

Aeromonas 属の分類学的研究:

河川土壌・河川水および淡水魚由来運動性*Aeromonas*属の
数値分類およびファージ型別について

福 山 正 文

1987

Aeromonas 属の分類学的研究：

河川土壌・河川水および淡水魚由来運動性 Aeromonas 属の数値分類および
ファージ型別について

福 山 正 文

1987

目 次

第1章 緒 言	1
第2章 実験材料および方法	5
1. 調査材料	5
2. 分離および同定	5
3. 分離菌株の数値分類	9
4. ファージの分離方法	10
5. ファージ型別法	11
第3章 成 績	12
1. <u>Aeromonas</u> 属の分離状況	12
1) 河川土壌からの本菌分離状況	12
2) 河川水・湖水からの本菌分離状況	12
3) 淡水魚からの本菌分離状況	12
(1) 魚種別における本菌分離状況	13
(2) 検査部位別における分離状況	13
2. <u>Aeromonas</u> 属の推定菌量	14
1) 河川土壌における本菌推定菌量	14
2) 河川水・湖水における本菌推定菌量	15
3) 淡水魚の腸管内における本菌推定菌量	16
3. <u>Aeromonas</u> 属の分類および同定	16
1) Popoffらによる分類学的検討 (Bergy's manual 1984年版)	16
(1) 河川土壌の分離菌株について	16
(2) 河川水・湖水の分離菌株	17
(3) 淡水魚からの分離菌株について	18
2) 数値分類学的検討	18
(1) 河川水・湖水および河川土壌由来の分離菌株について	18
(2) 淡水魚由来の分離菌株について	19
(3) 菌種別における生化学的性状	20

(4) 数値分類と P o p o f f らの分類の性状比較検討	20
(5) 河川水、河川土壌および淡水魚由来株の内、数値分類で	
<u>A e r o m o n a s</u> s p p . に該当した菌株について	21
3) ファージの分離とファージ型別	22
(1) ファージの分離状況	22
(2) ファージの形態観察	22
(3) 分離ファージの溶菌パターン	22
(4) 由来別におけるファージ型別状況	23
(5) 河川水、湖水の水系統別におけるファージ型別状況	23
(6) 菌種別におけるファージ型別状況	24
(7) 混合型に型別された菌株のファージ型別の組み合わせ数	24
(8) <u>A e r o m o n a s</u> s p p . のファージ型別状況	24
(9) <u>A e r o m o n a s</u> s p p . の由来別におけるファージ	
型別状況	25
(10) <u>A e r o m o n a s</u> s p p . の水系統別における	
ファージ型別状況	25
4. 河川、湖水、河川土壌および淡水魚における検体別の本菌分類	
状況	26
1) P o p o f f らによる分類学的検討 (B e r g y ' s	
m a n u a l 1984年版)	26
(1) 河川土壌における分布状況	26
(2) 河川水および湖水における分布状況	27
(3) 淡水魚における分布状況	27
2) 数値分類学的検討	28
(1) 河川水、湖水および河川土壌における本菌分布	28
(2) 淡水魚における本菌分布	29
3) ファージ型別状況	29
(1) 由来別におけるファージ型別状況	30
(2) 水系統別におけるファージ型別状況	30
(3) 菌種別におけるファージ型別状況	30

第4章 考 察	3 1
第5章 結 論	3 8
謝 辞	4 0
文 献	4 1

Aeromonas属はVibrio属ときわめて類似した性状を示す細菌で、河川、池、湖、沼地の水やその泥土などに広く分布している淡水性菌である[4,9,10,12,15,36,37,48,59,66,67,86,88,100]。本菌属に含まれるAeromonas hydrophila (A. hydrophila) の病原性については、カエルの“red leg”の原因菌として最初に発見されて以来、淡水魚、ハ虫類や両生類に病原性があることで知られていた[2,6,37,45,47,68,77,83,96,99,101]。なかでも養殖魚（マス、サケ、ウナギなど）に出血性敗血症、鰭赤病や穴あき病などを発病させ養殖業に経済的に大きな被害をもたらしている[89,101,102]。

一方、ヒトにおいても本菌は以前から弱病原性を示し、臨床材料からしばしば分離され、日和見感染症（自発性感染症）の原因菌として知られている。例えば、転位性筋炎、蜂巣炎、壊疽、腹膜炎、骨髓炎、髄膜炎、肺炎、気管支炎、心内膜炎、中耳炎、外耳炎、創傷感染、敗血症、白血病、化学療法中の腫瘍、肝および胆道疾患などの免疫不全患者など各臨床症例から分離された報告がある[1,5,7,11,17,21,22,23,26,27,28,31,38,39,44,49,50,55,62,63,64,70,71,76,78,79,82,85]。

ところが、最近Caselitzらは下痢症状を呈した患者ふん便よりA. hydrophilaを純培養状に検出し、本菌の腸炎起病性を示唆した。その後、多くの研究者[3,8,13,18,20,29,30,41,52,61,69,72,97]が本菌を下痢患者より多数検出し、下痢症の起因病原菌であることを確認した。また、A. hydrophilaの他に、Champsaurら[13]はコレラ様下痢症状を呈した患者よりAeromonas sobria (A. sobria)を証明し、本菌もA. hydrophilaと同様に下痢症の起因菌であることを報告した。

1982年、わが国では厚生省が、A. hydrophilaやA. sobriaをCampylobacter jejuniやVibrio cholerae non-01、Vibrio fluvialisと共に食中毒の起因菌と位置づけ、本菌による疾患の行政上の対応を明確にした[80]。これ以降、わが国においてもAeromonas属に関心が高まり、新しい病原菌として注目されてきた。

下痢患者に対する細菌学的検索データの集積とあわせて、本菌の下痢起病性因子に関する研究も進められてきた。最近Sanyalら[84]がウサギの腸管ループを用いて腸炎起因性について実験を行い、A. hydrophilaが腸管毒性物質を産生する

ことを報告した。その後、Wadstromら[98]およびLiunghら[61]は、ウサギ腸管ループ、ウサギの皮膚および培養細胞を用いて、A. hydrophilaの培養上清を用いて検査したところ、コレラエンテロトキシンや大腸菌の易熱性毒素(LT)と同様の作用機序をもつエンテロトキシンを証明している。また、Cumberbachら[18]はヘモリジン活性を示す易熱性の細胞壊死毒(cytotoxin)が下痢に関与することを報告しており、本菌の病原因子については明確にされていないが、A. hydrophilaがヒト下痢症の原因菌であることには疑いがない[6, 18, 24, 43, 53, 54, 60, 61, 72]。

ところで、ヒト下痢症に関与するAeromonas属の自然環境下における分布調査や分類学的研究は必ずしも明らかにされていないのが現状である。本菌のヒトへの感染源としての分布調査については、Schubert[86]が河川水から、Hazenら[36, 37]が淡水や海水から、Kaperら[48]が米国のChesapeake湾における沿岸海水やその沿岸の泥土における本菌分布調査を行っているにすぎないし、わが国においてもこの方面に関する研究はほとんど手がかけられていない。一方、環境汚染の指標菌の立場よりSeidlerら[88]が河川水のAeromonasを定量的に検討しているが自然環境下における本菌の広範囲な分布調査が必要であろう。

本菌の分類学的研究は、Sanarelli[83]がカエルの疾患から一菌株を分離しBacillus hydrophilus fuscusと最初に記載したが、後になってChesterによってBacillus hydrophilusに改められた。しかし、その後も本菌の分類には色々の混乱があり、ときにはProteus属やPseudomonas属あるいはVibrio属に分類されたりしたが、Kluyverら[51]の提案によりBergey's manual of Determinative Bacteriology (1957年版)の第7版に初めてAeromonas属が記載され、本菌名が認識される様になった。ところがその後も分類学名について論争が繰り返されたが、ようやく、1974年にSchubert[87]が提案した本菌の分類が、Bergey's manual of Determinative Bacteriology (1974年版)の第8版に採用された。しかし本分類は、伝統分類の概念によって主観的に分けられたもので、必ずしも明確な分類がされておらず、多少の混乱が認められた。しかし最近、Popoffら[75]はAdansonより始められた数値分類を応用して、本菌の各生化学的性状を用いて、それぞれの単位性状は同じ重要性を持つと仮定し、それら全体の相似性を求め性状を数値化することによる分類を試みた結果、従来のSchubertによる分類では、A. hydrophilaとA. punctataは異なった菌種として記載されていたが、Popoffらの数

値分類の成績では同一菌種に含まれるとの提案がなされた。また、Popoffは A. hydrophila と異なる一群を数値分類でみだし、A. sobria と命名した。また、Popoffら[74]は、本菌のDNA-DNA相同性の研究において、ガス非産生の運動性 Aeromonas には2種類あることを認め、一つはA. hydrophila や A. sobria に該当しない菌種で Aeromonas caviae (A. caviae) と記載した。これらのことから、Popoffらは Aeromonas 属には A. hydrophila、A. sobria、A. caviae および A. salmonicida の4菌種に分類できることを提案した。現在のBergey's manual of Systematic Bacteriology (1984年版) ではPopoffら[73]の分類が採用されて記載されている。しかし、本菌の分類はすべてが解決したものではなく、著者が分離した自然界由来菌株のうち本分類に該当しない菌株が多数認められ、未解決な点も数多く残されていることが確認され、再検討する必要があると思われる。

A. hydrophila を細分類するために、血清学的立場からの研究もいくつか報告がなされてきた。Ewingら[80]は、12のO抗原と9のH抗原の存在を、郭[102]は魚由来株を用い14種の抗血清を作製し分離菌株について型別を行ない35%が型別されている。Leblanc[58]らも魚由来のA. hydrophila と A. sobria の血清型別を試み12のO抗原を作製し、分離菌株の20%を型別している。しかし、EwingやLeblancらの研究では抗原構造表を示すまでに至っていなかった。ところが最近、島田ら[80]はEwingらのシステムとは全く別個な方法で運動性を持つ Aeromonas (A. hydrophila、A. sobria) の血清学的研究を進め、現在では40種のO抗原と3種のH抗原の存在を明らかにし、本菌の血清学的分類に応用されつつある。

一方、ファージ型別についての研究は、大腸菌、サルモネラやブドウ球菌などに比べ、Aeromonas 属についてのファージに関する研究の報告はほとんどないし、ファージ型別による分類は確立されていない。魚病に関する A. salmonicida についてはファージにより3群に型別されている[74]が、それ以外の Aeromonas についてはファージ分離は最近まで検討されていなかった。ところが、Wuら[103]は、魚の病変部から A. hydrophila のファージを8種類分離した。Chowら[14]も下水中から、A. hydrophila のファージを2種類分離を行い、ファージの性状検査を行った報告が認められるが、本菌のファージ型別については、まだ確立されていないのが現状である。

そこで、著者は上述のことを踏まえ、本研究では、第一に自然環境下に存在す

る本菌の分布状況と汚染菌量の調査を行い、現在、本菌の分類に使用されている Popoffらの方法に従って検討した。第2に分離菌株についてAdansonらの方法に従って、数値分類を応用して、数値分類とPopoffらの分類について比較検討した。第3に河川水や土壌からファージの分離を試み、分離菌株についてファージ型別を検討した。

以上3点について検討を行ったところ、興味ある知見が得られたので、その成績について報告する。

第2章 実験材料および方法

1. 調査材料

1982年10月から1984年7月の期間に多摩川（東京都）のA-Hの8地点について河川水を経時的に採水した計44件や相模川（神奈川県）ではA-Hの7地点で48件と津久井湖（神奈川県）ではA-E地点で40件の計132件を採水した。河川水の採取と同時に同一地点において各地点から5ヶ所ずつ河川の岸や底および湖の岸泥土を計514件採取した。（図1）また、多摩川と相模川で捕獲した淡水魚511件を調査対象とした。なお、多摩川と相模川の材料採取地点は下記の地域である。

多摩川：A地点（福生市羽村町付近：河口より約75km上流）

B地点（日野市日野橋付近：河口より約57km上流）

C地点（D地点より1km上流：河口より約41km上流）

D地点（稲城市矢野口付近：河口より約40km上流）

E地点（D地点より2km上流：河口より約42km上流）

F地点（B地点より1km下流：河口より約56km上流）

G地点（A地点より1km下流：河口より約74km上流）

H地点（A地点より1km上流：河口より約76km上流）

相模川：A地点（津久井郡小倉橋・城山ダム付近：河口より約26km上流）

B地点（津久井郡小倉橋と相模原市高田橋の間地点：河口より約23km上流）

C地点（相模原市高田橋付近：河口より約21km上流）

D地点（C地点より下流1km：河口より約20km上流）

E地点（高座郡寒川町付近：河口より約8km上流）

F地点（相模原市昭和橋付近：河口より約18km上流）

G地点（E地点より約3km上流：河口より約11km上流）

2. 分離および同定

Aeromonasの分離方法については、次のごとく操作を行った。すなわち、河川水の場合には、水1lをミリポアフィルター（ $0.45\mu\text{m}$ ）で吸引し、その濾紙を、河川土壌の場合には、滅菌生理食塩水による10倍希釈浮遊液を、淡水魚の場合には、エラ、体表や腸管内容物を原材料として、それぞれDHL寒天培地上に塗

抹した。本平板培地を37℃18-24時間培養し、大腸菌の集落に酷似した紅色のものについて、一平板当たり、3-10コロニー釣菌し、Popoff & Veron[75]に従って以下に示す各種の生化学的性状を検討し同定した。

なお、菌数測定について、水の場合には水1 lをミリポアフィルター(0.45 μm)で吸引し、その濾紙を直接DHL寒天培地に塗抹した。河川土壌の場合には10倍希釈浮遊液を調製し、10¹-10⁶まで各希釈し、その調製液をDHL寒天培地に0.1 ml接種し塗抹した。淡水魚の場合には、腸管1 gを無菌的に採取後、乳鉢で材料を乳材にしその材料を10倍希釈を行い10¹-10⁷まで各調製し、その調製液0.1 mlをDHL寒天に塗抹した。以上の操作後、37℃18時間培養し、各平板上でAeromonas様の集落をカウントするとともにコロニーを各15コロニー釣菌し、Aeromonasの性状を示した菌株の比率を算出し、本菌の推定菌量とした。

同定試験に用いた各種検査項目：

a、形態学的特性

- (1) 菌の形状
- (2) グラム染色性
- (3) 固形培地での集落型(S, R)：普通寒天培地(日水)を用い、37℃18時間培養後の集落を観察した。

b、生理学的特性

- (1) 発育温度 (28℃, 37℃)：ペプトン水に培養し、各々の温度のフラン器に入れ観察した。
- (2) 発育pH (9.0)：普通寒天培地(日水)をpH9.0に調整し、その培地上に画線培養した。
- (3) 色素産生：KingA, B培地(栄研)を用い、1週間後まで観察した。
- (4) 食塩濃度 (0%, 3%, 7%, 10%)：ペプトン水に各々の濃度のNaClを加え培養した。
- (5) O₂要求性 (好気性, 嫌気性)：好気性培養は普通寒天培地(日水)に、嫌気性培養はGAM寒天培地(日水)を用いGas Pak法(BBL)で培養した。

- (6) SC、クリステンゼンC：両培地とも市販（日水）の培地を用いた。
- (7) 運動性：SIM培地（日水）を用い、35℃18時間培養した。
- (8) ブイヨンの発育：普通ブイヨン（栄研）を用いた。
- (9) レシチナーゼ反応：ハートインフィジョン寒天培地（日水）に10%の割合で卵黄を加えたものを用いた。

c、生化学的特性

- (1) 炭水化物の分解：基礎培地としてCTA培地（日水）を用い、その中に各炭水化物を0.5－1%の割合に加えた。
ブドウ糖，白糖，乳糖，マンニット，イノシット，アラビノース，セルビオース，ラフィノース，ソルビット，トレハロース，キシロース，アドニット，サリシン，マンノース。
- (2) MR：VP-MR培地（日水）を用いた。
- (3) VP：VP半流動培地（栄研）を用いた。
- (4) 硝酸塩の還元：硝酸塩ブイヨン（硝酸カリウム 1g、ペプトン 5g、精製水 1,000ml）を用いた。
- (5) 尿素の分解：尿素培地（日水）を用いた。
- (6) プロテアーゼ：普通寒天培地（日水）にプロテアーゼ（和光）を1%の割合に加えたものを用いた。
- (7) ブドウ糖からのガス産生：TSI寒天培地（日水）およびDurham管を入れた1%ブドウ糖加ペプトン水を用いた。
- (8) インドール：SIM培地（日水）を用いた。
- (9) 硫化水素産生（TSI）：TSI寒天培地（日水）を用いた。
- (10) PPA：フェニルアラニンマロン酸塩培地（日水）を用いた。
- (11) マロン酸：ファニルアラニンマロン酸塩培地（日水）を用いた。
- (12) O-F試験（F）：CTA培地（日水）を用い、好気性培養と嫌気性培養を行った。
- (13) D-酒石酸：ジョルダン培地を用いた。
- (14) ONPG（ β -ガラクトシダーゼ検出試験）：ONPGディスクを用いた。
- (15)カタラーゼ：過酸化水素を3%に調製したものを用いた。

