson S. Miyazaki	S. Miyazaki	S. Miyazaki	(-)	(-)
2. 名 島 橋	S. Miyazaki S. Enteritidis	S. Typhimurium S. Newport S. Brandenburg O1,3,19 : gmst :-	(-)	(-)	(-)	NT
3. 多々良橋	S. Senftenberg S. Miyazaki O4 : i :-	NT	NT	NT	(-)	(-)
4. 休 也 橋	S. Thompson	S. Brandenburg	NT	S. Typhimurium S. Tennessee	(-)	(-)
5. 塔の本橋	S. Thompson S. Senftenberg S. Agona	S. Thompson S. Miyazaki S. Agona O4 : i :-	NT	S. Typhimurium S. Ohio	(-)	(-)
6. 新 橋	S. Thompson S. Agona	S. Thompson S. Miyazaki S. Agona S. Saintpaul	S. Typhimurium	S. Typhimurium S. Thompson	O4 : i :-	S. Typhimurium
7. 原 田 橋	NT	S. Miyazaki S. Typhimurium	S. Stanley	O8 : - : 1,5	S. Thompson	NT
	平成 8 年 12 月	H 9 年 1 月	2 月	3 月	4 月	5 月
1. 新御島橋	S. Typhimurium	S. Typhimurium	(-)	(-)	NT	(-)
2. 名 島 橋	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
3. 多々良橋	S. Thompson S. Emek	S. Typhimurium	(-)	(-)	(-)	S. Ohio
4. 休 也 橋	(-)	S. Enteritidis	(-)	S. Krefeld	(-)	(-)
5. 塔の本橋	S. Miyazaki	S. Schwarzengrund	(-)	(-)	(-)	S. Enteritidis S. Typhimurium
6. 新 橋	S. Typhimurium	(-)	(-)	S. Thompson S. Enteritidis	S. Potsdam	(-)
7. 原 田 橋	NT	S. Enteritidis	NT	(-)	S. Miyazaki	(-)

NT : Not tested

て行った。

Ⅲ 結果および考察

定点において11ポイントがタンポン流失などのため調査できず、のべ73ポイントを調査するに至った。

表2にサルモネラの月別検出状況を示した。チフス、パラチフスは全期間を通じて検出されなかったが、その他のサルモネラは年間を通じて検出され、のべ73ポイントの調査地点のうち38ポイント(52.1%)から63株が分離された。

表3に分離されたサルモネラの血清型を示した。血清型は21種類に分けられ、最も多かった血清型はS. Typhimuriumで12株(19.0%)、次にS. Miyazakiが11株(17.5%)、S. Thompsonが10株(15.9%)、S. Enteritidisが5株(7.9%)、S. Agonaが4株(6.3%)と続き、上位3血清型で全体の半数(52.4%)を占めた。全国的な統計^{8) 9)}によると、S. Miyazakiを除くこれら上位の血清型はヒトから高頻度に分離される血清型と一致していた。S. Miyazakiはヒトから検出される血清型として全国的にも、また、当市の調査¹⁰⁾でも頻度の少ない血清型であった。現在、当市の下水道普及率は97.3%とかなり高くなっているため、ヒトが直接河川汚染の原因になっているとは考えにくい。生活廃水の減少によりヒト由来のサルモネラ汚染も低下しているものと思われるが依然としてヒトと関連深い血清型が検出されるということは何か共通の汚染源があるのか、あるいは河川本来の定着菌なのかは不明であるが、ヒトのサルモネラ感染症と環境のサルモネラによる汚染との関係について解明することにより疫学調査が充実するものと思われた。

同一ポイントから同一血清型のサルモネラが連続して検出された例が7例みられた。新御島橋でS. Miyazakiが4ヶ月、S. Typhimuriumが2ヶ月、塔の本橋でS. ThompsonとS. Agonaが2ヶ月、新橋でS. ThompsonとS. TyphimuriumとS. Agonaが2ヶ月連続で検出された。このように連続して検出されているという事は恒常的な汚染源の存在を示唆するものではないかということがいえる。さらに、同一ポイントから検出された菌株間での

表3 河川から分離されたサルモネラ血清型

血清型	株数
S. Typhimurium	12
S. Miyazaki	11
S. Thompson	10
S. Enteritidis	5
S. Agona	4
S. 不明(O4:i:-)	3
S. Brandenburg	2
S. Senftenberg	2
S. Ohio	2
S. Infantis	1
S. Hvitvingfoss	1
S. Newport	1
S. Tennessee	1
S. Saintpaul	1
S. Stanley	1
S. Emek	1
S. Krefeld	1
S. Schwarzengrund	1
S. Potsdam	1
S. 不明(O8:-:1,5)	1
S. 不明(O1,3,19:gmst:-)	1
計	63

