

〔資料〕

Yersinia pseudotuberculosis によるサル感染例と分離菌の性状

A Infection due to Yersinia pseudotuberculosis in Monkey and Characterization of isolates

師尾 寿子 小林 毅 西根 裕治* 大森 茂
清水 良夫 富所 謙吉 高杉 信男

Hisako Moroo, Takeshi Kobayashi, Yuuji Nishine, Shigeru Ohmori, Yoshio Shimizu, Kenkichi Tomidokoro, Nobuo Takasugi

1 緒言

Yersinia pseudotuberculosis (以下Y.ptbと略す)は獣医学領域では、ゲッ菌類の病原菌として古くから関心が持たれていた菌であり、Yersinia enterocolitica (以下Y.entと略す)とともにヒトYersinia 感染症の原因菌である。

ヒトへ感染・発症した場合の臨床症状^{1) 2) 3)}は多彩で、肝機能障害・腎不全⁴⁾を呈し、長期の入院加療を要するものもあり、近年は“泉熱”の原因菌と考えられているのみならず、Y.ptb 感染症と川崎病との関連を指適する報告⁵⁾もある。昭和61年には千葉県で学校給食が原因とみられる患者数500名以上の関東以北では初の集団発生が報告⁶⁾され、人畜共通感染症として一層注目されるようになった。北海道では、1971年に初のヒト感染症例が報告⁷⁾されたが、それ以降のヒト症例報告はみられない。しかし、道内流行地に生息するネズミからY.ptb を分離した報告^{8) 9)}もあり、本菌は身近な生活環境中にも存在するものと思われる。

昭和61年4月、札幌市内で病死したサルより、Y. ptb を分離したことから、検出菌の性状を調べるとともに、付近の環境調査を行なったので、その概略を報告する。

2 方法

2-1 検査対象物

病死したサル(ワウワウテナガザル, メス4才)の肝臓・脾臓・腸間膜リンパ節・小腸・肺について剖検及び菌検索をした。園内動物糞便55検体、環境水9検体についてエルシニア菌検索し、園内ウサギ・ネズミ血清9検体について血清抗体価測定をした。

2-2 菌分離及び同定

臓器・糞便・腸管内容物は直接培養と培菌培養を行い、河川水・池の水はメンブランフィルターで500mlろ過後、増菌培養のみ行った。菌分離にはCIN平板(OXOID)及び5%羊血液寒天平板を用い、30°Cで18時間培養後、定型的コロニーを釣菌した。増菌培養はPBS (Phosphat Buffer Salin)を用い、5°Cで2週間、及び4週間行った。分離菌は各種生培地、及びIDキット(日水)を用い同定し、Y. ptb と Y. ent については市販血清(デン化生研)による血清型別を行った。VW抗原の確認法は、カルシウムイオン依存性をみるシュウ酸マグネシウム培地による方法¹⁰⁾に従った。

*札幌市円山動物園

2-3 血清抗体価測定

- 1) 使用抗原液：Y. ptb 1 b 株（鳥取大学分与株）
Y. ptb 4 b 株（国立札幌病院分与株）、Y. ent
0 3 株（患者由来株）を加熱処理、生理食塩水
でマクファーランドNo. 1 程度に浮遊させた。
- 2) 血清前処理：希釈血清を56°C、30分で非働化
し、その後Y. ptb 4 b 抗体価を測定する血清に
ついては、Salmonella enteritidis で共通
抗原を除去した。
- 3) 抗体価測定：U プレートを用い血清25 μ l を
段階希釈し、同量の抗原液を加え、50°C、2 時
間加温後、1 夜室温放置、実体顕微鏡下明瞭な

凝集あるものを陽性とした

3 結果及び考察

3-1 臓器所見

各臓器の外観は、肝臓は腫大し、粟粒大から大
豆大までの大きさの湿性膿瘍結節が密発し、大き
い膿瘍では内容が黄色液状であった。脾臓は結節
は認められなかったが、硬く腫張していた。腸間
膜リンパ節も腫大していたが、小腸及び肺の外観
は正常であった。