- (16) エラスターゼ：普通寒天培地（日水）にエラスチン（半井化学）を1%の割合に加えたものを用いた。
- (17) エスクリン：エスクリンブイヨン（ペプトン水 1,000ml、エスクリン 1g、クエン酸鉄 0.5g）を用いた。
- (18) ゼラチン液：ゼラチン培地（日水）を用いた。
- (19) リジン脱炭酸：リジン脱炭酸試験用培地（日水）を用いた。
- (20) オルニチン酸：Decarboxylase medium base (Difco) に0.5%の割合に加えたものを用いた。
- (21) ヒスチジン酸：Decarboxylase medium base (Difco) に1%の割合に加えたものを用いた。
- (22) アルギニン水解試験：Decarboxylase medium base (Difco) に1%の割合に加えたものを用いた。
- (23) キチン：普通寒天培地（日水）にキチンを1%の割合に加えたものを用いた。
- (24) デンブリン：普通寒天培地（日水）にデンブリンを1%の割合に加えたものを用いた。
- (25) 牛乳：スキムミルク（BBL）を用い、凝固の有無について判定した。
- (26) アシルアミダーゼ：リン酸二水素カリウム 2g、硫酸マグネシウム 0.1g、NaCl 5g、プロピオン酸アミド 1g、精製水 1,000ml pH6.8に調製したものを用いた。
- (27) チトクローム酸化試験：オキシダーゼ試験紙（栄研）を用いた。
- (28) ノボビオシン耐性：20 μ （昭和薬品）濃度のディスクを用いた。
- (29) O-129（10 μ g, 50 μ g, 100 μ g）：2,4-diamino-6,7-diisopropyl-pteridine(SIGAMA)をミュラーヒントン培地(BBL)に各濃度を加えたものを用いた。
- (30) 炭素源利用試験：アンモニウム寒天（NaCl 5g、硫酸マグネシウム 0.2g、リン酸二水素アンモニウム 1g、リン酸一水素カリウム 1g、寒天 15g、0.2%BTB溶液 40ml、精製水 1,000ml）に炭水化物1%あるいは、有機酸0.5%を各々培地に加え用いた。炭水化物としてはサリシン、白糖、アラビノース、マンノース、

ソルビット，果糖，アルギニン，ヒスチジン。

(31) SS寒天での発育：SS寒天培地（日水）を用いた。

3. 分離菌株の数値分類

1983年－84年の期間に分離した河川水由来の72株、河川土壌由来の82株および淡水魚由来の441株の計595株を用い、前述に記載した73種の各種生化学的性状試験成績を利用し、それぞれの単位性状は同じ重要度を持つと仮定し、それらの全体の相似性 overall similarityを求め菌種の近縁性を判定した。すなわち、各種性状について（+）または（-）と表示し、2種の菌株がいずれも（+）の性状数をNsとし、いずれか一方の菌株が（+）で他方の菌株が（-）またはその逆の場合をかぞえてNdとすると、Nsが相似の数、Ndが不相似の数となる。これをSneathの理論による次式に従って相似値 similarity valueおよび非相似値 dissimilarity valueを求めた。

$$\text{Similarity value} = \frac{Ns}{Ns+Nd} \times 100$$

$$\text{Dissimilarity value} = \frac{Nd}{Ns+Nd} \times 100$$

この様にして求められた相似性を各菌株相互の合計の平均値を求め平均値の高いものから順次再配列を行った。次いで各菌株相互のSimilarity valueを影付マトリックスにし、それより分類を試みた。なお、数値分類用のプログラムの処理は麻布大学情報処理センターのHITAC 10 II（東京大学リモートバッチシステム）を使用した。

また、図中における相似度の表現は、紫色は100%、青色は90%、緑色は80%、澄色は70%、黄色は60%が相似したものとして色分けした。

4. ファージの分離方法

Aeromonasのファージ分離方法については、ブドウ球菌のファージ分離方法に準

拠して図2に示すごとく行った。

ファージの分離材料：当研究室近隣の河川水195件および河川の土壌90件の計285件を用いた。

対応菌：河川水、河川土壌や淡水魚から分離したA. hydrophila 22株、A. caviae 1株、A. sobria 2株、Aeromonas spp. 24株の計49株を用いた。

試料の処理方法：河川水の場合は、水300mlを10,000 r.p.m.で1時間高速遠心後、その上清を原材料とした。

土壌の場合は、土壌30gを蒸留水270mlに加えよく振とう後、その上清200mlを10,000 r.p.m.で1時間高速遠心後、その上清を原材料とした。

そのそれぞれの原材料の上清液を2倍濃度の普通ブイヨンに等量加えた後に対応菌を接種し30℃で2日間培養した。本培養液を5,000 r.p.m.30分間遠心し、その上清20mlにさらに2倍濃度の普通ブイヨン20mlを加え同様に培養した。遠心後、その上清をメンブランフィルター(0.22μ)で濾過を行い、その濾液を対応菌を塗布した平板の上に接種し溶菌斑をみい出し、ファージ分離を行い、2-3回普通ブイヨンで純培養後、ファージ型別の原液とした。

ファージの電子顕微鏡学的観察には、対応菌を接種した普通ブイヨンにファージ液を添加後、30℃18-24時間培養したものを10,000 r.p.m.で30分遠心しその上清を用いた。ファージを分離するために本上清液10mlを13ml用の遠心管に40%ショ糖液3mlが入っている上に重層し、ローターSRP8SA1を用い、日立、70P72超遠心器によって27,000 r.p.m.で3時間遠心後、その沈査を少量の滅菌蒸留水に浮遊させ、等量の2%リンタンゲステン酸ナトリウム溶液(pH 7.2)を混合し、JEM100C電子顕微鏡によって観察した。

5. ファージ型別法

Aeromonas属のファージ型別については次のごとく行った。すなわち、Aeromonas属ファージの Routine test dilution (RTD) 測定については黄色ブドウ球菌のファージ型別[40]に準拠して行った。すなわち、ファージ型別を行うに当た

っては型別用ファージ液は、ファージ粒子の濃度が適当でなければならない。そこで、分離したファージの増殖は30℃18-24時間培養した後、5,000 r.p.m. で30分間遠心を行い、メンブランフィルター（0.22 μm）で濾過したものをファージ原液とし、そのファージ原液を各段階希釈を行い少なくともファージ液が10³倍以上の希釈で完全溶菌を起こすものを型別用として使用した。

ファージ型別用供試菌株：1982年-83年に河川水、河川土壌および淡水魚から分離したAeromonas 594株を供試した。

ファージ型別：A. hydrophila、A. sobria、A. caviaeについてはA1-A26のファージ型を用いた。また、Aeromonas spp.についてはAM1-AM22のファージ型を用いた。

第3章 成 績

1. Aeromonas属の分離状況

1982年10月から1984年7月の2年間に、河川水、湖水132件、河川土壌514件および淡水魚511件の計1,157件の検査試料について、採取地域別（相模川水系、多摩川水系、津久井湖水系）や季節別（1月、4月、7月、10月）におけるAeromonas属の分離状況について検討した成績を表1に示した。

1) 河川土壌からの本菌分離状況

相模川水系、多摩川水系および津久井湖水系から採取した河川土壌514件中304件（59.1%）から本菌が分離された。その内訳は、相模川由来では208件中134件（64.4%）から、多摩川由来では186件中101件（54.3%）から、津久井湖由来では120件中68件（56.7%）から本菌が分離された。また、採取場所や季節による本菌の分離状況について検討を行ったところ、採取場所において相模川由来と多摩川由来の間に有意差が認められ相模川河川土壌の方が多摩川河川土壌より高い検出率であった（ $P < 0.05$ ）。月別では年間を通してほぼ同じ割合で検出された。ただし、1984年の4月に極端に分離率が低く49.0%の陽性であった。この原因として、1月から3月の期間に渡って、例年になく降雪が多く地表の温度差が激しかったことが細菌叢に影響しているものと考えられた。

2) 河川水、湖水からの本菌分離状況

河川水、湖水の由来別における分離状況は、次のごとくである。相模川由来では48件中48件（100.0%）、多摩川由来では44件中44件（100.0%）および津久井湖由来では40件中40件（100.0%）の計132件の全検査例から本菌が分離され、自然環境下の河川水や湖水には、採水場所や季節に関係なく本菌が常在菌として水中に多数存在していることが明らかとなった。

3) 淡水魚からの本菌分離状況

相模川水系と多摩川水系から捕獲した淡水魚511件中462件（90.4%）

から本菌が分離された。その内訳は相模川由来では188件中142件(75.5%)から、多摩川由来では323件中320件(99.1%)から本菌が分離された。また、捕獲地域別における検討では、多摩川由来の方から高率に分離され相模川由来との間に有意差が認められた($P < 0.01$)。

(1) 魚種別における本菌分離状況

魚種別における本菌分離状況を表2に示した。オイカワでは180件中174件(96.7%)から、フナでは119件中118件(99.2%)から、ハヤでは96件中85件(88.5%)から、カジカでは65件中38件(58.5%)から、コイでは24件中24件(100.0%)から、ウグイでは22件中20件(90.9%)から、その他の魚種では5件中3件(60.0%)から本菌が分離された。魚種別においては、カジカからの分離状況が他の魚種に比べ低い分離率が認められ、他の魚種との間に有意差が認められた($P < 0.01$)。

捕獲場所別においては表3に示すごとく、相模川水系由来では、ハヤ71件中62件(87.3%)、カジカ65件中38件(58.5%)、オイカワ25件中19件(76.0%)、ウグイ22件中20件(90.9%)およびその他の魚種5件中3件(60.0%)計188件中142件(75.5%)が本菌陽性であった。多摩川水系由来では、オイカワ155件中155件(100.0%)、フナ119件中118件(99.2%)、ハヤ25件中23件(92.0%)およびコイ24件中24件(100.0%)計323件中320件(99.1%)から本菌が分離された。多摩川で捕獲した淡水魚の方が相模川のそれよりも高い検出率であった。特に相模川水系のオイカワやカジカからの分離率が低い傾向が認められた。また、オイカワについては、多摩川由来で全例陽性であったが、相模川では陽性率が低く76.0%であって統計的にも相模川水系由来と多摩川水系由来との間に有意差が認められた($P < 0.01$)。

(2) 検査部位別における分離状況

551件の淡水魚について、腸管、エラおよび体表の各検査部位別における本菌分離状況を表4に示した。腸管では511件中386件(75.5%)から、鰓では511件中418件(81.8%)から本菌が分離された。体表について

は240件について検討を行ったところ60件(25.0%)が陽性であった。すなわち、鰓に比べて体表からの分離率が低いことが明らかになった。統計的にも、腸管、鰓や体表からの分離率について検定したところ、3者の間に有意差が認められた($P < 0.01$)。捕獲地域別における内訳は、相模川水系由来では、腸管から188件中122件(64.9%)から、鰓では188件中125件(66.5%)から、体表では96件中14件(14.6%)から、多摩川水系由来では、腸管系から323件中264件(81.7%)から、鰓では323件中293件(90.7%)から、体表では144件中46件(31.9%)から本菌が分離された。検査部位別における比較では、多摩川水系由来が相模川水系由来に比べ、腸管系、鰓、や体表からの分離率が高い傾向が認められ両由来の間に分離率で有意差が認められた($P < 0.01$)。

以上の成績から本菌の生息場所として、腸管系や鰓から本菌が高率に分離されていることから推察して、本菌が腸管や鰓に常在菌として定着していることが考えられる興味ある知見が得られた。

2. Aeromonas属の推定菌量

河川水、湖水、河川土壌および淡水魚に分布するAeromonas属菌について汚染菌量を定量的にも検討を行った。

1) 河川および湖土壌における本菌推定菌量

河川や湖土壌中における採取地点別にみた本菌汚染菌量を図3.4.5.に示した。相模川のA, B, C, D地点では1983年1月-1984年7月までの期間を調査したが、E地点は1983年1月-1984年1月、FとG地点は1983年10月-1984年7月までの期間を調査した。多摩川のA, B, C地点では1983年1月-1984年7月、その他の地点は1983年10月-1984年7月まで調査を行った。津久井湖ではA-E地点とも1983年1月-1984年7月の期間に調査を行った。同一地点でも採取場所によって本菌量に大きな差異がみられたし、地点別あるいは季節別にも菌量に差異を認めた。すなわち、相模川由来では、土壌1g当たりのAeromonas属菌量は 1.0×10^1 - 1.4×10^8 /gの菌量を示し、平均 1.6×10^6 /g個であった。多摩川由来では

1. $2 \times 10^2 - 3.8 \times 10^6 / g$ で平均 1.6×10^5 個、津久井湖由来では $1.6 \times 10^2 - 8.0 \times 10^6 / g$ で平均 2.5×10^5 個であった。

採取地点別において検討した場合、1983年1月から7月にかけて相模川由来のC地点と津久井湖由来のA地点、83年10月から84年7月にかけて多摩川由来のH地点でそれぞれ採取地点と菌数との間に有意差が認められた ($P < 0.05$)。

季節別にみた本菌の菌量は概して秋期に低く、夏期－秋期にかけて高い値であった。特に、相模川由来のC地点とE地点で83年1月から7月にかけてそれぞれ有意差が認められた ($P < 0.01$)。また、83年10月から84年7月にかけて相模川由来のB地点 ($P < 0.05$)、多摩川由来のA・DおよびF地点 ($P < 0.05$) とC地点 ($P < 0.01$)、津久井湖由来のC地点 ($P < 0.01$) とE地点 ($P < 0.05$) でそれぞれ有意差が認められた。河川別における検討では、相模川由来、多摩川由来および津久井湖由来の3地域とも共通して、春期に最も低い菌量を示した。

2) 河川水、湖水における本菌推定菌量

河川水や湖水から採水した水における Aeromonas 属の推定菌量を図6.7.8に示した。2河川と1湖水の水1 l 当たりの Aeromonas 属の全体の菌量は $1.0 \times 10^2 - 2.3 \times 10^4$ 個の菌量を示し、平均で 1.3×10^3 の菌量が認められた。採水地点別においては、相模川や多摩川は、1982年10月から83年7月の期間には採水地点と菌数との間には有意差を認めずほぼ同一菌量であったが、1983年10月から84年7月にかけての期間においては採水地点と菌数の間に有意差があり採水地点による菌数に大きなバラツキが認められた ($P < 0.05$)。しかし、津久井湖については採水地点と菌数の間には特に有意差がなく、各採水地点の Aeromonas 属の菌数はほぼ一定していた。

季節別については、津久井湖由来が1982年10月から83年7月の期間に季節と菌数との間に有意差が認められた ($P < 0.05$)。しかし、相模川や多摩川では、特に季節的変動は認められなかった。ただし、多摩川の河川水中の Aeromonas の菌量は他の採水地点に比べ若干夏期に菌量が高い傾向が認められたが、全体的にはほとんど季節的変動は認められなかった。

3) 淡水魚の腸管内における本菌推定菌量

一部の淡水魚を対象に腸管内に分布する Aeromonas 属の菌量について検討を行った。多摩川で1982年10月に捕獲したコイ12件の腸管内容物1g当たりにおける Aeromonas 属の菌量は $1.0 \times 10^6 - 4.0 \times 10^7 / \text{g}$ 個で、平均 1.1×10^6 個であった。淡水魚の腸管内の本菌数は 10^6 個前後であることが確認された。

3. Aeromonas 属の分類および同定

相模川水系由来、多摩川水系由来および津久井湖水系由来の分離菌株について、生物学的分類 (Popoffら)、数値分類およびファージ学的分類の検討を行った。

1) Popoffらによる分類学的検討 (Bergey's manual 1984年版)

河川水や湖水由来120株、河川土壌由来176株および淡水魚由来1,056株の計1,352株について生物学的性状による分類の成績は以下の通りである。

(1) 河川土壌の分離菌株について

相模川由来75株、津久井湖由来36株および多摩川由来65株の計176株についてPopoffらに従って菌種同定を行った成績を表5に示した。A. hydrophila が176株中38株 (21.6%) に、A. sobria が23株 (13.1%) に、A. caviae が43株 (24.4%) にそれぞれ同定された。Popoffらが示した確認性状の成績からは、明確に菌種が同定できない株が74株 (42.0%) あった。また、採取地点別における内訳は、相模川由来では、A. hydrophila と A. caviae は75株中19株 (25.3%) に、A. sobria は16株 (21.3%) に、Aeromonas spp. は23株 (30.7%) に、津久井湖由来では、A. hydrophila は36株中10株 (27.8%) に、A. sobria は1株 (2.8%) に、A. caviae は6株 (16.7%) に、Aeromonas spp. は19株 (52.8%) に、多摩川由来では A. hydrophila は65株中9株 (13.8%) に、A. sobria は6株 (9.2%) に、A. caviae は18株 (27.7%) に、Aeromonas spp. は32株 (49.2%) にそれぞれ分類され一般に A. sobria に該当する菌株は少なかった。相模川由来株では3菌種ともほぼ同じ割合に分布し、特に菌種間に有意差は認められなかったが、

津久井湖由来では、A.sobria、A.caviaeがAeromonas spp.より低く、多摩川由来ではA.sobriaとA.caviaeとの間に有意差が認められた ($P < 0.01$)。菌種別においては、A.hydrophilaは多摩川由来が、A.sobriaは津久井湖と多摩川由来でやや低い分離率の傾向が認められ、特に相模川由来と津久井湖由来の間において分離率に有意差が認められた ($P < 0.01$)。 A.caviaeは津久井湖由来がやや低い分離率を示したが、全体的には特に有意差を認めなかった。