表4 河川から分離されたサルモネラの薬剤感受性(計63株)

	MIC値(μg/ml)												
	≤0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	128<	256<
ABPC			5	45	8						5		
CP						22	40			1			
KM						6	25	25	6				1
GM			2	13	29	15	4						
TC			1	4	44	7	1		1	2	1	2	
NA						6	56	1					
NFLX		21	39	3									
CEZ					43	20							
CMZ			1	48	11	2	1						
CTX	17	37	9										
IPM	2	20	24	12	5								

表5 腸炎起病性ビブリオの月別検出状況

	平成8年6月	7月	8月	9月	10月	11月
1. 新御島橋 (-)		V.p (OUT:K30) V.p (UT)	non-O1 V.p (O11:K68) V.p (UT) V.f	non-O1 V.p (UT) V.f	V.p (UT) V.f	V.p (O3:K5) V.p (UT)
2. 名島橋 (-)		V.p (O11:K68) V.p (O5:K30)	non-O1 V.p (O11:K68) V.p (UT) V.f	non-O1 V.p (O5:K30) V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.p (UT) V.f	NT
3. 多々良橋	non-O1 V.v	NT	NT	NT	non-O1 V.p (UT)	non-O1 V.p (UT) V.m V.f
4. 休也橋	non-O1 V.p (UT) V.v	V.p (O4:K13) V.p (UT) V.m	NT	non-O1 V.p (UT) V.m	V.p (O5:K30) V.p (UT) V.f	V.p (O11:K25) V.p (UT) V.f
5. 塔の本橋	V.p (O5:K30) V.m V.v	non-O1 V.p (UT) V.m	NT	non-O1 V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.p (UT) V.m	V.p (O4:K13) V.p (UT)
6. 新橋	non-O1 V.v	non-O1 V.p (UT) V.m	non-O1 V.p (UT)	non-O1 V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.p (UT) V.f	V.p (O2:K28) V.p (O8:K39) V.p (UT) V.f
7. 原田橋	NT	non-O1 V.p (UT)	non-O1 V.p (O11:K68) V.p (UT) V.v	non-O1 V.p (O5:K20) V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.p (UT)	NT

	平成8年12月	平成9年1月	2月	3月	4月	5月
1. 新御島橋	V.p (O3:K20) V.p (UT)	V.p (UT)	V.p (O11:K22) V.p (OUT:K30) V.p (UT)	non-O1 V.p (UT)	NT	V.p (O6,O11:K18) V.p (UT)
2. 名島橋	V.p (O5:K30) V.p (UT)	non-O1 V.p (O5:K15) V.p (O5:K30) V.p (UT)	V.p (UT)	non-O1 V.p (OUT:K39) V.p (UT)	non-O1 V.p (O11:K68)	V.p (O3:K37) V.p (O11:K68) V.p (UT)
3. 多々良橋	V.p (O3:K5) V.p (UT) V.m	non-O1 V.p (UT)	V.p (UT)	non-O1	non-O1 V.p (UT) V.m	non-O1 V.p (O5:K30) V.p (UT) V.m
4. 休也橋	non-O1 V.p (O2:K28) V.p (O5:K30) V.p (UT)	non-O1 V.p (O5:K30) V.p (O11:K70)	V.p (UT)	non-O1 V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.p (O8:K25)	V.p (O4:K34) V.p (O5:K30) V.p (O11:K68)
5. 塔の本橋	V.p (UT)	V.p (O5:K17) V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.f	V.p (O4:K53) V.p (UT)	V.p (O5:K30) V.m	V.p (O5:K30) V.p (O8:K25) V.p (UT)
6. 新橋	non-O1 V.p (O2:K28) V.p (UT)	non-O1 V.p (O5:K30)	V.p (O5:K30)	non-O1 V.p (UT)	non-O1 V.p (O5:K30) V.m	non-O1 V.p (O3:K34) V.p (O5:K17) V.p (UT) V.m
7. 原田橋	NT	V.p (O3:K20) V.p (UT)	NT	non-O1 V.p (O11:K22)	non-O1 V.p (UT)	non-O1 V.p (O3:K20) V.p (O5:K30) V.p (UT) V.m

NT : Not tested non-O1: *V. cholerae* non-O1
 UT : untypeable V.p: *V. parahaemolyticus*
 V.m: *V. mimicus*
 V.f: *V. fluvialis*
 V.v: *V. vulnificus*