3-2 菌検出状況

病死したサル肝臓及び腸間膜リンパ節から高

表 1 サル由来 Y. ptb の性状

試 験 項 目		判 定	試 験 項 目		判 定
生 物 化 学 的 性 状	運 動 性 (半流動培地)	25°C 37°C	-	カルシウムイオン依存性	+
	V. P (VP培地)	25°C 37°C	-	2) 薬 剤 感 受 性	S
	インドール	-	カナマイシン		S
	ウレアーゼ	+	セファロリジン		S
	ブドウ糖からのガス産生	-	ナリジクス酸		S
	オキシダーゼ	-	セファレキシン		S
	エスクリン ¹⁾	+	クロラムフェニコール		S
	メリビオース ¹⁾	+ ²⁾	テトラサイクリン		S
	ラムノース ¹⁾	+	ゲンタマイシン		S
	ラクトース ¹⁾	-	ピペラシリン		S
	β -ガラクトシダーゼ	+	ミノサイクリン		S
	リパーゼ (Tween80)	-	アンピシリン		S
			コリスチン		R
			エリスロマイシン		R

1) 28°Cにて 3日目まで観察

2) S:感受性 R:耐性

濃度に、また脾臓からはg当たり500個程、小腸及び肺からは増菌培養でのみY. ptbを検出した。各臓器からの検出菌について、確認同定試験を行ったところ、5株全て各生物化学的性状が同じであり、25°Cにおける運動性が認められなかった以外はY. ptbの性状と一致した。一濃度ディスク法(BBL)により感受性試験を行ったところ、コリスチンとエリスロマイシン以外の10薬剤に感受性であった(表1)。病原性の確認は、シュウ酸マグネシウム培地を用い、26°Cと37°Cにて培養する方法で行った。その結果、26°Cで菌液の希釈倍数に応じて集落が発生し、37°Cでは全く集落が発生しなかったことから、VW抗原強陽性と判定した。分離菌株は、市販血清の4群に凝集したので、型別決定を鳥取大学に依頼した結果、Y. ptb 4 b菌と同定された。

その後の調査では、園内動物及び環境水から、Y. ptbを検出できなかった。病死したサル発症当時、同様の症状があった隣接ケージのサル3匹からもY. ptbが検出されなかったのは、糞便採取2日前

にテラマイシン(塩酸オキシテトラサイクリン)が投与されていたためと思われる。Y. ptb以外のYersinia属では、Y. entを7検体中7株、その他のYersinia属菌を10検体中12株、検出した。(表2)分離したY. entで市販血清に凝集するものではなく、また全てVW抗原テスト陰性であった。河川水・池の水から分離したY. entは全てエスクリン陽性株であり、市内他地点の河川水から分離される株と似た性状であった。ウサギ・モルモット由来株は、エスクリン陰性で臨床由来株に多い性状であった(表3)

3-3 血清抗体価測定

ウサギ・ネズミ血清について抗体価を調べたところ、Y. ptb 1 bに対し160倍を示す血清が1検体あった(表4)。しかし、動物血清の前処理にアセトン処理を用いて良い結果を得ている報告¹⁾があるので、同法による処理後、抗体価測定を行った。同ウサギ血清は160倍から20倍に下がり、Y. ptb 4 b抗体価も80倍から20倍へ低下しており、アセトン処理によって非特異凝集素が除かれたも

表2 検体別エルシニア菌検出数

検体名	検体数	Y. ent検出数	その他のエルシニア検出数
フン便(サル)	24	1(1型) ¹⁾	
〃(鳥類)	13		2(Y. kristensenii Y. frederiksenii)
〃(ゲッ歯類)	14	2(3型)	3(Y. kristensenii)
水(園内池)	3	1(1型)	2(Y. intermedia)
〃(園内河川)	3	3(1型-2 2型-1)	3 Y. kristensenii Y. frederiksenii Y. intermedia
〃(園内下水)	3		
ネズミ腸管	4		