季節別においては、A.hydrophilaは秋期に、A.sobriaは冬期に、A.caviaeは春期に、Aeromonas spp.は秋期から冬期にかけて分離率が高い傾向が認められた。

(2) 河川水・湖水の分離菌株について

相模川由来51株、津久井湖由来34株および多摩川由来35株の計120株について分類した成績を表6に示した。すなわち、A.hydrophilaが120株中17株(14.2%)に、A.sobriaが33株(27.5%)に、A.caviaeが35株(29.2%)に同定された。また、河川土壌の場合と同様に上記の3菌種に同定できない菌株(Aeromonas spp.)が35株(29.2%)あった。採水河川別における内訳は、相模川由来では、A.hydrophilaが51株中8株(15.7%)に、A.sobriaが10株(19.6%)に、A.caviaeが14株(27.5%)に、Aeromonas spp.が19株(37.3%)に、津久井湖由来では、A.hydrophilaが34株中3株(8.8%)に、A.sobriaが14株(41.2%)に、A.caviaeが9株(26.5%)に、Aeromonas spp.が8株(23.5%)に、多摩川由来ではA.hydrophila35株中6株(17.1%)に、A.sobriaが9株(25.7%)に、A.caviaeが12株(34.3%)に、Aeromonas spp.が8株(22.9%)にそれぞれ分類された。

津久井湖由来株は他と異なり検出菌株に特長が認められた。すなわち、A.hydrophila該当株が少なく、A.sobria該当株が高く分布した ($P < 0.01$)。しかし、津久井湖由来以外の相模川由来や多摩川由来の菌株では菌種間に有意差を認めなかった。また、菌種別においてはA.hydrophilaとA.caviaeは多摩川由来が、A.sobriaは津久井湖由来が、Aeromonas spp.は相模川由来がそれぞれ分離率がやや高い傾向が認められたが、全体的には有意差は認められなかった。

季節別においてはA.hydrophilaは夏期に、A.sobriaは秋期に、A.caviaeは春期

に、Aeromonas spp.は秋期から冬期にかけて、分離率が高い傾向が認められた。

(3) 淡水魚からの分離菌株について

相模川由来383株と多摩川由来673株の計1,056株について分類した成績を表7に示した。すなわち、A.hydrophilaは1,056株中182株(17.2%)に、A.sobriaは332株(31.4%)に、A.caviaeは206株(19.5%)に、Aeromonas spp.336株(31.8%)にそれぞれ分類された。その捕獲場所別における内訳は、相模川由来でA.hydrophilaとA.caviaeは383株中79株(20.6%)に、A.sobriaは96株(25.1%)に、Aeromonas spp.は129株(33.7%)にそれぞれ分類された。多摩川由来ではA.hydrophilaは673株中103株(15.3%)に、A.sobriaは236株(35.1%)に、A.caviaeは127株(18.7%)に、Aeromonas spp.は207株(30.8%)にそれぞれ分類され、両由来株の間には特に有意差は認められなかった。なお、A.hydrophilaは相模川で、A.sobriaは多摩川がそれぞれやや高い分離率を示したが、全体的には菌種別には特に有意差は認められなかった。

季節別においては、A.hydrophilaとA.caviaeは夏期に、A.sobriaは秋期に、Aeromonas spp.は秋期から冬期にかけて分離率が高い傾向が認められた。

2) 数値分類学的検討

河川水、湖水、河川土壌および淡水魚からの分離菌株について、Adansonらの方法に従って数値分類法を応用し検討した成績を以下に示した。

(1) 河川水、湖水および河川土壌由来の分離菌株について

河川水由来72株および河川土壌由来82株の計154株を任意に選び数値分類を行った成績を図9と表8に示した。河川水および河川土壌由来株は75%相似度を持ってI群からX群に群別された。その内訳は、I群に45株(29.2%)が含まれ、本群は従来のA.caviaeに該当すると推察された。II群の16株(10.4%)はA.hydrophilaに相当、III群8株、IV群13株、V群43株、VI群9株、VII群4株の計79株(50.0%)は従来の分類のA.sobriaに一致するものと推察された。また、残り16株(10.4%)がVIII群、IX群、X群の3つの

グループに分類されたが、これらのグループは従来の分類では菌種同定できないものであった。

由来別における内訳は、河川水、湖水由来72株の内、A. hydrophilaに5株、A. sobriaに37株、A. caviaeに25株、およびAeromonas spp.に5株と分類され、A. hydrophilaはA. sobriaやA. caviaeとの間に分類率で有意差が認められた ($P < 0.01$)。河川土壌由来の82株の内、A. hydrophilaに11株、A. sobriaに40株、A. caviaeに20株およびAeromonas spp.に11株と分類され、A. hydrophilaとAeromonas spp.は、A. sobria ($P < 0.01$)とA. caviae ($P < 0.05$)との間で分離率で有意差が認められた。

(2) 淡水魚由来の分離菌株について

相模川由来214株と多摩川由来227株の計441株を任意に選び各々数値分類を行った成績を図10・11および表8に示した。

相模川由来株については、70%の相似度を持ってI群からIX群に群別された。I群の43株はA. caviaeに相当、II群41株、III群47株の計88株はA. sobriaに、IV群53株、VII群8株の計61株はA. hydrophilaに一致するものと推察された。また、残り22株はV群、VI群、VIII群およびIX群の4つのグループに分類されたが、これらのグループは従来の分類に該当しなかった。

多摩川由来株については、75%の相似度を持ってI群からIX群に群別された。I群の60株はA. caviaeに相当、II群50株、III群24株およびIV群53株の計127株はA. sobriaに、V群11株、VI群9株およびVII群6株の計26株は A. hydrophilaに一致するものと推察された。また、残り14株はVIII群、IX群の2つのグループに分類されたが、これらのグループも従来の分類に該当しなかった。

以上のごとく、河川水、河川土壌や淡水魚由来のAeromonasは70%の相似度を示し、ほとんど同一グループに属していることが明らかとなった。菌種別のグループではA. caviaeはいずれの由来株でも一つのグループに含まれていたが、A. hydrophilaとA. sobriaについては複数のグループにまたがり、生化学的性状のバラッキが大きい菌種であった。また、本分類法においても従来の分類に該当しないグループが各由来間にも認められこれらのグループは、従来の菌種以外の新しい菌種であることが考えられる成績であった。

(3) 数値分類による菌種別の生化学的性状

河川水、河川土壌および淡水魚由来の分離菌株を数値分類の成績により分類された A. hydrophila 103株、A. sobria 292株および A. caviae 148株の計544株における生化学的性状をまとめた成績を表9-1、9-2に示した。これらの分離菌株は基本的には Aeromonas 属の性状に一致しているし、また、ノボビオシンや0-129の薬剤感受性試験および炭水化物分解などの性状からもビブリオ属とは異なっていることは明確であった。しかし、今回の成績では、従来の A. hydrophila、A. sobria および A. caviae の鑑別点であるVP反応、ガス産生性、エスクリン、サリシンなどの諸性状からこれらの3菌種に区別することが困難であった。すなわち、VP反応は A. hydrophila が陽性率が高いが、A. caviae で24.1%、A. sobria で17.7%が陽性であった。ブドウ糖からのガス産生は A. hydrophila 25%、A. caviae 38%、A. sobria 44.5%が陽性であった。エスクリンも A. hydrophila はほとんどが陽性であったが A. caviae 65.4%、A. sobria 50.0%が陽性であった。サリシンの発育性も A. hydrophila 73.5%が陽性で、A. caviae 41.4%、A. sobria 28.4が陽性であった。

(4) 数値分類とPopoffらの分類の性状の比較検討

Popoffらが報告した Aeromonas 属の代表的生化学的性状と今回の数値分類法で A. hydrophila、A. sobria、A. caviae に該当した菌株の生化学的性状を比較検討した。その成績を表10.11.12に示した。供試菌株の大部分がPopoffらの分類の性状と一致していたが、A. hydrophila では、VP反応、アルギニン水解試験、ブドウ糖からのガス産生、セロビオース、フルクトースおよびキシロース分解、ヒスチジンの発育性に両者で大きな差が認められた。A. sobria についてはブドウ糖からのガス産生、エスクリン加水分解性、アラビノースやサリシン分解性、アルギニンの発育性に両者で大きな差がみられた。A. caviae では、VP反応、キシロースとラフィノース分解性(酸)、エスクリン加水分解、オルニチン脱炭酸試験、ゼラチン液化などが異なっていた。

以上のごとく、河川水、河川土壌および淡水魚に分布する Aeromonas は各種の生化学的性状パターンを示すものが含まれており、現在の分類基準から同定することは困難であり、再検討する必要が考えられた。

(5) 河川水、河川土壌および淡水魚由来株の内、数値分類で Aeromonas spp. に該当した菌株について

数値分類において、A. hydrophila、A. sobria や A. caviae に該当しなかった 51 株 (8.6%) について、再度、数値分類を検討したところ、図 12 に示すごとく、65% の相似度を持って I 群から VI 群の 6 つのグループに分類された (表 13-1、13-2)。オキシダーゼ陽性のグラム陰性杆菌で、ブドウ糖を発酵的に分解した。リジン脱炭酸陰性、アルギニン加水分解陰性、ノボビオシンや O-129 (10 μ 、50 μ 、100 μ) に耐性があることから Aeromonas 属に分類されるものと考えられた。I 群は 15 株 (29.4%) が含まれていた。その由来別では河川土壌由来に 4 株、河川水由来に 1 株および淡水魚由来に 10 株であった。II 群は 11 株 (21.6%) が含まれ、河川土壌由来に 4 株、河川水由来に 1 株および淡水魚由来に 6 株であった。III 群は 8 株 (15.7%) が含まれ、河川土壌由来に 2 株および淡水魚由来に 6 株であった。以上の I 群から III 群に該当した菌株はマロン酸陽性株が半数近く認められ、また一部、イノシット、ラフィノースやキシロースなどの分解性 (酸) やオルニチン脱炭酸の陽性株も認められ、従来の Popoff らの分類の Aeromonas 属とは異なった性状を示していた。IV 群には 13 株 (25.5%) が含まれ、河川土壌由来に 1 株および淡水魚由来に 12 株であった。このグループは A. caviae に最も近い性状を示していたが、ONPG やゼラチン液化陰性株が多く認められた。V 群には 2 株 (3.9%) が含まれ、淡水魚由来株のみが該当し、マンニット分解性 (酸) が陰性、イノシット、ラフィノースおよびキシロース分解性 (酸) が陽性であった。VI 群には 2 株 (3.9%) が含まれ、河川水由来のみが該当し、マンニット、イノシットおよびキシロース分解性 (酸) が陽性であった。

以上のごとく、従来の分類で Aeromonas spp. とした菌株は従来の分類基準と異なっていたが、数値分類を行った結果、本菌属に該当していることが確認された。また、これらの結果から、今回の Aeromonas spp. は、新菌種に該当することが考えられる成績であった。

3) ファージの分離とファージ型別

河川水や土壌から Aeromonas に感受性のファージの分離を試みた結果、ファージを分離することに成功した。今回、そのファージを用いファージ型別を確立するとともに、分離菌株のファージ型別を行い由来別や菌種別について検討を行った。

(1) ファージの分離状況

河川水および土壌の計 285 件についてファージの分離を試み、105 件 (36.8%) から溶菌斑をみ出し、それぞれの溶菌斑よりファージの分離に成功した (図 13)。その分離状況は、表 14 に示すごとく、河川水からは、195 件中 82 件 (40.1%) および土壌からは 90 件中 23 件 (25.6%) からそれぞれファージが分離された。

(2) ファージの形態学的観察

河川水由来の A. hydrophila 感受性ファージ A 1 株を電子顕微鏡で観察した成績を図 14・15 に示した。本ウイルスの形態学的特徴は、頭部が六角形の形態を示し、頭部の長さ 120 nm、幅 60 nm であった。尾部は細長い形態を示し、尾部の長さ 120 nm、幅 15 nm、基盤の幅は 30 nm を示していた。これらの所見から本ファージは DNA 型のファージ科 Myoviridae に分類されるものと推察された。 Aeromonas spp. (No.141 株) 感受性ファージ AM 1 株についても電子顕微鏡の観察にて同様の形態を確認した。

(3) 分離ファージの溶菌パターン

河川水や土壌から分離されたファージについて対応菌を用い、溶菌パターンの交差試験を行った。ファージ濃度は 1 RTD、10 RTD および 100 RTD の 3 濃度で比較した。すなわち、表 15-1・15-2・15-3 に示すごとく、A. hydrophila、A. sobria、A. caviae に対するファージ溶菌パターンの相違より A 1-A 26 型に分類した。一方、Aeromonas spp. については表 16-1・16-2・16-3 に示すごとく、18 種の指示菌株により 22 型に分類することに成功し、前者と区別するために AM 1-AM 22 型と仮称した。本ファージを用いることにより、本菌の型別が可能であることが示唆された。

(4) 分離菌株におけるファージ型別状況

今回得られたA1-A26型のファージを用いて、A.hydrophila、A.sobria、およびA.caviaeに該当した543株について型別を行った(表17)。

供試菌株543株中87株(16.0%)が本ファージにより型別が可能であった。その内訳は、4型が最も多く7株、続いて12型が6株、18型が3株、22型および1型が2株、8型および13型が各1株型別されたが、残り64株は混合型に該当した。その各由来別におけるファージ型別状況では表17に示す通り、河川水、湖水由来では67株中8株(11.9%)が型別され、12型および21型に各1株が型別されたが、残り6株は混合型に該当した。河川土壌由来では71株中19株(26.7%)が型別され、4型に2株、1型、8型、12型および22型に各1株が型別されたが、残り13株は混合型に該当した。淡水魚由来では405株中60株(14.8%)が型別され、4型に5株、続いて12型に4株、18型に3株、1型、13型および22型に各1株が型別されたが、残り45株は混合型に該当した。以上のごとく、分離菌株のファージ型別状況において4型と12型に最も多く型別された。河川土壌由来株の型別率は河川水、湖水由来株($P < 0.01$)および淡水魚由来株($P < 0.05$)より高い傾向であった。

(5) 河川、湖水の水系別におけるファージ型別状況

前記の543株を材料の採取地域別(相模川水系、多摩川水系および津久井湖水系)に区分して検討を行った(表18)。

相模川水系由来は238株中44株(18.5%)が型別され、4型および18型に各3株、1型、8型、12型および22型に各1株が型別されたが、残り34株は混合型に該当した。多摩川水系由来では281株中39株(13.9%)が型別され、4型と12型に各4株、1型、13型、21型および22型に各1株が型別されたが、残り27株は混合型に該当した。津久井湖水系由来では24株中4株(16.7%)が型別され、12型に1株が型別されたが、残り3株は混合型に該当した。以上のごとく、菌株の由来とファージ型別状況を比較した結果、由来水系別とファージ型別との間には、特別な関連性は認められなかった。

(6) 菌種別におけるファージ型別状況

分離菌株と菌種別における型別状況を表19に示した。すなわち、A. hydrophilaでは103株中47株(45.6%)が型別され、4型、12型および18型に各3株、1型と22型に各2株、8型、13型および21型に各1株が型別されたが、残り15株は混合型に該当した。A. sobriaでは292株中21株(7.2%)が型別され、12型に3株、4型に2株が型別されたが、残り16株は混合型に該当した。A. caviaeでは148株中13株(8.8%)が型別され、4型に2株が型別されたが、残り11株は混合型に該当した。以上のごとく、菌種別における比較ではA. hydrophilaが最も多く型別され、A. sobriaやA. caviaeとの間に有意差が認められた($P < 0.01$)。

(7) 混合型のファージ型別の組み合わせ

混合型に該当した菌株についての型別の組み合わせ数と組み合わせを表20に示した。すなわち、混合型に該当した64株についての組み合わせ数の内訳は2種混合型に15株、3種に8株、4種に7株、5種と6種に各6株、8種に5株、7種と9種に各3株、10種に2株、12種、14種、15種および17種に各1株が該当した。

混合型に該当した組み合わせは、1型と2型および18型、21型、22型、23型、24型、25型と26型に5株と最も多く認められたが、その他の組み合わせは各1株ずつであった。

菌種別と混合型との間には特別なパターンを認めなかった。

(8) Aeromonas spp.のファージ型別状況

数値分類において、Aeromonas spp.に該当した51株についてAeromonas spp.に対するファージ型(AM1-AM22)を用い型別を試みたところ、表21に示すごとく、51株中42株(82.4%)が型別された。その内訳は7型に3株、続いて9型と16型に各2株、2型、3型、4型、8型、10型、12型、14型、15型、17型および22型に各1株が単一なファージ型に型別されたが、残り9株は混合型に該当した。その各数値分類別グループにおける型別状況では、V群が2株中2株(100.0%)とも型別され、続いてIV群が13株

中12株(92.3%)、II群が11株中10株(90.9%)、III群が8株中6株(75.0%)、I群が15株中11株(73.3%)が型別された。しかし、VI群には1株も型別しなかった。

