

[ 資料 ]

## Yersinia 属菌の検出状況について

### Isolation of Genus Yersinia from Rivers

師尾 寿子    小林 毅    吉田 靖宏    鈴木 欣哉  
塚田 正和    青木 囊    清水 良夫    富所 謙吉  
高杉 信男

Hisako Moroo, Takeshi Kobayashi, Yasuhiro Yoshida,  
Kin-ya Suzuki, Masayori Tsukada, Minoru Aoki,  
Yoshio Shimizu, Kenkichi Tomidokoro and Nobuo Takasugi

#### 1 緒 言

近年, *Y. enterocolitica* (以下 *Y. ent* と略す) は食中毒事例からの検出も増加し, 人畜共通感染症の原因菌として注目されてきている。本菌による環境の汚染状況を把握する為, 河川水等の調査を昭和58年4月より行なってきた。

昭和60年4月までに, 札幌市内21ヶ所の河川, 排水路水, 延299体について調査をしたところ, その間に *Yersinia* 属菌 (*Y* 属菌) 7株を検出したが, *Y. ent* 及び *Y. pseudotuberculosis* (*Y. pseu*) は検出されなかった。上述の期間は分離平板に, *SS* 及び *DHL* 平板を用い, 又アルカリ処理もしていなかった為コロニーの選別も困難であった。

そこで, 昭和60年5月からは *CIN* 平板を用い, 場合によってはアルカリ処理を行なったところ, 延190検体から *Y* 属菌 23株が検出された。また, 食肉についても若干調査をし, それぞれから採れた株について生化学的性状を調査したので報告する。

#### 2 方 法

##### 1-1 前 処 理

河川・排水路水: 市内の河川9ヶ所から隔月採水で延81検体, 排水路12ヶ所から3隔月採水で

延109検体を採取し, これらをメンブランフィルターで濾過 (濾過量200~1,000 ml) し, その濾紙の1/8を *PBS* (リン酸 buffer) 9 ml へ入れ, 4°C で4週間培養した。

食肉: 市販パックづめ商品18検体について, 1法は約2gの生肉を *PBS* と *YCC* ブイヨン培地それぞれに入れ4°C で4週間培養。2法は生理食塩水での試料10倍希釈液1 ml を *PBS* に入れ4°C で4週間培養した。1法, 2法共, その後0.4% *KOH* 液1 ml 中に培養液1 ml を加え, 20秒攪拌しアルカリ処理をした後 *CIN* 平板に塗抹した。

##### 1-2 分 離

食肉及び河川水等で培養液の濁りが著しいものについてはアルカリ処理をした後, 1白金耳を *CIN* 平板 (*OXOID*) に画線, 30°C で18~20時間培養後, 特徴のある集落を拾い, 更に1晩30°C に置いた後, 直径2~3mmの赤色 (周辺部白) 集落を釣菌した。

##### 1-3 同 定

*TSI*, *LIM*, 尿素培地で *Y* 属菌と疑われたものについて, ミューラーのリジン, アルギニン, オルニチン脱炭酸試験, 及び25°C と37°C での運動性と *VP* 反応を確かめ, その後, 日本 *ID* キット及び生培地による各生化学的性状試験 (表1)

を行なった。

表1 分離菌の生化学的性状

	河川等由来 Y, e 菌6 株中陽性数	食肉由来 Y, e 菌6 株中陽性数
リパーゼ(Tween 80)	5	5
デオキシリボヌクレアーゼ	0	0
インドール	6	6
硝酸還元	6	6
レクチナーゼ	5	5
酸産性:		
ラフィノース	0	0
ラムノース	0	0
シュークロース	6	6
メリビオース	0	0
α-DMG	1	0
D-キシロース	4	6
トレハロース	6	6

1) 生培地にて30°C培養, 3日目まで観察。

Y ent と疑われた菌株はIDキットで同定された上, 表2に従いラムノース, メリビオース非分解, 白糖分解であることを確かめ, エルシニア, エンテロコリチカとした。その他のY属菌も表2に従って鑑別し, Y ent との合計数をY属菌陽性検体数として表3, 表4に示した。

表2 エルシニア, エンテロコリチカおよびその近縁菌の鑑別性状

	Y. enterocolitica	Y. intermedia	Y. frederiksenii	Y. kristensenii
ラムノース	-	+	+	-
白糖	+	+	+	-
メリビオース	-	+	-	-

### 3. 結果

#### 3-1 河川等について(表3)

従来の方法では, Y属菌の検出率は2.3%であったが, 分離平板を変えることによって121%に

上った。Yentは190検体中6検体から6株分離され, 検出率は32%, その生物型別(Wauters70)は1型3株, 2型1株, D-キシロース非分解で型別不明になったものが2株あった。又市販血清(デンカ生研)に凝集したものが, O-5に1株, O-8に1株あり, 共に生物型は1型であった。日水IDキットでエンテロコリチカの菌名が示されても, 生培地による鑑別試験で表2に当てはまらないものが4株あり, 菌種名不明株とした。