1) Wautersによる生物型

表3 分離Y. ent の性状

由 来	試験項目											
	エ ス ク リ ン	ラ ク ト ー ス	ラ ム ノ ー ス	白 糖	メ リ ピ オ ー ス	α I M D G	キ ン ロ ー ス	リ パ ー ゼ	レ シ チ ナ ー ゼ	D I N A S E	イ ン ド ー ル	硝 酸 還 元
オマキザル	+	+ ⁴	-	+	-	-	+	+ ²	+ ²	-	+	+
ウサギ	-	+ ⁴	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
モルモット	-	+ ⁴	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
河川水	+	+ ⁴	-	+	-	-	+ ²	+	+	-	+	+
河川水	+	+ ⁴	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
池水	+	+ ⁵	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+

表4 血清抗体価（マイクロタイター法）

由 来	最高希釈倍数 検 体 数	Y. ptb 1 b		Y. ptb 4 b ¹⁾		Y. ent 0-3	
		≤20×40×80×160	≤20×40×80	≤20×40×80	≤20×40×80		
ウサギ	7	5 0 1 1	6 0 1	7 0 0			
ネズミ	2	2 0 0 0	2 0 0	2 0 0			

1) Salmonella D₁群で血清処理後測定

表5 アセトン処理による血清抗体価の比較

血 清 No.	Y. ptb 1 b 抗体価		Y. ptb 4 b 抗体価		Y. ent 0-3 抗体価	
	処 理	未処理	処 理	未処理	処 理	未処理
ウサギ-1	20	<20	20	<20	<20	<20
〃-2	40	80	20	<20	<20	<20
〃-3	20	<20	<20	<20	<20	<20
〃-4	<20	<20	<20	<20	<20	<20
〃-5	20	20	20	20	<20	<20
〃-6	40	<20	40	<20	<20	<20
〃-7	20	160	20	80	<20	<20
ネズミ	20	<20	<20	<20	<20	<20

のと考えられるので陰性と判定した(表5)。

4 結 語

1. 市内動物園で発生したサル感染症例から分離したY. ptbは血清型4 b、VW抗原陽性株であった。
2. 園内動物及び周辺環境中からY. ptbは検出されず、また園内動物の血清抗体価を測定したところ有意に高いものはなかった。
3. Y. ptb以外のエルシニア属では、Y. ent他3菌種を検出した。Y. entについて生物型別と血清型別、及びVW抗原テストを行ったが、病原性株はなかった。

以上のことより、Y. ptbによるサル感染症の感染源は不明であったが、Y. ptbと環境中での成育条件が同様な他のエルシニア属は河川水等から検出されることから、Y. ptbも生存する環境下にあるものと考えられる。本市においては、現在までにY. ptbによるヒト感染症例報告はないが、Y. entによるエルシニア症報告¹²⁾は、60年4件、61年7件、62年14件と増加してきており、Y. ptb及びY. entの生活環境中での分布状況等を把握しておくことは公衆衛生上重要と思われる。

本事例で分離したY. ptbの血清型決定と菌株分与をしていただいた鳥取大学農学部の坪倉操教授、及び血清抗体価測定時のアセトン処理法をご教示いただいた北海道大学獣医学部の橋本信夫教授、に深謝いたします。

参考文献

- 1) 坪倉操他：感染症学雑誌，61，737～745（1987）
- 2) 武田修明他：小児科臨床，39，731～739（1986）
- 3) 岩田敏他：感染症学雑誌，58，333～336（1984）
- 4) 芦野伸彦：小児科臨床，37，22～26（1984）
- 5) Sato, et al: *Pediatr. Infect. Dis.*, 2, 122～125（1983）
- 6) 小岩井健司他：衛生微生物技術協議会第7回口演要旨集
- 7) 相川孝史他：北海道立衛生研究所報，24，84～85（1974）
- 8) Kaneko, et al: *App. Env. Mic.*, 37, 1～3（1979）
- 9) Kaneko, et al: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 375～377（1982）
- 10) P. Gemski, et al: *Infect. Immun.*, 27, 682～685（1980）
- 11) Kaneko, et al: *Ame. J. Vet. Reser.*, 44, 511～515（1983）
- 12) 病原微生物検出情報（月報）：vol 6～8（1985～1987）