25菌株の混合型のファージパターンは表22に示すごとく2種の組み合わせが7株、4種に6株、3種と5種に各5株、6種および8種に各1株であった。

(9) Aeromonas spp.の由来別におけるファージ型別状況

由来別における型別状況を表23に示した。河川土壌由来では11株中10株(90.9%)が型別され、10型に1株が型別されたが、残り9株は混合型に、河川水由来では4株中3株(75.0%)が型別され、16型に2株が残り1株は混合型に、淡水魚由来では36株中29株(80.6%)が型別され、7型に3株が、続いて9型に2株が、2型、3型、4型、8型、12型、14型、15型、17型および22型に各1株が型別されたが、残り15株は混合型に該当した。以上のごとく、河川土壌由来が最も高く型別され、続いて淡水魚由来株であった。河川水由来の型別率はやや低い傾向を示していたが河川水由来株は、河川土壌由来や淡水魚との間に型別率において有意差は認められなかった。

(10) Aeromonas spp.の水系統別におけるファージ型別状況

供試菌株の分離地域別における型別状況を表24に示した。相模川由来では18株中全株(100.0%)が型別され、7型に2株、3型、8型、9型、14型、15型、17型および22型に各1株が単一なファージ型に型別されたが、残り9株は混合型に、多摩川由来では25株中17株(68.0%)が型別され、2型、4型、7型、9型、10型、12型と16型に各1株が単一なファージ型に型別されたが、残り10株は混合型に、津久井湖由来では8株中7株(87.5%)が型別され、16型に1株が単一なファージ型に型別されたが、6株は混合型に該当していた。以上の成績から由来水系別には特に有意差は認められず特徴あるパターンは見られなかった。

4. 河川、湖水、河川土壌および淡水魚における検体別の本菌分類状況

河川水、湖水、河川土壌および淡水魚の各検査材料から本菌の分離を行い分離菌株について生物学的分類（Popoffら）、数値分類およびファージ学的分類を検討した。その成績は以下の通りである。

1) Popoffらによる分類学的検討（Bergey's manual 1984年版）

河川水、湖水48件、河川土壌200件および淡水魚414件の計662件の検査材料について生物学的性状による分類を行った。その成績は以下の通りである。

（1）河川土壌における分布状況

相模川由来100件、津久井湖由来40件および多摩川由来60件の計200件の河川土壌より分離された分離菌株について、検査材料別に分類した成績を表25に示した。すなわち、A. hydrophilaは200件中33件（16.5%）から、A. sobriaは21件（10.5%）から、A. caviaeは39件（19.5%）から、Aeromonas spp.は60件（30.0%）から認められた。その由来別における内訳は、相模川由来ではA. hydrophilaに100件中14件（14.0%）から、A. sobriaに13件（13.0%）から、A. caviaeに19件（19.0%）から、Aeromonas spp.に21件（21.0%）から、津久井湖由来では、A. hydrophilaに40件中9件（22.5%）から、A. sobriaに1件（2.5%）から、A. caviaeに5件（12.5%）から、Aeromonas spp.に15件（37.5%）から認められ、A. hydrophilaとA. sobriaの間において有意差が認められた（ $P < 0.01$ ）。多摩川由来ではA. hydrophilaに60件中10件（16.7%）から、A. sobriaに7件（11.7%）から、A. caviaeに15件（25.0%）から、Aeromonas sp.pに24件（40.0%）から認められた。由来別において、津久井湖由来でA. sobriaが分離率が若干低率の傾向が認められたが、津久井湖由来のA. sobria以外では由来別における分離率はほとんど差異は認められなかった。

季節別においては、A. hydrophilaは秋期に、A. caviaeは春期に、Aeromonas spp.は全期間を通して分離率が若干高い傾向が認められた。しかし、A. sobriaについては夏期に低い傾向が認められた。

(2) 河川水および湖水における分布状況

相模川由来20件、津久井湖由来16件および多摩川由来12件の計48件から分離された分離菌株について分類した成績を表26に示した。すなわち、A. hydrophilaは48件中15件(31.3%)から、A. sobriaとAeromonas spp.は各21件(43.8%)から、A. caviaeは22件(45.8%)から認められた。その由来別における内訳は、相模川由来でA. hydrophilaに20件中7件(35.0%)から、A. sobriaとA. caviaeに各8件(40.0%)から、Aeromonas spp.は11件(55.0%)から認められた。津久井湖由来ではA. hydrophilaに16件中3件(18.8%)から、A. sobriaに8件(50.0%)から、A. caviaeに6件(37.5%)から、Aeromonas spp.に5件(41.7%)から認められた。多摩川由来ではA. hydrophila、A. sobriaおよびAeromonas spp.に各12件中5件(41.7%)から、A. caviaeに8件(66.7%)から認められた。その由来別においてA. hydrophilaは多摩川由来と津久井湖由来との間に有意差が認められた($P < 0.01$)。しかし、全体的にはほとんど差異は認められなかった。以上のごとく、河川水や湖水には河川土壌と同様に本菌が常在菌として存在していることが明らかとなった。

季節別において、A. hydrophilaとA. caviaeは夏期に、A. sobriaは秋期に、Aeromonas spp.は冬期にそれぞれ分離率が高い傾向が認められた。

(3) 淡水魚における分布状況

相模川由来186件と多摩川由来228件の計414件から分離された分離菌株について検査材料別に分類を行った。その成績は表27に示した。すなわち、A. hydrophilaには414件中149件(36.0%)から、A. sobriaに204件(49.3%)から、A. caviaeに159件(38.4%)から、Aeromonas spp.に210件(50.7%)から認められた。その由来別における内訳は、相模川由来ではA. hydrophilaに186件中59件(31.7%)から、A. sobriaに58件(31.2%)から、A. caviaeに54件(29.0%)から、Aeromonas spp.に88件(47.3%)から、多摩川由来では、A. hydrophilaに228件中90件(39.5%)から、A. sobriaに146件(64.0%)から、A. caviaeに127件(55.7%)から、Aeromonas spp.に122件(53.5%)から認め

られた。その由来別において、多摩川由来で A. hydrophila は A. sobria や A. caviae との間に有意差が認められた ($P < 0.01$)。

2) 数値分類学的検討

河川水、湖水24件、河川土壌100件および淡水魚161件の計285件について分離菌株を検査材料別について検討を行った。その成績は以下の通りである。

(1) 河川水、湖水および河川土壌における本菌分布

河川水、湖水24件および河川土壌100件の計124件から分離された分離菌株について検査材料別に分類を行った成績を表28に示した。すなわち、A. hydrophila には124件中18件(14.5%)から、A. sobria に43件(34.7%)から、A. caviae に38件(30.6%)から、Aeromonas spp. に17件(13.7%)から認められ、A. hydrophila は A. sobria と A. caviae との間に分離率で有意差が認められた ($P < 0.01$)。その由来別における内訳では、相模川由来で A. hydrophila は60件中8件(13.3%)から、A. sobria に21件(35.0%)から、A. caviae に18件(30.0%)から、Aeromonas spp. に4件(6.7%)から認められ A. hydrophila は A. sobria ($P < 0.01$) と A. caviae ($P < 0.05$) に有意差が認められた。津久井湖由来では A. hydrophila に28件中5件(17.9%)から、A. sobria に6件(21.4%)から、A. caviae に10件(35.7%)から、Aeromonas spp. は7件(25.0%)から認められた。多摩川由来では A. hydrophila に36件中5件(13.9%)から、A. sobria に16件(44.4%)から、A. caviae に10件(27.8%)から、Aeromonas spp. に6件(16.7%)から認められ、A. hydrophila は A. sobria との間に有意差が認められた ($P < 0.01$)。

以上のごとく、Popoffらの分類において高頻度に認められた Aeromonas spp. の多くは、数値分類を行うことにより、A. sobria や A. caviae への移行がみとめられ、Aeromonas spp. は1/3以下に減少が認められた。これらのことから、本菌の分類には数値分類を応用することが有用であることが明らかにされた成績であった。

（２）淡水魚における本菌分布

相模川由来１０１件と多摩川由来６０件の計１６１件から分離された分離菌株について検査材料別に検討を行った。その成績を表２８に示した。すなわち、A. hydrophilaには１６１件中５９件（３６．６％）から、A. sobriaに１００件（６２．１％）から、A. caviaeに７１件（４４．１％）から、Aeromonas spp.に３４件（２１．１％）から認められた。その由来別における内訳は、相模川由来では、A. hydrophilaに１０１件中４１件（４１．０％）から、A. sobriaに４９件（４８．５％）から、A. caviaeに２９件（２８．７％）から、Aeromonas spp.に２０件（１９．８％）から、多摩川由来ではA. hydrophilaに６０件中１８件（３０．０％）から、A. sobriaに５１件（８５．０％）から、A. caviaeに４２件（７０．０％）から、Aeromonas spp.に１４件（２３．３％）から認められた。

以上のごとく、由来別では特に多摩川由来からA. sobriaやA. caviaeが高頻度に検出され、相模川由来との間に有意差が認められた（ $P < 0.05$ ）。分類状況においても、河川水や河川土壌由来と同様にAeromonas spp.が１／３以下に減少が認められた。

３）ファージ型別状況

今回得られたA. hydrophila、A. sobriaおよびA. caviaeに対するＡ１－Ａ２６のファージ型とAeromonas spp.に対するＡＭ１－ＡＭ２２のファージ型を用い検査材料別に検討を行った。その成績は以下の通りである。

（１）由来別におけるファージ型別状況

河川水、湖水２４件、河川土壌１００件および淡水魚１６１件の計２８５件から分離した分離菌株について型別を行った成績を表２９に示した。すなわち、２８５件中１１７件（４１．１％）が型別された。その由来別における内訳は河川水、湖水由来に２４件中９件（３７．５％）が、河川土壌由来に１００件中３０件（３０．０％）が、淡水魚由来に１６１件中７８件（４８．４％）が型別されたが、由来別においては特に差異は認められなかった。

（２）水系別におけるファージ型別状況

相模川水系 161 件、津久井湖水系 28 件および多摩川水系 96 件の計 285 件から分離された分離菌株について型別を行った成績を表 30 に示した。すなわち、各水系由来の 285 件中 117 件（41.1%）が型別された。その由来別における内訳では、相模川水系が 161 件中 60 件（37.3%）に、津久井湖水系が 28 件中 13 件（46.4%）に、多摩川水系が 96 件中 44 件（45.8%）に型別された。この水系別においても特に差異は認められなかった。

（３）菌種別におけるファージ型別状況

A. hydrophila 由来 77 件、A. sobria 由来 144 件、A. caviae 由来 110 件および Aeromonas spp. 由来 51 件の計 382 件についてファージ型別を行った成績を表 31 に示した。その内訳は、A. hydrophila が 77 件中 43 件（55.8%）に、A. sobria が 144 件中 20 件（13.9%）に、A. caviae が 110 件中 13 件（11.8%）に、Aeromonas spp. が 51 件中 42 件（82.4%）に型別された。

以上の成績から、本分類法はまだ確実な型別には至らなかったが、本ファージ型を用いることにより型別が可能性のあることが示唆される成績であった。

Aeromonas属が文献上に記載されたのは、Sanarelli[83]が1891年にカエルの“red leg”の疾病から菌を分離したのが最初である。本菌は自然環境の土壌や淡水魚に生息し、従来から淡水中の常在菌として知られていた。しかし、本菌の自然環境下の分布調査についての報告は少なく、Leclercら[59]が河川水から大腸菌群の調査中にAeromonas属が30%に存在していることを、Schubert[86]も河川水の本菌調査を行い、特に家庭の流しの水の流れる場所の土壌と汚水吸引装置の最初の部位で最も多く本菌が増殖する場所であることを報告した。Hazenら[37]も米国の河川の淡水や海水から38.6%に本菌を検出し、本菌は淡水に限らず、河川下口の海水にも広く分布していることを述べた。また、Kaperら[48]は米国のChesapeake湾において本菌の分布調査を行い、沿岸海水や沿岸の土壌にも多数分布していることを報告し、特に夏期に菌数が最高になり冬期に最低になることを確認し、Vibrio属の河川における生態とよく一致することを報告している。また、Clarkら[15]も水道水からAeromonasを8.8-17.0%に存在することを、Burke[9,10]らも家庭水や都市水道水について調査を行い、Aeromonas spp.が34%存在することを確認すると共に季節的関連性についても調査を行い、年間を通して本菌が存在していることを報告している。わが国においても、若林ら[100]は、養鰻場の池水中からAeromonas spp.を0-53%に検出したし、また、Wakabayashiら[99]は淡水魚の分離菌137株についてPopoffらの分類に従って同定したところ、A.hydrophilaは29.1%、A.sobriaは23.4%およびAeromonas spp.は47.7%に分類されることを明らかにした。また、河川水についても同様に154株について菌種分類を行い、7.8%がA.hydrophila、13.0%がA.sobriaおよび79.2%がAeromonas spp.に該当することを報告している。小林ら[53,54]は自然環境や食品におけるエロモナスの汚染実態調査を行った結果、下水からA.hydrophilaを25.5%、A.sobriaを21.3%検出し、河川水からもA.hydrophilaを36.1%、A.sobriaを38.9%と高率に分布していることを記載している。中野ら[66]も広島市内の河川水、特に家庭の流しの排水口付近の本菌調査を行い、高率に本菌が分布することを確認している。

著者は今回、神奈川県内や東京都内を流れる河川水、湖水、河川土壌および淡

水魚を対象に本菌の分布状況について月別に調査を行った。これと併せて分離菌株について数値分類やファージ分離とファージ型別を試みた結果、自然環境における *Aeromonas* 属の生態分布の全体像を把握できる成績が得られた。

調査した 132 地点の河川水や湖水の全地点より本菌が検出され多摩川、相模川および津久井湖のいずれにも広く本菌が分布していた。これらの成績は、多くの研究者と一致する成績であり、本菌が河川水中に常在していることが確認された。河川水における本菌の汚染菌量は、水 1 l 当たり Hazen ら[37]は $2 \times 10^2 - 5 \times 10^5$ 個を、Kaper ら[48]は $0.3 - 5 \times 10^6$ 個を、Cavari[12]は 9×10^4 個を、Seidler ら[88]は 3×10^5 個を、中野ら[66]は $10^3 - 10^6$ 個を、浅尾[4]も池の水に 10^5 個を認め、また、肉眼的に汚れた農業用溜池から 10^7 個に本菌が存在していることを報告している。

著者の河川水の調査では、*Aeromonas* の菌量は、 $1.0 \times 10^2 - 2.3 \times 10^4$ 個で、多くの研究者の成績に比べやや低い傾向であった。他の研究者よりやや汚染菌量がすくなかったが、この要因として考えられることは、著者は家庭排水などで比較的汚染されていない流域の河川水を調査対象としたためであろう。Hazen ら、Kaper ら、Seidler ら、中野らおよび浅尾の調査地点が Schubert[86]が指摘している家庭の生活排水が多量に含まれている都市河川であるためと考えられる。

季節別変動については、若干ではあるが、相模川系の生活排水が多い E 地点で夏期に菌量の増加が認められる程度で全体的には季節別の変動は認められず、Kaper らや中野ら[66]が指摘している夏期に増加するという報告とは若干異なっていた。

河川土壌については、514 件中 304 件 (59.1%) から本菌が検出され、河川環境の上流中にも広く本菌が分布することを明らかにした。ただし、同一地点においても採取時期によって、検出されないこともあり、土壌中の本菌の分布はバラツキが高いものと考えられた。土壌 1 g 当たりの本菌菌量については、平均で 6.7×10^5 個認められた。由来別では相模川系で平均 1.6×10^6 個、多摩川系で平均 1.6×10^5 個および津久井湖系で 2.5×10^5 の菌量が認められた。Kaper ら[48]は Chesapeake 湾地域の沿岸における土壌の調査では 4.6×10^2 個の菌量を示し、著者らの成績がやや高い菌量を示していた。一方、Neil-

son[67]は泥土中に $10^5 - 10^7$ を、Seidlerらは 4×10^5 個、中野ら[66]も 10^2 個以上の菌量を確認し、著者の成績とほぼ一致していた。

土壌中の Aeromonas 属の季節的変動については、2年間調査を行ったところ、2年目の春期が最も検出率が低かったし菌量も少なく平均 4.5×10^3 個であった。この要因としては例年になく2月から3月にかけて降雪が多く、地表の温度差が激しかったことが、細菌叢に影響していることが考えられた。自然環境においても土壌中で本菌が増殖できる可能性が示唆され、有機物などを多量に含んだ土壌中では本菌が増殖できるものと考えられたが、気温の高い夏期に特に本菌が増加する傾向は認められず、その他のなんらかの要因が本菌の増殖に関与しているものと推察された。

淡水魚における本菌の分布調査は、本菌と淡水魚の疾病との関連からみたもので、淡水魚における本菌の分布調査についての報告は少なく、金子ら[47]の養殖場の虹マス、アユ、コイやワカサギなどから本菌を検出している報告があるにすぎない。著者は河川に生息するコイ、ハヤやフナなどの淡水魚について調査を行った結果、金子らの成績と同様に淡水魚から本菌を高率に検出し、本菌が淡水魚の常在菌であることを確認した。

淡水魚の部位別においては、鰓、腸管からの検出率が高く認められたが、体表からの検出率が低く、鰓や腸管との間には有意差が認められた。また、腸管内に常在する本菌菌数について調査したところ、平均 1.1×10^6 個の菌数が認められた。これらの調査から淡水魚の腸管や鰓には常に、常在菌として本菌が生息し定着していることが明らかとなり、河川水や河川土壌の汚染の要因として、淡水魚が主役をなしていることが推察された。