#### 3-2 食肉について(表4)

1法で分離を試みたところ, 食肉10検体中6検体がYent陽性となった。そのうち市販血清に凝集したものは, トリ肉からの2株のみであるが, 病原株といわれているO-5型, 生物型2型が1株検出された。

### 4 まとめ

Y属菌分離にCIN平板とアルカリ処理を用いることによって, 従来法に比べ選択的に集落を釣菌することが出来, 又低温, 長期間の培養でY属菌と共に増えてしまう非発酵菌の多くを除くことが可能となった。PBSとYCCブイヨンの増菌効果の比較(図1)ではYCCの方がPBSを上回ってはいたが, 同時にかかなりのY属以外の菌も増菌され, アルカリ処理が必要であり検体数が多い場合繁雑になる。その為河川水等の増菌培地には従来通りPBSを用い, 培地の濁りが著しいものについてはアルカリ処理を行なった。

河川からの分離株で市販血清のO-8に凝集するものがあったが, O-8株は末だ我国では分離されていず, O-7と共通抗原を有するものがあるので今後O-7かO-8かを確かめる必要がある。

食肉からのYent検出は1法で行なったところ10検体中6検体が陽性であったが, 2法との違いはサンプリング量の違いであるので, 今後の検査は試料2gをサンプリングすることとした。

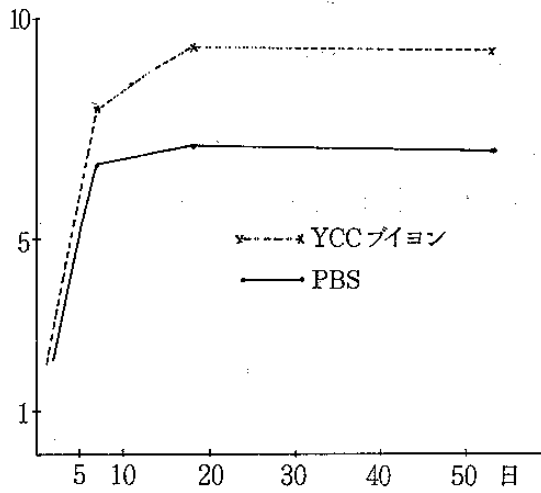
表3 河川・排水路水からのエルシニア菌検出状況

採水月	検体数	エンテロコリチカ陽性検体数	Y属菌陽性検体数	Y属菌検出率	菌名(件数)
60年 5	11	0	2	18	Y.kristensenii (2)
6	11	0	2	18	" (1)
7	11	0	2	18	Y.intermedia (1)
8	10	2	2	20	Y.enterocolitica (2)
9	11	0	1	9	Y.intermedia (1)
10	10	1	2	20	Y.enterocolitica (1) Y.intermedia (1)
11	11	0	1	9	" (1)
12	10	0	0	0	
61年 1	11	0	3	27	Y.intermedia (2)
2	10	0	0	0	
3	11	1	1	9	Y enterocolitica (1)
4	10	0	1	10	
5	11	2	2	18	Y.enterocolitica(2)
6	10	0	0	0	
7	11	0	1	9	Y.intermedia (1)
8	10	0	0	0	
9	11	0	0	0	
10	10	0	3	30	Y.intermedia
計	190	6	23	12.1	※ 菌種名不明株 4株

表4 食肉からのエルシニア菌検出状況

	検体数	エンテロコリチカ陽性検体数	血清型	生物型	Y属菌陽性検体数	菌名(件数)
1法	トリ肉-6	3	O-5 (2) ouk (1)	1型 (2) 2型 (1)	4 *	Y intermedia (2)
	豚肉-4	3	ouk (3)	1型 (3)	3	Yfredriksenii(1)
2法	トリ肉-4	0			0	
	豚肉-4	0			0	

※ 4検体からYe 3株, Y intermedia 2株, 種別不能株 1株分離



- 1) 使用菌株は Y. ent O-3
- 2) 段階希釈後, 平板塗抹し, 菌数計測。

図1 増菌効果の比較

分離された Y ent で生物型別不明株については更に, 自然凝集性, VW抗原テストを行なう。又 IDキットでエンテロコリチカの菌名が示されても, その後の追加試験で鑑別表と一致せず菌種名不明としたものが, 河川及び食肉由来共にあった。これらについてはラフィノース, メリビオース共に分解する菌株で, ラムノース非分解, 白糖分解, レンチナーゼ陰性の群に該当するエンテロコリチカ菌もあるので, 今後の検討課題としたい。