相違を疫学マーカーなどで解析することを今後の課題としたい。

表4に河川から分離したサルモネラ63株について薬剤感受性を行った結果をMIC値で示した。全菌株63株中17株(27.0%)が使用薬剤のいずれかに耐性を示し、そのうちの7株(41.2%)が2剤に耐性であった。薬剤ごとにみると、耐性率の高い順にKM7株(11.1%)、TC7株(11.1%)、ABPC5株(7.9%)、GM4株(6.3%)、CP1株(1.6%)で、NA、NFLX、CEZ、CMZ、CTX、IPMに対する耐性菌は1株も分離されなかった。

つぎに、表5に腸炎起病性ビブリオについての月別検出状況を示した。今回の東部河川の調査地点は、地理的な関係で下流域のみの調査であり、水質としては汽水域にあたっていたため、どのポイントからも年間を通じて腸炎起病性ビブリオ属が多数分離されたが、伝染病菌であるコレラ菌は全期間を通じて検出されなかった。のべ73ポイントの調査地点のうち*V. parahaemolyticus*が68ポイント(93.2%)、*V. cholerae* non-O1が37ポイント(50.7%)、*V. mimicus*が14ポイント(19.2%)、*V. fluvialis*が11ポイント(15.1%)、*V. vulnificus*が5ポイント(6.8%)から検出された。*V. parahaemolyticus*は血清型別を行った結果114株に分けられた。

検出された全ての*V. cholerae* non-O1はコレラ菌免疫血清O139に凝集せず、*ct*遺伝子も見られなかった。また、全ての*V. parahaemolyticus*について*tdh*および*trh*遺伝子も見られなかった。

他都市での調査でも河川水から腸炎起病性ビブリオが検出されることはまれではなく、*V. cholerae* non-O1については山野井らの調査⁴⁾で72%、芹川らの調査⁵⁾で57.4%、以前当市で行った渡部らの調査²⁾で71.4%、また、*V. parahaemolyticus*については芹川らの調査⁵⁾で41.6%と高率に検出されている。今回の調査においても*V. cholerae* non-O1が50.7%、*V. parahaemolyticus*が93.2%と河川水に高率に分布していることが認められた。今回の調査では全ての株について毒素産生遺伝子は認められなかったが、コレラ毒素を産生しないNon-O1 *Vibrio cholerae*による食中毒の発生もみられている¹¹⁾。また、*V. mimicus*による食中毒の報告¹²⁾も

あり、このような腸炎起病性ビブリオによる環境汚染により魚介類も汚染されている可能性が高く、食中毒発生を予防するために今後も環境中の病原菌による汚染実態を把握することが必要だと思われた。

文 献

- 1) 小田隆弘, 他: 福岡市内河川・博多湾および市販さしみにおけるいわゆるNAGビブリオの検出状況, 福岡市衛試報, 5, 75-80, 1980
- 2) 渡部高貴, 他: 河川水・海水より検出された*V. cholerae* non-O1の毒素産生性, 福岡市衛試報, 11, 39-43, 1986
- 3) 磯野利昭, 他: 感潮域内におけるタンポン法によるチフス保菌者の追跡について, 福岡市衛試報, 6, 51-53, 1981
- 4) 山野井茂樹, 他: 河川水における腸管系病原菌の定点観測(第VII報), 堺市衛生研究年報, 7, 87-95, 1989
- 5) 芹川俊彦, 他: 石川県における河川でのコレラ菌定点観測, 石川衛公研年報, 26, 469-472, 1989
- 6) 金井興美: 微生物検査必携細菌・真菌検査(第3版), D2-E18, 財団法人日本公衆衛生協会, 1987
- 7) 五島 瑳知子訳: 好気性菌に対する希釈抗菌薬感受性試験法(第2版), NCCLS Document M7-A2, Vol.10, No.2, 表2, 1990
- 8) 厚生省保健医療局: <特集>サルモネラ, 病原微生物検出情報, Vol.18 No.3, 1-2, 1997
- 9) Tatsuo MIYAMURA: Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan 1992, Jpn. J. Med. Sci. Biol., 46, 24-126, 1993
- 10) 微生物課臨床検査係: 過去10年間の腸管系病原微生物の検出状況, 福岡市衛試報, 19, 133-136, 平成5年度
- 11) 樋脇 弘, 他: Non-O1 *Vibrio cholerae*を検出した食中毒事例について, 福岡市衛試報, 18, 79-81, 平成4年度
- 12) 厚生省保健医療局: *V. mimicus*による食中毒, 病原微生物検出情報, Vol.18, No.2, 6, 1997