河川やその環境に分布する Aeromonas 属を菌種別に分類した報告は少ない。著者は分離菌株をまず、Popoffの分類に従って菌種同定を行った。河川水由来では31.3%が A. hydrophila、43.8%が A. sobria、45.8%が A. caviae に該当した。さらに、これらの3菌種に同定できない菌株が43.8%にみられた。これらの成績はHazenら[37]や小林ら[53,54]とほぼ同様な成績を示していた。しかし、Wakabayashiら[99]の成績では、A. hydrophila や A. sobria の検出率は著者の成績の約半数以下の低い検出率を示していた。ところが、Aeromonas spp. については、河川水の約80%から検出しており、著者の成績と異なっていたが、これ

は、分離菌の菌種同定上の問題であると考えられる。地域によって、やや異なった分布を示し、津久井湖ではA. hydrophilaが他の河川より低い検出率であったし、多摩川ではA. caviaeの分布がやや高い傾向を示したが、全体的にはほとんど差異は認められなかった。河川土壌由来についてはA. hydrophila、A. sobriaおよびA. caviaeがほぼ同じ10-20%の率を占めていた。河川水の場合と同様に菌種同定のできなかったAeromonas spp.も30.0%に認められた。これらの成績は小林ら[53,54]が泥土から調査した成績とほぼ同様であった。地域別では津久井湖でA. sobriaがやや低率であったが、全体的には地域におけるAeromonasの菌種別に差異は認められなかった。

淡水魚由来についてもA. hydrophila、A. sobriaおよびA. caviaeがほぼ同じ割合の約35%に認められた。また、Aeromonas spp.の占める割合も高く、50.7%であった。金子ら[47]はA. hydrophilaを31.9%、A. sobriaを27.0%に、Wakabayashiら[99]はA. hydrophilaを27.0%、A. sobriaを23.4%およびAeromonas spp.を47.7%に検出し、著者らの成績とほぼ同様な成績を示していた。淡水魚の生息場所別では多摩川で捕獲した淡水魚ではA. caviaeがやや高い傾向が認められたが、全体的にはほとんど差異はなかった。魚種別において金子らは魚種により若干異なっていたが、著者らの成績では魚種間における差異は認められなかった。

以上のごとく、河川水、河川土壌および淡水魚についてPopoffらの方法に準拠して分類した成績では、Aeromonas spp.が高率に認められ、自然環境に分布する本菌の分類については再整理する必要があることが考えられた。そこで、著者はこれらの問題点を解決するため数値分類を応用することを試みた。

数値分類は従来の応用細菌学的立場を離れ純分類学的な立場から分類を試みた純分類学的立場にたつ分類法で、代表的なものにはAdansonの分類または数値分類と呼ばれる方法がある[81]。この分類方法は、Michel Adansonが最初に軟体動物の分類に用いたのが最初である。近年ではSneath[90-93]やColwellら[16]によって細菌の分類学に用いられている。わが国においても早くから善養寺ら[42]によって腸炎ビブリオの分類について応用しているし、林らは[32-35]は球菌類について、絵面ら[25]や楠田ら[56]は魚類Vibrio属病原菌について、醍醐[19]もイヌやネコから分離したStaphylococcusについてそれぞれ再分類の検討を行い興味ある

知見を得ている。また、金子ら[46]も計数分類を応用して新鮮大腸菌群の分類や冷凍食品の衛生学的分類に応用し、その有用性を検討した報告が得られている。そこで、著者も上述のことを踏まえ、河川水、河川土壌および淡水魚由来のAeromonas属の数値分類を行った結果、河川水と河川土壌由来株154株は75%の相似度をもってI-X群に分類することができた。I-VII群は従来のA. hydrophila、A. sobria、A. caviaeに該当するものと考えた。しかし、VIII群、IX群およびX群の3グループは従来の分類に該当しなかった。淡水魚についても、相模川由来で70%の相似度をもってI-IX群に分類することができた。しかし、V群、VI群およびIX群の3グループは従来の分類に該当されなかった。多摩川由来についても相模川由来とほぼ同様、75%の相似度をもってI-IX群に分類された。しかし、VIII群とIX群の2グループは従来の分類に該当しなかった。

以上のごとく、河川水、河川土壌および淡水魚由来の本菌は70%の相似度を示し、ほとんどが同一グループに属していた。しかし、菌種別におけるグループ別では、A. caviaeはいずれの由来株においても1つのグループに属し、A. hydrophilaとA. sobriaとは異なったグループとして区別できた。しかし、ヒトの下痢症の原因菌であるA. hydrophilaやA. sobriaは複数のグループにまたがっていたし、お互いに交叉するところが高く、2つの菌種に区別することに疑問があった。

数値分類による分類ではA. hydrophilaに該当する菌株は従来の分類と比べ、VP反応、アルギニン水解、ガス産生、キシロース分解およびヒスチジン発育が異なっていた。A. sobriaではガス産生、エスクリン加水分解、サリシン分解が大きくイレギュラーを示していた。A. caviaeでは、VP反応、ゼラチン液化、オルニチン分解、エスクリン加水分解、ラフィノースおよびキシロース分解が異なっていた。これらのことから理解できる様に現在の分類基準で同定した時にAeromonas spp.が多く認められた原因として、上述のキーとなる生化学的性状にも多くのイレギュラーが認められ自然界に分布する本菌種の分類は極めて困難である。

次ぎに数値分類でも従来の分類に該当しなかったAeromonas spp.が52株あり、これらについても再分類を試みたところI-VI群に分類された。その中でI群からIII群は従来のAeromonas属とは異なった性状を示しており、新しいAeromonas属の新種であることも考えられた。この点に関してはさらにDNA-DNA相同性による遺伝学的方法によって、本菌の分類学的位置を明確にする必要があろう。

以上のごとく、数値分類を応用することにより Aeromonas spp. が 8.7% と減少を示していることから理解できるように現在の Popoff らの分類基準では、本菌の分類が困難であり、Aeromonas 属の分類には数値分類や菌体脂肪酸による分類、あるいは DNA による遺伝学的な分類を応用し、菌種レベル、亜種レベルあるいは生物型レベルで再整理を行う必要がある。著者らの数値分類の成績では運動性 Aeromonas 属を 2 つの種、すなわち、A. hydrophila と A. caviae に分類し、A. hydrophila に生物型をおくべきであると推察されるが、この点に関してはさらにヒト下痢症由来株を含めて検討を進める必要がある。

ファージ型別については古くから大腸菌、サルモネラやブドウ球菌など多くの病原細菌について検討が行われその一部については応用されている。Aeromonas 属のファージに関する研究は少なく、Wu ら [103] が淡水魚の病変部から A. hydrophila のファージを分離し溶菌力により 8 型に分類した。Chow ら [14] は下水中から 2 つのファージを分離した報告が認められるが、ファージ型別についての検討はされていない。そこで今回著者は、河川水や土壌からファージの分離を試みたところわが国で最初に多数のファージを分離することに成功し、本菌の分類にファージ型別を最初に手掛けた。本ファージの分離方法の特徴として、一般的に大腸菌などのファージの分離においては、56℃、30 分間被検材料を加熱処理後でもファージを分離することが可能であるが、本菌のファージでは、熱処理した材料からはファージが検出されなかった。これらのことから推察できることは本菌のファージは熱抵抗性に弱いファージであることが考えられた。形態学的には、Wu らや Chow らが分離している DNA 型に属するファージと同様であることが電顕所見により確認された [65, 94, 95]。溶菌作用については Chow らが報告している Aeh 1 type と同様に本ファージは接種菌に対し比較的溶菌力が強く、接種部位を透明にする傾向が見られた。著者が分離したファージを用いて、本菌のファージ型別法を検討したところ、A. hydrophila の 45.6%、A. sobria 7.2% および A. caviae 8.8% および Aeromonas spp. では 82.4% が型別され、著者のファージによって、本菌を型別できることが示唆された。ただし、複数のファージに型別される菌株も多数認められるし、現在の 48 種のファージでは感受性のない菌株が 78.3% に認められており、さらに新しいファージの分離が必要であると考えられた。なお、本ファージ型では菌種や由来との間に特別な関連を認めな

ったが、将来にはヒト下痢症由来株と自然界由来株のファージパターンの比較あるいは魚病由来株のファージ型別にも応用する予定である。

以上のごとく、著者は河川水、河川土壌および淡水魚における本菌分布調査を行った結果、自然環境下や淡水魚には本菌が高率に分布していることを明らかにした。また、本菌の分類においては、従来の分類ではAeromonas spp.が多く認められたが、著者が応用した数値分類を用いることによりAeromonas spp.が8.7%と減少することが示され、従来の分類基準では分類が困難であることが示唆され、数値分類を応用することにより、本菌を再整理することが妥当であることが考えられる成績であった。ファージ型別についてはわが国で最初にファージの分離に成功し、本菌の型別を試み、型別が可能であることが示唆される成績であった。ヒトの下痢症由来株についてはエンテロトキシンやCytotoxinを産生する菌株が多数認められ、本菌の下痢起病性との関連で研究が進められている。著者は自然界における本菌の生態学的分布や本菌の分類学的問題点を明確にすることができたが、今後は自然界に分布するAeromonas属とヒト由来株との関連を明らかにするため自然界由来株を病原因子の側からも検討する必要があるだろう。

河川や淡水魚などの自然環境に存在する運動性Aeromonas属の分布状況と汚染菌量について調査を行うとともに、現在本菌の分類に使用されているPopoffらの分類方法やAdansonらの数値分類方法に従って検討し、数値分類と Popoffらの分類について比較した。さらに、河川水や土壌からファージの分離を試み、分離菌株についてファージ型別をわが国で最初に検討した。

1) 多摩川、相模川および津久井湖における本菌の分布状況および汚染菌量について検討したところ、河川土壌で58.9%、河川水、湖水で100%から本菌が分離され本菌が多数分布することを明らかにした。本菌汚染菌量は河川土壌1g当たり平均 1.6×10^6 個、河川水、湖水では1l当たり平均 1.3×10^3 個であった。河川水や土壌中の本菌の分布を経時的に調査を行ったが、季節的変動はほとんど認められなかった。

2) 多摩川、相模川で捕獲した淡水魚511件中462件(90.4%)より本菌が分離された。魚の体表よりも腸管や鰓からの検出率が高いし、腸管内容物1g当たり 10^6 の菌量を示し、本菌は淡水魚の腸管内常在細菌の一種であると推定された。

3) Popoffらによる分類に従って、分離菌株の分類を行った。分離菌株について由来別に見た場合、河川土壌ではA. hydrophila 21.6%、A. sobria 13.1%、A. caviae 24.4%、Aeromonas spp. 42.0%に、河川水、湖水ではA. hydrophila 14.2%、A. sobria 27.5%、A. caviaeとAeromonas spp.は各29.2%に、淡水魚では、A. hydrophila 17.2%、A. sobria 31.4%、A. caviae 19.5%、Aeromonas spp. 31.8%に分類された。また、現在の分類に該当しないAeromonas sppが高率に認められ分類学的に未解決な点も多数残されていることが確認され、本菌分類について再検討する必要があることが明らかとなった。

4) Popoffらの分類においてAeromonas spp.に該当する菌株が多数認められたので、分離菌株について、Adansonらの方法に従って数値分類を検討したところ、河川水、河川土壌由来株は75%相似度を持ってI群からX群に、相模川の淡水魚由来株では70%相似度を持ってI群からIX群に、多摩川の淡水魚由来株では75%相似度を持ってI群からIX群にそれぞれ群別された。その分離菌株における分類頻度では、河川水、河川土壌由来はA.hydrophila 10.4%、A.sobria 50.0%、A.caviae 29.2%、Aeromonas spp. 10.4%に、淡水魚由来はA.hydrophila 19.6%、A.sobria 48.8%、A.caviae 23.4%、Aeromonas spp. 8.1%に分類された。これらの結果から、Popoffらの分類によってAeromonas spp.が42.2%に認められていたものが本分類法を行うことにより、Aeromonas spp.は8.7%に減少が認められ、本分類法の有用性が実証された成績であった。なお、A.hydrophilaとA.sobriaについてはほぼ同じグループに属するものと考えられるが、A.caviaeは1つの異なったグループに分類された。しかし、現在、細菌の種を論ずる場合、分子遺伝学的分類法G+C%およびDNA交雑法(DNA-hybridization)が重視されておりこれを行っていないので、数値分類上からは1つの種とすることが妥当と考えられるが、分子遺伝学的分類法による裏づけが今後必要であろう。

5) 将来ヒト下痢症由来、自然界由来の溶菌パターンを比較して疫学調査に用いる目的で、河川水や土壌からファージの分離を行い、105種のファージを分離することに成功した。分離した本ファージによる交差試験によってA.hydrophila、A.sobria、A.caviaeのグループでは26型のファージ型別に分類できた。河川水や湖水、土壌および淡水魚から分離したAeromonas属543菌株を対象にファージ型別を行った結果、87株(16.0%)が本ファージに型別された。また、Aeromonas spp.についても82.4%がファージ型別された。以上のことから、本ファージ型は本菌の生態学的分布調査の解析に応用できうことが示唆された。

謝 辞

稿を終わるに当たり、研究の場と機会を与え終始御指導御校閲を賜りました麻布大学環境微生物学講座上村知雄教授、獣医公衆衛生学第2講座尾形学教授、獣医公衆衛生学第1講座村田元秀教授、微生物学第1講座田淵清教授並びに東京都立衛生研究所伊藤武博士、励ましと御助言を賜りました麻布大学微生物学第2講座原元宣助教授並びに獣医公衆衛生学第1講座光崎研一助教授に深謝いたします。さらに、麻布大学環境微生物学講座室員各位に感謝いたします。

文 献

- [1] Abrams, E., Zierdt, C.H. and Broen, J.A., (1971). Observations on Aeromonas hydrophila septicaemia in a patient with leukaemia. J.Chin.path.24,491-492.
- [2] Allan, B.J. and Stevenson, R.M.W. (1981). Extracellular virulence factors of Aeromonas hydrophila in fish infections. Can.J.Microbiol.27,1114-1122.
- [3] 有田美和子・竹田多恵・竹田美文・三輪谷俊夫・阿部久夫・神田輝雄・柳井慶明・橋本智 (1981). 海外旅行者下痢症の患者から分離した Aeromonas hydrophila の産生するエンテロトキシン様毒素について. 感染症誌, 55,946.
- [4] 浅尾努 (1985). Aeromonas. 臨床と微生物, 12,276-283.
- [5] Beer, V.H. (1963). Zur Diagnostik gramnegativer, aerober Stabchen. Path.Microbiol.26,607-634.
- [6] Boulanger, Y., Lallier, R. and Cousineau, G. (1977). Isolation of enterotoxigenic Aeromonas from fish. Can.J.Microbiol.23,1161-1164.
- [7] Bulger, R.J. and Sherris, J.C. (1966). The clinical significance of Aeromonas hydrophila. Report of two cases. Arch.Intern.Med.118,562-564.
- [8] Burke, V., Gracey, M., Robinson, J., Peck, D., Beaman, J. and Bundell, C. (1983). The microbiology of childhood gastroenteritis: Aeromonas species and other infective agents. J.Infect.Dis.148,68-74.
- [9] Burke, V., Robinson, J., Gracey, M., Peterson, D. and Partridge, K. (1984). Isolation of Aeromonas hydrophila from a Metropolitan water supply: seasonal correlation with clinical isolates. Appl.Environ.Microbiol.48,361-366.

- [1 0] Burke,V.,Robinson,J.,Gracey,M.Peterson,D.,Meyer,N. and Haley,V.
(1 9 8 4) . Isolation of Aeromonas spp. from an Unchlor-
inated domestic water supply.
Appl.Environ.Microbiol.48,367-370
- [1 1] Caselitz,F.H. und Gunther,R. (1 9 6 0) . Weitere beitrage
zum genus Aeromonas. Zbl.Bakt.Abt.1.orig.178,15-24.
- [1 2] Cavari,B.Z.,Allen,D.A. and Colwell,R.R. (1 9 8 1) . Effect
of temperature on growth and activity of Aeromonas spp.
and mixed bacterial populations in the anacostia river.
Appl.Environ.Microbiol.41,1052-1054.
- [1 3] Champsaur,H.,Andremonet,A.,Mathieu,D.,Rottman,E. and Auzepy,P.
(1 9 8 2) . Cholera-Like illness due to Aeromonas sobria.
J.Infect.Dis.145,248-254.
- [1 4] Chow,M.S. and Rouf,M.A. (1 9 8 3) . Isolation and partial
characterization of two Aeromonas hydrophila bacteriophages.
Appl.Environ.Microbiol.45,1670-1676.
- [1 5] Clark,J.A.,Burger,C.A. and Sabatinos,L.E. (1 9 8 2) .
Characterization of indicator bacteria in municipal raw
water, drinking water, and new main water samples.
Can.J.Microbiol.28,1002-1013.
- [1 6] Colwel,R.R. and Liston,J. (1 9 6 1) . Taxonomic relationships
among the Pseudomonas. J.Bact.82,1-14.
- [1 7] Conn,H.O. (1 9 6 4) . Spontaneous peritonitis and bacteremia
in laennec cirrhosis caused by enteric organisms.
A relatively common but rarely recognized syndrome.
Ann.Intern.Med.60,568-580.
- [1 8] Cumberbatch,N.,Gurwith,M.J.,Langston,C.,Sack,R.B. and Brunton,
J.L. (1 9 7 8) . Cytotoxic enterotoxin produced by Aeromonas
hydrophila relationship of toxigenic isolates to diarrheal
disease. Infect and lummunity.23,829-837.

- [19] 醍醐康雄 (1977) . イヌ・ネコの鼻腔に分布する Staphylococcus 属に関する研究 . -特に鼻炎と菌型との関連性について-
麻獣大研報, 2,327-339.
- [20] Daily, O.P., Joseph, S.W., Coolbaugh, J.C., Walker, R.I., Merrell, B.R., Rollins, D.M., Seidler, R.J., Colwell, R.R. and Lissner, C.R.
(1981) . Association of Aeromonas sobria with human infection. J.Clin.Microbiol.13,769-777.
- [21] D'Alaure, F. and Ansinelli, R. (1978) . Aeromonas hydrophila septicemia in a previously healthy man.
J.Am.Med.Ass.240,1139.
- [22] Davis, W.A., Kane, J.G. and Garagusi, V.F. (1978) . Human Aeromonas infections: A review of the literature and a case report of endocarditis. Medicine.57,267-277.
- [23] Dean, H.M. and Post, R.M. (1967) . Fatal infection with Aeromonas hydrophila in a patient with acute myelogeneous leukemia. Ann.Intern.Med.66,1177-1179.
- [24] Donta, S.T. and Haddow, A.D. (1978) . Cytotoxic activity of Aeromonas hydrophila. Infect and Immunity.21,989-993.
- [25] 絵面良男・田島研一・吉水守・木村喬久 (1980) . 魚類 Vibrio 属病原菌の分類学的ならびに血清学的検討. 魚病研究, 14,167-179.
- [26] Feaster, F.T., Nisbet, R.M. and Barber, J.C. (1978) .
Aeromonas hydrophila corneal ulcer. Am.J.Ophthal.85,114-117.
- [27] Fulghum, D.D., Linton, W.R. and Taplin, D. (1978) . Fatal Aeromonas hydrophila infection of the skin.
S.Med.J.71,739-741.
- [28] Gilardi, G.L., Bottone, E. and Birnbaum, M. (1970) . Unusual fermentative, gram-negative bacilli isolated from clinical specimens. II.Characterization of Aeromonas species.
Appl.Microbiol,20,156-159.
- [29] Gracey, M., Burke, V. and Robinson, J. (1982) .

- Aeromonas-Associated gastroenteritis. The Lancet.11,1304-1306.
- [30] Gurwith,M.J. and Williams,T.W. (1977). Gastroenteritis in Children:A two-year review in Manitoba.1.Etiology. J.Infect.Dis.136,239-247.
- [31] Hanson,P.G.,Standridge,J.,Jarrett,F. and Maki,D.G. (1977). Fresh water wound infection due to Aeromonas hydrophila. J.Am.Med.Ass.238,1053-1054.
- [32] 林江沢 (1964). 微生物の相互関係からみた新しい概念”Center species”と分類について. 日細誌, 19,175-180.
- [33] 林江沢. 小平富子. 馬場久美子. 菊池和子 (1965). Adansonの思想, Similarity value,Center speciesよりみた微生物の相互関係と分類 (第一報) Coccaceae科のMicrococceae族とSarcineae族について. 日細誌, 20,528-533.
- [34] 林江沢. 小平富子. 馬場久美子. 菊池和子 (1966). Adansonの思想, Similarity value およびCenter species の概念よりみた微生物の相互関係と分類 (第2報) Coccaceae科のStreptococceae族について. 日細誌, 21,336-340.
- [35] 林江沢. 小平富子. 馬場久美子. 菊池和子 (1966). Adansonの思想. Similarity valueおよびCenter speciesの概念よりみた微生物の相互関係と分類 (第3報) Coccaceae科のNeisserieae族と理論的に分離証明された新属Halococcusについて. 日細誌, 21,633-639.
- [36] Hazen,T.C. and Esch,G.W. (1982). Effect of effluent from a nitrogen fertilizer factory and a pulp mill on the distribution and abundance of Aeromonas hydrophila in Albemarle sound,North Carolina. Appl.Environ.Microbiol.45,31-42.
- [37] Hazen,T.C.,Fliermans,C.B.,Hirsch,R.P. and Esch,G.W. (1978). Prevalence and distribution of Aeromonas hydrophila in the United States. Appl.Environ.Microbiol.36,731-738.
- [38] Hill,K.R.,Caselitz,F.H. and Moody,L.M. (1954). A case of acute,metastatic,myositis caused by a new organism of

the family pseudomonadaceae. West Int.Med.J.3,9-10.

- [39] 猪狩淳・小酒井望・小栗豊子(1982)・Aeromonas属による菌血症例の臨床細菌学的検討. 感染症誌, 56,679-684.
- [40] 飯田豊(1982)・XI. ファージ型別の基本技術 1. 黄色ブドウ球菌のファージ型別. pp. 263-270. 細菌・真菌学(三輪谷俊夫編). 医歯薬出版, 東京.
- [41] Janda, J.M., Bottone, E.J., Skinner, C.v. and Calcaterra, D. (1982). Phenotypic markers Associated with gastrointestinal Aeromonas hydrophila isolates from symptomatic children. J.Clin.Microbiol.17,588-591.
- [42] 善養寺浩・坂井千三・寺山武・工藤泰雄・伊藤武(1964)・腸炎ビブリオの生物型と種の関係 -Adansonian classificationによる- メデアサークル, 55,187-204.
- [43] Jiwa, S.H. (1983). Enterotoxigenicity, hemagglutination and cell surface hydrophobicity in Aeromonas hydrophila, A.sobria, and A.salmonicida. Vet.Microbiol.8,17-34.
- [44] Joseph, S.W., Daily, O.P., Hunt, W.S., Seidler, R.J., Allen, D.A. and Colwell, R.R. (1979). Aeromonas primary wound infection of a diver in polluted waters. J.Clin.Microbiol.10,46-49.
- [45] 城泰彦・大西圭二(1980)・養殖アユから分離されたAeromonas hydrophila. 魚病研究, 15,85-89.
- [46] 金子清一・光崎研一・野沢竜子・小管理隆(1975)・情報科学的手法の食品衛生面への導入に関する研究 1. 計数分類(Numerical taxonomy)について. 麻獣大研報, 30,147-155.
- [47] 金子誠二・神保勝彦・小久保弥太郎・丸山務・松本昌雄(1983)・淡水養殖魚におけるPlesiomonas及びAeromonas属の汚染状況. 食品衛生微生物研究会, 第4回学術講演要旨集, pp.39.
- [48] Kapper, J.B., Lockman, H. and Colwell, R.R. (1981). Aeromonas hydrophila ecology and toxigenicity of isolates from an estuary. J.Appl.Bacteriol.50,359-377.

- [49] Ketover, B.P., Young, L.S. and Armstrong, D. (1973).
Septicemia due to Aeromonas hydrophila: Clinical and immunologic aspects. J. Infect. Dis. 127, 284-290.
- [50] Kjems, E. (1955). Studies on five bacterial strains of the genus Pseudomonas. Acta. Path. Microbiol. Scand. 36, 531-536.
- [51] Kluyver, A.J. and Van Niel, C.B. (1936). Prospects for a natural system of classification of bacteria.
Zbi. Bact. Abt. II. 94, 369-403.
- [52] 小林一寛. 浅尾努. 大石功. 原田七寛. 島田俊雄. 田村和満. 坂崎利一 (1977). Aeromonas hydrophilaによると推定された食中毒例について. 感染症誌, 52, 406.
- [53] 小林一寛 (1984). 10. エロモナス Aeromonas. pp. 257-266. 腸管感染症 (齊藤誠. 中谷林太郎. 橋本博. 松原義雄編). 医典社, 東京.
- [54] 小林一寛 (1984). Aeromonas および Plesiomonas. 食品と微生物, 1, 32-40.
- [55] Kok, N. (1967). Aeromonas hydrophila S. liquefaciens isolated from tonsillitis in man: Report of a case.
Acta. Path. Microbiol. Scand. 71, 599-602.
- [56] 楠田理一. 佐古浩. 川合研児 (1979). 病魚から分離された Vibrio 属細菌の分類学的研究 I. 形態学的. 生物学的ならびに生化学的性状による検討. 魚病研究, 13, 123-137.
- [57] Lallier, R., Bernard, F. and Lalonde, G. (1984). Difference in the extracellular products of two strains of Aeromonas hydrophila virulent and weakly virulent for fish.
Can. J. Microbiol. 30, 900-904.
- [58] Leblanc, D., Mittal, K.R., Olivier, G. and Lallier, R. (1981). Serogrouping of motile Aeromonas species isolated from healthy and moribund fish. Appl. Environ. Microbiol. 42, 56-60.
- [59] Leclerc, H. and Buttiaux, R. (1962). Frequence des Aeromonas dans les eaux d'alimentation.

- [60] Ljungh,A. and Wadstrom,T. (1982) . Aeromonas toxins.
Pharmac.Ther.15,339-354.
- [61] Ljungh,A.,Popoff,M. and Wadstrom,T. (1977) . Aeromonas hydrophila in acute diarrheal disease:Detection of enterotoxin and biotyping of strains. J.Clin.Microbiol.6,96-100.
- [62] Lopez,J.F.,Quesada,J. and Saied,A. (1968) . Bacteremia and osteomyelitis due to Aeromonas hydrophila. A complication during the treatment of acute leukemia.
Am.J.Clin.Path.50,587-591.
- [63] Mccracken,A.W. and Barkley,R. (1972) . Isolation of Aeromonas species from clinical sources.
J.Clin.Path.25,970-975.
- [64] Moyes,C.D.,Sykes,P.A. and Rayner,J.M. (1977) . Aeromonas hydrophila septicaemia producing ecthyma gangrenosum in a child with leukaemia. Scand.J.Infect.Dis.9,151-153.
- [65] 本江元吉. 村田晃. 緒方靖哉 (1970) . 付.ファージ実験法. pp.75-80. 発酵と微生物Ⅱ (植村定治郎. 相田浩編). 朝倉書店、東京.
- [66] 中野宏幸. 佐々木真哉. 川上英之. 橋本秀夫 (1984) . 河川に分布する食中毒菌、とくに運動性Aeromonasを中心として.
食品衛生微生物研究会, 第5回学術講演要旨集, pp42.
- [67] Neilson,A.H. (1978) . The occurrence of Aeromonads in activated sludge:isolation of Aeromonas sobria and its possible confusion with Escherichia coli.
J.Appl.Bact.44,259-264.
- [68] Oliver,G.,Lallier,R. and Lariviere,S. (1980) . A toxigenic profile of Aeromonas hydrophila and Aeromonas sobria isolated from fish. Can.J.Microbiol.27,330-333.
- [69] Panigrahy,B. and Mathewson,J.J. (1981) . Unusual disease conditions in pet and aviary birds.

J.Am.Vet.Med.178,394-395.

[70] Pearson,T.A.,Mitchell,C.A. and Hughes,W.T. (1972) .

Aeromonas hydrophila septicemia. Am.J.Dis.Child.123,579-582.

[71] Phillips,J.A.,Bernhardt,H.E. and Rosenthal,S.G. (1974) .

Aeromonas hydrophila infections. Pediat.53,110-112.

[72] Pitarangsi,C.,Echeverria,P.,Whitmire,R.,Tirapart,C.,Formal,S.,
Dammin,G.J. and Tingtalapong,M. (1982) .

Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas shigelloides: Prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailand. Infect and Immunity.35,666-673.

[73] Popoff,M. (1984) . Genus.III.Aeromonas Kluver and Van
Niel,pp.545-548. in:Bergey's manual of systematic bacteriology
1.(Krieg,N.R.and Holt,J.G.eds.) Williams and Wilkins, Baltimore.

[74] Popoff,M.Y.,Coynault,C.,Kiredjian,M. and Lemelin,M. (1981) .
Polynucleotide sequence relatedness among motile Aeromonas
species. Cur.Microbiol.5,109-114.

[75] Popoff,M. and Veron,M. (1976) . A taxonomic study of
the Aeromonas hydrophila-Aeromonas punctata group.
J.Gen.Microbiol.94,11-22.

[76] Qadri,S.M.H.,Gordon,L.P.,Wende,R.D. and Williams,R.P. (1976) .
Meningitis due to Aeromonas hydrophila.
J.Clin.Microbiol.3,102-104.

[77] Rahim,Z.,Sanyal,S.C.,Aziz,K.M.S.,Huq,M.I. and Chowdhury,A.A.
(1984) . Isolation of enterotoxigenic, hemolytic, and
antibiotic-resistant Aeromonas hydrophila strains from inf-
ected fish in Bangladesh. Appl.Environ.Microbiol.48,865-867.

[78] Ramsay,A.M.,Rosenbaum,B.J.,Yarbrough,C.L. and Hotz,J.A.
(1978) . Aeromonas hydrophila species in a patient
undergoing hemodialysis therapy. J.Am.Med.Ass.239,128-129.

[79] Rosenthal,L.S.G.,Bernhardt,L.H.E. and Phillips,L.J.A. (1974) .

Aeromonas hydrophila wound infection.

Plast.Reconstr.Surg.53,77-79.

[80] 坂崎利一(編)(1983). 食中毒Ⅱ－新たに認定された食中毒菌.
pp.1-390.中央法規,東京.

[81] 坂野勲(1974). 細菌の分類.pp. 51-105. 微生物の新しい分類学
(長谷川武治編). 講談社,東京.

[82] 坂本裕二. 金城勇徳. 伊藤直美. 大谷雅彦. 中村功(1980). 単球
性白血病にみられたAeromonas hydrophila敗血症の一例.
感染症, 54,157-163.

[83] Sanarelli,G.(1891). Ueber einen neuen mikroorganismus
des wassers, welcher fur thiere mit veranderlicher und
konstanter temperatur pathogen ist.
Zbl.Bakt.Abt.9,193-199,222-228.

[84] Sanyal,S.C.,Singh,S.J. and Sen,P.C.(1975).
Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas
shigelloides. J.Med.Microbiol.8,195-198.

[85] 猿渡勝彦(1977). Aeromonas属の同定とその病原的意義.
臨床病理,25,217-225.

[86] Schubert,R.H.W.(1967). Das vorkommen der Aeromonaden
in oberirdischen Gewassern. Arch.Hyg.150,688-716.

[87] Schubert,R.H.W.(1974). Geneus Aeromonas Kluver and
van Niel.pp.345-349.in: Bergey's manual of determinative
bacteriology,8th ed.(Buchanan,R.E. and Gibbons,N.E. eds.)
Williams and Wilkins, Baltimore.

[88] Seidler,R.J.,Allen,D.A.,Lockman,H.,Colwell,R.R.,Joseph,S.W. and
Daily,O.P.(1980). Isolation, enumeration and character-
ization of Aeromonas from polluted waters encountered in
diving operations. Appl.Environ.Microbiol.39,1010-1018.

[89] Shotts,E.B.,Gaines,J.L.,Martin,L. and Prestwood,A.K.(1972).
Aeromonas-induced deaths among fish and reptiles in an

- eutrophic inland lake. J.Am.Vet.Med.Ass.161,603-607.
- [90] Sneath,P.H.A. (1956). Cultural and biochemical characteristics of the genus Chromobacterium.
J.gen.Microbiol.15,70-98.
- [91] Sneath,P.H.A. (1957). Some thoughts on bacterial classification. J.gen.Microbiol.17,184-200.
- [92] Sneath,P.H.A. (1957). The application of computers to taxonomy. J.gen.Microbiol.17,201-226.
- [93] Sneath,P.H.A. and Cowan,S.T. (1958). An electro-taxonomic survey of bacteria. J.gen.Microbiol.19,551-565.
- [94] 武谷健二 (1972). 細菌ウイルス.pp.585-657:ウイルス図鑑
(保坂康弘. 川瀬茂実. 松井千秋編). 講談社, 東京.
- [95] 富沢純一 (1970). 第1部 ヴィルレント・ファージを用いた実験.pp. 1-96. バクテリオファージの実験. 岩波書店, 東京.
- [96] Trust,T.J. and Sparrow,R.A.H. (1974). The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. Can.J.Microbiol.20,1219-1228.
- [97] Wadstrom,T.,Aust-Kettis,A.,Habte,D.,Meeuwisse,G.,Holmgren,J., Mollby,R. and Soderlind,O. (1976). Enterotoxin-producing bacteria parasites in stools of Ethiopian children with diarrhoeal disease. Arch.Dis.Child.51,865-870.
- [98] Wadstrom,T.,Ljungh,A. and Wretling,B. (1976). Enterotoxin, haemolysin and cytotoxic protein in Aeromonas hydrophila from human infections. Acta.Path.Microbiol.Scand.Sect.B.84, 112-114.
- [99] Wakabayashi,H.,Kanai,K.,Hsu,T.C. and Egusa,S. (1981). Pathogenic activities of Aeromonas hydrophila biovar hydrophila (Chester) Popoff and Veron, 1976 to fishes. Fish.Pathol.15,319-325.

- [100] 若林久嗣・金井欣也・江草周三（1976）．養鰻環境における魚病細菌の生態に関する研究－ 1．池水中の一般細菌について．
魚病研究, 11, 63-66.
- [101] 若林久嗣（1983）．細菌病．pp.73-89．魚病学 [感染症・寄生虫病編]（江草周三編）．恒星社生閣，東京．
- [102] 若林久嗣・江草周三（1975）．再び静岡県吉田地区における養殖ウナギの細菌感染について－とくに鰓病菌について－．
魚病研究, 8, 193-198.
- [103] Wu, J.L., Lin, H.M., Jan, L., Hsu, Y.L. and Chang, L.H. (1981) .
Biological control of fish bacterial pathogen, Aeromonas hydrophila, by bacteriophage AH 1.
Fish.Pathol.15, 271-276.

表 1 河川水・湖水・河川土壌および淡水魚からの Aeromonas 属分離状況

調査対象	採取場所	検査例数	陽性例数 (%)	信頼限度(p=0.05)
土 壌	相模川	208	134(64.4)	70.6-57.9
	多摩川	186	101(54.3)	61.6-47.1
	津久井湖	120	68(56.7)	65.6-47.8
	小 計	514	304(59.1)	63.2-54.6
河川水 湖 水	相模川	48	48(100.0)	100.0
	多摩川	44	44(100.0)	100.0
	津久井湖	40	40(100.0)	100.0
	小 計	132	132(100.0)	100.0
淡水魚	相模川	188	142(75.5)	81.6-69.4
	多摩川	323	320(99.1)	100.0-98.1
	小 計	511	462(90.4)	93.0-87.8

表2 淡水魚の種類別における Aeromonas 属分離状況

魚の種類	検査例数	陽性例数 (%)	信頼限度(p=0.05)
オイカワ	180	174(96.7)	99.3-94.1
フナ	119	118(99.2)	100.0-97.6
ハヤ	96	85(88.5)	94.9-82.1
カジカ	65	38(58.5)	70.4-46.6
コイ	24	24(100.0)	100.0
ウグイ	22	20(90.9)	100.0-78.0
その他	5	3(60.0)	81.0-39.0
計	511	462(90.4)	93.0-87.8

表 3 淡水魚の捕獲場所別・魚種別にみた Aeromonas 属分離状況

捕獲場所	魚の種類	検査例数	陽性例数 (%)	信頼限度(p=0.05)
相模川	ハ ヤ	71	62(87.3)	95.0-79.6
	カジカ	65	38(58.5)	70.4-46.6
	オイカワ	25	19(76.0)	92.7-59.3
	ウグイ	22	20(90.9)	100.0-78.0
	その他	5	3(60.0)	81.0-39.0
	小 計	188	142(75.5)	81.6-69.4
多摩川	オイカワ	155	155(100.0)	100.0
	フ ナ	119	118(99.2)	100.0-97.6
	ハ ヤ	25	23(92.0)	100.0-81.4
	コ イ	24	24(100.0)	100.0
	小 計	323	320(99.1)	100.0-98.1
計		511	462(90.4)	93.0-87.8

表4 相模川や多摩川で捕獲した淡水魚における検査部位別のAeromonas属分離状況

捕獲場所	検査部位	検査例数	陽性例数 (%)	信頼限度(p=0.05)
相模川 (n=188)	腸 管	188	122(64.9)	71.7－58.1
	鰓	188	125(66.5)	73.2－59.8
	体 表	96	14(14.6)	27.7－ 7.5
多摩川 (n=323)	腸 管	323	264(81.7)	85.9－77.5
	鰓	323	293(90.7)	93.3－87.5
	体 表	144	46(31.9)	39.5－24.3
計	腸 管	511	386(75.5)	79.2－71.8
	鰓	511	418(81.8)	85.2－78.5
	体 表	240	60(25.0)	30.5－19.5

表5 河川土壌からの菌種別にみた Aeromonas 属の分離状況

採取場所	菌 種	1982年 10月	1983年 1月	4月	7月	合 計(%)	信頼限度(p=0.05)
相模川	<u>A. hydrophila</u>	7/20(35.0)*	0/20	6/21(28.6)	4/14(28.6)	19/75(25.3)	35.1-15.5
	<u>A. sobria</u>	4/20(20.0)	8/20(40.0)	3/21(14.3)	1/14(7.1)	16/75(21.3)	30.6-12.0
	<u>A. caviae</u>	2/20(10.0)	4/20(20.0)	8/21(38.1)	5/14(35.7)	19/75(25.3)	35.1-15.5
	<u>Aeromonas</u> spp.	7/20(35.0)	8/20(40.0)	4/21(19.0)	4/14(28.6)	23/75(30.7)	41.1-20.3
津久井湖	<u>A. hydrophila</u>	2/ 4(50.0)	1/7(14.1)	4/12(33.3)	3/13(23.1)	10/36(27.8)	42.4-13.2
	<u>A. sobria</u>	0/4	0/7	1/12(8.3)	0/13	1/36(2.8)	8.2- 0.0
	<u>A. caviae</u>	0/4	1/7(14.1)	4/12(33.3)	1/13(7.7)	6/36(16.7)	28.9- 4.5
	<u>Aeromonas</u> spp.	2/ 4(50.0)	5/7(71.4)	3/12(25.0)	9/13(69.2)	19/36(52.8)	69.1-36.5
多摩川	<u>A. hydrophila</u>	3/19(15.8)	1/13(7.7)	1/17(5.9)	4/16(25.0)	9/65(13.8)	22.2- 5.4
	<u>A. sobria</u>	3/19(15.8)	1/13(7.7)	2/17(11.8)	0/16	6/65(9.2)	16.2- 2.2
	<u>A. caviae</u>	2/19(10.2)	1/13(7.7)	9/17(52.9)	6/16(37.5)	18/65(27.7)	38.6-16.8
	<u>Aeromonas</u> spp.	11/19(57.9)	10/13(76.9)	5/17(29.4)	6/16(37.5)	32/65(49.2)	61.4-37.0
合 計	<u>A. hydrophila</u>	12/43(27.9)	2/40(5.0)	11/50(22.0)	11/43(25.6)	38/176(21.6)	27.7-15.5
	<u>A. sobria</u>	7/43(16.3)	9/40(22.5)	6/50(12.0)	1/43(2.3)	23/176(13.1)	18.1- 8.1
	<u>A. caviae</u>	4/43(9.3)	6/40(15.0)	21/50(42.0)	12/43(27.9)	43/176(24.4)	30.8-18.0
	<u>Aeromonas</u> spp.	20/43(46.5)	23/40(57.5)	19/50(24.0)	19/43(44.2)	74/176(42.0)	49.3-34.7

*該当菌株数／調査菌株数 (%)

表6 河川水・湖水からの菌種別にみた Aeromonas 属の分離状況

採取地域	菌 種	1982年 10月	1983年 1月	4月	7月	合 計(%)	信頼限度(p=0.05)
相模川	<u>A. hydrophila</u>	2/12(16.7)*	1/15(6.7)	1/15(6.7)	4/9(44.4)	8/51(15.7)	25.7-2.7
	<u>A. sobria</u>	3/12(25.0)	2/15(13.3)	4/15(26.7)	1/9(11.1)	10/51(19.6)	30.5-8.7
	<u>A. caviae</u>	1/12(8.3)	4/15(26.7)	8/15(53.3)	1/9(11.1)	14/51(27.5)	39.7-15.3
	<u>Aeromonas</u> spp.	6/12(50.0)	8/15(53.3)	2/15(13.3)	3/9(33.3)	19/51(37.3)	50.6-24.0
津久井湖	<u>A. hydrophila</u>	1/12(8.3)	1/11(9.1)	0/5	1/6(16.7)	3/34(8.8)	18.3-0.7
	<u>A. sobria</u>	7/12(58.3)	6/11(54.5)	1/5(20.0)	0/6	14/34(41.2)	57.7-24.7
	<u>A. caviae</u>	0/12	0/11	4/5(80.0)	5/6(83.3)	9/34(26.5)	41.3-11.7
	<u>Aeromonas</u> spp.	4/12(33.3)	4/11(36.4)	0/5	0/6	8/34(23.5)	37.8-9.2
多摩川	<u>A. hydrophila</u>	2/9(22.2)	1/10(10.0)	1/9(11.1)	2/7(28.6)	6/35(17.1)	29.6-4.6
	<u>A. sobria</u>	2/9(22.2)	3/10(30.0)	3/9(33.3)	1/7(14.3)	9/35(25.7)	40.2-11.2
	<u>A. caviae</u>	2/9(22.2)	4/10(40.0)	4/9(44.4)	4/7(57.1)	12/35(34.3)	50.0-18.6
	<u>Aeromonas</u> spp.	3/9(33.3)	2/10(20.0)	3/9(33.3)	0/7	8/35(22.9)	36.8-9.0
合 計	<u>A. hydrophila</u>	5/33(15.2)	3/36(8.3)	2/29(6.9)	7/22(31.8)	17/120(14.2)	20.4-8.0
	<u>A. sobria</u>	12/33(36.4)	11/36(30.6)	8/29(27.6)	2/22(9.1)	33/120(27.5)	35.5-19.5
	<u>A. caviae</u>	3/33(9.1)	8/36(22.2)	16/29(55.2)	10/22(45.5)	35/120(29.2)	37.3-21.1
	<u>Aeromonas</u> spp.	13/33(39.4)	14/36(38.9)	5/29(17.2)	3/22(13.6)	35/120(29.2)	37.3-21.1

*該当菌株数/試験菌株数(%)

表7 淡水魚からの菌種別にみた Aeromonas 属分離状況

捕獲地域	菌 種	1982年 10月	1983年 1月	4月	7月	合 計(%)	信頼限度($p=0.05$)
相模川	<u>A. hydrophila</u> <u>A. sobria</u> <u>A. caviae</u> <u>Aeromonas</u> spp.	43/215(20.0)* 55/215(25.6) 20/215(9.3) 97/215(45.1)	NT** NT** NT** NT**	1/21(4.8) 6/21(28.6) 10/21(47.6) 4/21(19.0)	35/147(23.8) 35/147(23.8) 49/147(33.3) 28/147(19.0)	79/383(20.6) 96/383(25.1) 79/383(20.6) 129/383(33.7)	24.7-16.5 29.4-20.8 24.7-16.6 38.4-29.0
多摩川	<u>A. hydrophila</u> <u>A. sobria</u> <u>A. caviae</u> <u>Aeromonas</u> spp.	21/228(9.2) 94/228(41.2) 30/228(13.2) 83/228(36.4)	15/159(9.4) 42/159(26.4) 25/159(15.7) 77/159(48.4)	30/171(17.5) 60/171(35.1) 42/171(24.6) 39/171(22.8)	37/115(32.2) 40/115(34.8) 30/115(26.1) 8/115(7.0)	103/673(15.3) 236/673(35.1) 127/673(18.7) 207/673(30.8)	18.0-12.6 38.7-31.5 21.7-15.7 34.3-27.3
合 計	<u>A. hydrophila</u> <u>A. sobria</u> <u>A. caviae</u> <u>Aeromonas</u> spp.	64/443(14.4) 149/443(36.6) 50/443(11.3) 180/443(40.6)	15/159(9.4) 42/159(26.4) 25/159(15.7) 77/159(48.4)	31/192(16.1) 66/192(34.4) 52/192(27.1) 43/192(22.4)	72/262(27.5) 75/262(28.6) 79/262(30.2) 36/262(13.7)	182/1056(17.2) 332/1056(31.4) 206/1056(19.5) 336/1056(31.8)	19.5-14.9 34.2-28.6 21.9-17.1 34.6-29.0

*該当菌株数／調査菌株数(%) **検討せず

表8 数値分類に供試した菌株数と菌種同定

菌 種	由 来		
	河川水	河川土壌	淡水魚
<u>A.hydrophila</u>	5(6.9)*	11(13.4)	87(19.6)
<u>A.sobria</u>	37(51.4)	40(48.8)	215(48.8)
<u>A.caviae</u>	25(34.7)	20(24.4)	103(23.4)
<u>Aeromonas</u> spp.	5(6.9)	11(13.4)	36(8.1)
総 計	72(100.0)	82(100.0)	441(100.0)

*菌株数(%)

表9-1 数値分類によって認められたA.hydrophila、A.caviae
およびA.sobriaの生化学的性状

性 状	<u>A.hydrophila</u> (n=103)	<u>A.caviae</u> (n=148)	<u>A.sobria</u> (n=292)
Gram stain(G-)	+(100.0)*	+(100.0)	+(100.0)
Morphotype(rod)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Indole	+(91.2)	d(62.3)	d(87.3)
M R	+(98.0)	+(93.9)	d(89.0)
V P	d(82.3)	d(24.1)	d(17.5)
S C	d(52.9)	d(47.5)	d(50.0)
Christensen C	d(29.4)	d(34.6)	d(43.2)
TSI(H ₂ S)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
PPA	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Malonate	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
O-F(F)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Gas from glucose	d(25.5)	d(38.3)	d(44.5)
Nitrate	+(99.0)	+(93.2)	+(92.1)
D-tararic acid	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Urease	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Catalase	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Oxidase	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Motility	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
ONPG	+(94.1)	d(80.2)	+(90.4)
0%NaCl	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
3%NaCl	d(12.7)	d(17.9)	-(6.2)
7%NaCl	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
10%NaCl	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Elastase	d(81.4)	d(21.0)	-(7.2)
Esculin hydrolysis	+(95.1)	d(65.4)	d(50.0)
Gelatin	+(96.1)	d(58.6)	d(74.0)
Lysine	-(5.9)	-(4.3)	-(4.5)
Ornithine	-(2.0)	d(11.1)	-(1.4)
Histidine	d(72.5)	d(87.7)	+(96.2)
Arginine	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Chitin	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Starch	+(91.2)	d(77.2)	+(93.8)
Lecithinase	-(1.0)	-(4.3)	-(2.1)
28°C	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
37°C	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
King A	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)

*カッコ内は陽性率を示す。

表9-2 数値分類によって認められたA.hydrophila、A.caviae
およびA.sobriaの生化学的性状

性 状	<u>A.hydrophila</u> (n=103)	<u>A.caviae</u> n=(148)	<u>A.sobria</u> n=(292)
King A	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Milk	d(77.5)	d(33.3)	d(38.0)
Novobiocin	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Achilamidase	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
0-129(10ug)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
0-129(50ug)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
0-129(100ug)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Growth on Salicin	d(73.5)	d(41.4)	d(28.4)
Sucrose	+(91.2)	d(72.2)	d(74.0)
Arabinose	+(90.2)	d(80.9)	d(76.4)
Raffinose	d(66.7)	d(58.0)	d(40.0)
Mannose	d(22.5)	d(34.6)	d(15.4)
Sorbitol	d(75.5)	d(56.8)	d(31.5)
Levulose	-(2.0)	d(13.0)	-(1.7)
Arginine	+(98.0)	d(67.3)	d(68.8)
Histidine	d(53.9)	d(25.9)	d(14.0)
Anaerobic	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
pH 9.0	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
S S	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Acid from Glucose	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Sucrose	+(92.2)	+(92.2)	+(91.1)
Lactose	-(8.8)	d(13.0)	-(4.8)
Mannitol	+(92.2)	d(82.1)	+(99.3)
Inositol	-(7.8)	d(16.0)	-(0.7)
Arabinose	d(82.4)	d(66.7)	d(47.3)
Cellobiose	d(13.7)	d(50.6)	d(62.7)
Raffinose	-(8.8)	d(11.7)	-(3.8)
Sorbitol	d(11.8)	d(22.8)	-(3.8)
Trehalose	+(92.2)	+(93.2)	+(97.9)
Xylose	-(15.7)	d(27.8)	-(7.9)
Adonitol	-(1.0)	-(3.7)	-(0.0)
Dulcitol	-(0.0)	-(5.6)	-(0.0)
Salicin	d(67.6)	d(38.9)	d(21.2)
Mannose	+(92.2)	d(82.1)	d(78.4)

+ =90-100(%)が陽性 d=11-89(%)が陽性 - =90-100(%)が陰性

表 1 O A.hydrophilaにおける数値分類とPopoffらの分類の性状比較

性 状	<u>Aeromonas</u> <u>hydrophila</u>	
	Popoff et al	数値分類 (n=103)
Oxidase	+(100.0%)	+(100.0%)
Indole	+(90.5)	+(91.2)
M R	d(76.5)	+(98.0)
V P	+(90.5)	d(82.3)
S C	d(67.5)	d(52.9)
Nitrate	+(100.0)	+(99.0)
TSI(H ₂ S)	-(0.0)	-(0.0)
Urease	-(0.2)	-(0.0)
Gelatin	+(99.0)	+(96.1)
PPA	-(0.0)	-(0.0)
Lysine	-(9.5)	-(5.9)
Arginine	d(87.0)	+(100.0)
Ornithine	-(0.0)	-(2.0)
Malonate	-(0.0)	-(0.0)
ONPG	+(100.0)	+(94.1)
Gas from glucose	+(99.0)	d(25.5)
Esculin hydrolysis	+(99.0)	+(95.1)
Acid from Arabinose	d(66.0)	d(82.4)
Cellobiose	d(42.5)	d(13.7)
Glucose	+(100.0)	+(100.0)
Lactose	d(76.5)	-(8.8)
Raffinose	-(2.5)	-(8.8)
Sucrose	d(82.5)	+(92.2)
Trehalose	+(100.0)	+(92.2)
Xylose	-(0.2)	d(15.7)
Adonitol	-(0.0)	-(1.0)
Dulcitol	-(0.0)	-(0.0)
Inositol	-(0.0)	-(7.8)
Mannitol	+(99.5)	+(92.2)
Sorbitol	d(11.5)	d(11.8)
Salicin	d(81.5)	d(67.8)
Growth on Arabinose	+(93.0)	+(90.2)
Salicin	d(79.0)	d(73.5)
Arginine	d(74.0)	+(98.0)
Histidine	+(98.0)	d(53.9)

表 1 1 A.sobriaにおける数値分類とPopoffらの分類の性状比較

性 状	<u>Aeromonas</u> <u>sobria</u>	
	Popoff et al	数値分類 (n=292)
Oxidase	+(100.0%)	+(100.0%)
Indole	+(100.0)	d(87.3)
M R	d(75.0)	+(89.0)
V P	d(37.5)	d(17.5)
S C	d(75.0)	d(50.0)
Nitrate	+(100.0)	+(92.1)
TSI(H ₂ S)	-(0.0)	-(0.0)
Urease	-(0.0)	-(0.0)
Gelatin	+(100.0)	d(74.0)
PPA	-(0.0)	-(0.0)
Lysine	-(0.0)	-(4.5)
Arginine	d(70.0)	+(100.0)
Ornithine	-(0.0)	-(1.4)
Malonate	-(0.0)	-(0.3)
ONPG	+(100.0)	+(90.4)
Gas from glucose	+(97.5)	d(44.5)
Esculin hydrolysis	-(0.0)	d(50.0)
Acid from Arabinose	d(17.5)	d(47.3)
Cellobiose	d(75.0)	d(62.7)
Glucose	+(100.0)	+(100.0)
Lactose	d(37.5)	-(4.8)
Raffinose	-(0.0)	-(3.8)
Sucrose	d(100.0)	+(91.1)
Trehalose	+(100.0)	+(97.9)
Xylose	-(0.0)	-(7.9)
Adonitol	-(0.0)	-(0.0)
Dulcitol	-(0.0)	-(0.0)
Inositol	-(0.0)	-(0.7)
Mannitol	+(100.0)	+(99.3)
Sorbitol	-(2.0)	-(3.8)
Salicin	-(2.0)	d(21.2)
Growth on Arabinose	d(19.0)	d(76.4)
Salicin	d(23.0)	d(28.4)
Arginine	-(8.0)	d(68.8)
Histidine	-(8.0)	d(14.0)

表 1 2 A.caviaeにおける数値分類とPopoffらの分類の性状比較

性 状	<u>Aeromonas</u> <u>caviae</u>	
	Popoff et al	数値分類 (n=148)
Oxidase	+(100.0%)	+(100.0%)
Indole	+(90.6)	d(62.3)
M R	+(94.1)	+(93.9)
V P	-(0.0)	d(24.1)
S C	d(72.0)	d(47.5)
Nitrate	+(100.0)	+(93.2)
TSI(H ₂ S)	-(0.0)	-(0.0)
Urease	-(0.0)	-(0.0)
Gelatin	+(100.0)	d(58.6)
PPA	-(0.0)	-(0.0)
Lysine	-(0.0)	-(4.3)
Arginine	d(100.0)	+(100.0)
Ornithine	-(0.0)	d(11.1)
Malonate	-(0.0)	-(5.0)
ONPG	+(100.0)	d(80.2)
Gas from glucose	-(0.0)	d(38.3)
Esculin hydrolysis	-(100.0)	d(65.4)
Acid from Arabinose	d(87.2)	d(66.7)
Cellobiose	d(84.8)	d(50.6)
Glucose	+(100.0)	+(100.0)
Lactose	d(52.3)	d(13.0)
Raffinose	-(0.0)	d(11.7)
Sucrose	d(100.0)	+(92.0)
Trehalose	+(100.0)	+(93.2)
Xylose	-(0.0)	-(27.8)
Adonitol	-(0.0)	-(3.7)
Dulcitol	-(0.0)	-(5.6)
Inositol	-(0.0)	d(16.0)
Mannitol	+(100.0)	d(82.1)
Sorbitol	-(1.1)	d(22.8)
Salicin	+(91.8)	d(38.9)
Growth on Arabinose	•	d(80.9)
Salicin	•	d(41.4)
Arginine	•	d(67.3)
Histidine	•	d(25.3)

表13-1 *Aeromonas* spp.の生物学的性状

性 状	数値分類によるグループ					
	I (n=15)	II (n=11)	III (n=8)	IV (n=13)	V (n=2)	VI (n=2)
Gram stain(G-)	+(100.0)*	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Morphotype(rod)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Indole	+(40.0)	-(0.0)	-(0.0)	d(61.5)	+(100.0)	+(100.0)
M R	+(80.0)	d(63.6)	+(100.0)	d(84.6)	+(100.0)	+(100.0)
V P	d(46.7)	d(72.7)	d(25.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
S C	d(73.3)	+(100.0)	d(50.0)	d(61.5)	-(0.0)	-(0.0)
Christensen C	d(93.3)	+(100.0)	d(75.0)	d(30.8)	d(50.0)	-(0.0)
TSI(H ₂ S)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
PPA	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Malonate	d(40.0)	d(45.5)	d(75.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
O-F(F)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Gas from glucose	d(73.3)	+(100.0)	d(37.5)	-(0.0)	+(100.0)	+(100.0)
Nitrate	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	d(50.0)
D-tararic acid	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Urease	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Catalase	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Oxidase	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Motility	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
ONPG	d(86.7)	+(100.0)	+(100.0)	d(69.2)	+(100.0)	d(50.0)
0%NaCl	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
3%NaCl	d(40.0)	d(72.7)	d(50.0)	-(0.0)	d(50.0)	d(50.0)
7%NaCl	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
10%NaCl	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Elastase	-(0.0)	d(18.2)	-(0.0)	-(5.4)	-(0.0)	-(50.0)
Esculin hydrolysis	d(80.0)	+(90.9)	+(100.0)	d(61.5)	d(50.0)	d(50.0)
Gelatin	d(20.0)	-(0.0)	d(25.0)	d(38.5)	-(0.0)	-(50.0)
Lysine	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Ornithine	d(46.7)	+(90.0)	d(62.5)	-(0.0)	d(50.0)	-(0.0)
Histidine	d(40.0)	d(36.4)	d(87.5)	d(76.9)	-(0.0)	+(100.0)
Arginine	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
Chitin	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)
Starch	d(26.7)	-(9.1)	-(0.0)	d(84.6)	-(0.0)	d(50.0)
Lecithinase	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(50.0)
28°C	+(100.0)	+(100.0)	-(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
37°C	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)
King A	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)	-(0.0)

*カッコ内は陽性率を示す。

表13-2 *Aeromonas* spp.の生物学的性状

性 状		数値分類によるグループ					
		I (n=15)	II (n=11)	III (n=8)	IV (n=13)	V (n=2)	VI (n=2)
King A Milk Novobiocin Achilamidase 0-129(10ug) 0-129(50ug) 0-129(100ug) Growth on Salicin Sucrose Arabinose Raffinose Mannose Sorbitol Levulose Arginine Histidine Anaerobic pH 9.0 S S Acid from Glucose Sucrose Lactose Mannitol Inositol Arabinose Cellobiose Raffinose Sorbitol Trehalose Xylose Adonitol Dulcitol Salicin Mannose	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	d(66.7)	d(18.2)	d(25.0)	d(15.4)	d(50.0)	- (0.0)	
	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	d(53.8)	- (0.0)	- (0.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	- (0.0)	
	d(86.6)	+(100.0)	+(100.0)	d(76.9)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(92.3)	d(50.0)	- (0.0)	
	+(93.3)	+(100.0)	d(87.5)	d(46.2)	+(100.0)	- (0.0)	
	+(93.3)	+(100.0)	+(100.0)	d(61.5)	+(100.0)	- (0.0)	
	d(66.7)	+(100.0)	d(50.0)	- (7.7)	+(100.0)	d(33.3)	
	d(26.7)	+(100.0)	d(62.5)	d(69.2)	- (0.0)	- (0.0)	
	+(93.3)	+(100.0)	d(25.0)	d(38.5)	- (0.0)	- (0.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	d(46.7)	- (9.1)	- (0.0)	d(23.1)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	- (0.0)	+(100.0)	
	d(26.7)	- (9.1)	- (0.0)	- (0.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(93.3)	+(100.0)	d(87.5)	+(92.3)	+(100.0)	- (0.0)	
	d(60.0)	+(100.0)	d(25.0)	d(53.8)	d(50.0)	- (0.0)	
	d(60.0)	+(100.0)	d(37.5)	- (0.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	+(93.3)	+(100.0)	d(62.5)	d(23.1)	- (0.0)	+(100.0)	
	d(86.7)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	- (0.0)	
	d(80.0)	+(100.0)	d(87.5)	- (0.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	d(20.0)	d(18.2)	d(50.0)	- (0.0)	- (0.0)	- (0.0)	
	d(33.3)	- (9.1)	d(50.0)	- (0.0)	+(100.0)	+(100.0)	
	d(80.0)	+(90.9)	+(100.0)	d(38.5)	- (0.0)	- (0.0)	
+(100.0)	+(100.0)	+(100.0)	d(76.9)	d(50.0)	- (0.0)		
由 来	河川土壌 河川水 淡水魚	4 株 1 株 10 株	4 株 1 株 6 株	2 株 6 株	13 株	2 株	

表 14 河川水および土壌からのフラーゼ分離状況

由 来	検 査 例 数	陽 性 例 数 (%)
河 川 水	195	82 (40.1)
土 壌	90	23 (25.6)
計	285	105 (36.8)

表15-1 Aeromonas属のファージ型別と溶菌パターン

指示菌株No.		ファージ型 (A)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
15(21.25. 26.28.80)	a* b c	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL
2	a b c	++ + -	+++ ++ +	++ + +	- - -	++ ++ ++	+++ ++ ++	++ ++ +	++ ++ -
16	a b c	- - -	+++ +++ ++	+++ ++ +	- - -	+++ ++ ++	++ + -	+++ ++ +	++ + -
45	a b c	++ ++ +	CL +++ ++	+ - -	++ ++ +	- - -	- - -	- - -	++ ++ -
51	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	CL +++ +++	++ - -	- - -
46	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	++ ++ +
93	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
125	a b c	- - -	- - -	- - -	+++ ++ +	- - -	- - -	- - -	- - -
311	a b c	- - -	+ - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+ - -	- - -
44	a b c	+ - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
127	a b c	- - -	- - -	+ - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
160	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -

*(a)1 RTD (b)10 RTD (c)100 RTD

表 15-2 *Aeromonas* 属のファージ型別と溶菌パターン

指示菌株No.		ファージ型 (A)								
		9	10	11	12	13	14	15	16	17
15(21.25.26.28.80)	a [†] b c	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL	CL CL CL
2	a b c	+++ ++ ++	+++ ++ ++	CL +++ ++	+++ ++ ++	- - -	+++ ++ ++	+ - -	+++ +++ ++	+++ ++ +
16	a b c	+++ ++ -	+++ ++ +	+++ + -	++ ++ -	- - -	+++ ++ -	+++ ++ -	- - -	++ + -
45	a b c	- - -	+ + -	- - -	++ - -	- - -	- - -	CL +++ +++	- - -	- - -
51	a b c	CL +++ +++	+ + -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
46	a b c	++ + -	++ - -	+ - -	- - -	- - -	++ - -	- - -	- - -	+ - -
93	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	CL +++ ++	- - -	+ - -
125	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
311	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
44	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
127	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
160	a b c	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+++ +++ ++	- - -	- - -	- - -

CL:ファージ適下部全面が完全溶菌
 +++:個々の溶菌斑が互いに融合している。
 ++:溶菌斑が50個以上

+ :溶菌斑が20-30個
 + :溶菌斑が20個以下
 -:溶菌斑なし

表15-3 Aeromonas属のファージ型別と溶菌パターン

指示菌株No.		ファージ型 (A)								
		18	19	20	21	22	23	24	25	26
71	a*	CL	-	-	-	CL	-	-	CL	+++
	b	CL	-	-	-	CL	-	-	+++	++
	c	CL	-	-	-	CL	-	-	++	+
81	a	-	-	-	CL	-	-	-	-	+++
	b	-	-	-	CL	-	-	-	-	+++
	c	-	-	-	CL	-	-	-	-	++
127	a	-	-	-	-	CL	-	CL	CL	-
	b	-	-	-	-	CL	-	+++	CL	-
	c	-	-	-	-	CL	-	++	CL	-
159	a	-	-	-	-	-	-	-	CL	-
	b	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
	c	-	-	-	-	-	-	-	++	-
179	a	-	CL	CL	-	-	-	-	-	-
	b	-	CL	CL	-	-	-	-	-	-
	c	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-
317	a	CL	-	CL	-	CL	CL	CL	CL	CL
	b	CL	-	CL	-	CL	CL	CL	CL	CL
	c	+++	-	CL	-	CL	CL	CL	CL	CL

*(a)1 RTD (b)10 RTD (c)100 RTD

表 16-1 *Aeromonas* spp. の ファージ型別と溶菌パターン

指示菌株No.		ファージ型 (AM)						
		1	2	3	4	5	6	7
12	a*	-	CL	-	-	-	CL	CL
	b	-	+++	-	-	-	CL	CL
	c	-	++	-	-	-	+++	+++
15	a	-	CL	-	-	CL	CL	CL
	b	-	+++	-	-	CL	+++	+++
	c	-	++	-	-	CL	++	++
19	a	-	CL	CL	CL	CL	CL	CL
	b	-	+++	+++	+++	+++	+++	CL
	c	-	++	++	++	++	++	++
69	a	-	-	-	-	-	-	-
	b	-	-	-	-	-	-	-
	c	-	-	-	-	-	-	-
141	a	CL	-	CL	-	-	-	-
	b	CL	-	CL	-	-	-	-
	c	+++	-	+++	-	-	-	-
223	a	-	-	-	-	-	-	CL
	b	-	-	-	-	-	-	+++
	c	-	-	-	-	-	-	++
254	a	-	-	-	-	-	CL	-
	b	-	-	-	-	-	++	-
	c	-	-	-	-	-	+	-
370	a	-	-	-	-	-	-	-
	b	-	-	-	-	-	-	-
	c	-	-	-	-	-	-	-
507	a	-	-	-	-	-	-	-
	b	-	-	-	-	-	-	-
	c	-	-	-	-	-	-	-

表 16-2 Aeromonas spp.の ファージ型別と溶菌パターン

指示菌株No.		ファージ型 (AM)					
		8	9	10	11	12	13
12	a*	CL	CL	-	-	-	-
	b	++	+++	-	-	-	-
	c	+	++	-	-	-	-
15	a	-	CL	-	-	-	-
	b	-	CL	-	-	-	-
	c	-	CL	-	-	-	-
19	a	CL	CL	-	-	-	CL
	b	CL	+++	-	-	-	+++
	c	+++	+++	-	-	-	++
69	a	-	-	CL	CL	-	-
	b	-	-	CL	CL	-	-
	c	-	-	CL	CL	-	-
141	a	-	CL	-	-	-	-
	b	-	+++	-	-	-	-
	c	-	++	-	-	-	-
223	a	-	-	-	-	-	-
	b	-	-	-	-	-	-
	c	-	-	-	-	-	-
254	a	-	CL	-	-	CL	CL
	b	-	+++	-	-	CL	+++
	c	-	++	-	-	CL	+++
370	a	-	-	-	-	CL	-
	b	-	-	-	-	CL	-
	c	-	-	-	-	+++	-
507	a	-	CL	-	-	-	-
	b	-	+++	-	-	-	-
	c	-	++	-	-	-	-

CL:ファージ滴下部全面が完全溶菌
 +++:個々の溶菌斑が互いに融合している。
 ++:溶菌斑が50個以上

+:溶菌斑が20-30個
 -:溶菌斑が20個以下
 -:溶菌斑なし

表 16-3 Aeromonas spp. の ファージ型別と溶菌パターン

指示菌株No.		ファージ型 (AM)								
		1 4	1 5	1 6	1 7	1 8	1 9	2 0	2 1	2 2
229	a*	-	CL	-	-	-	-	-	-	-
	b	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
	c	-	+ +	-	-	-	-	-	-	-
243	a	CL	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	CL	-	-	-	-	-	-	-	-
	c	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
290	a	-	-	-	CL	-	-	-	-	-
	b	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
	c	-	-	-	+ +	-	-	-	-	-
292	a	-	-	-	-	-	-	-	-	CL
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	CL
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
304	a	-	-	-	-	-	-	-	CL	CL
	b	-	-	-	-	-	-	-	CL	+++
	c	-	-	-	-	-	-	-	+++	+ +
503	a	-	-	-	-	-	CL	CL	CL	-
	b	-	-	-	-	-	CL	+++	CL	-
	c	-	-	-	-	-	CL	+ +	+++	-
505	a	-	-	-	-	-	CL	-	-	CL
	b	-	-	-	-	-	CL	-	-	CL
	c	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++
618	a	-	-	CL	-	-	-	-	-	-
	b	-	-	CL	-	-	-	-	-	-
	c	-	-	+++	-	-	-	-	-	-
606	a	-	-	-	-	CL	CL	CL	CL	CL
	b	-	-	-	-	CL	CL	CL	CL	CL
	c	-	-	-	-	CL	+++	+++	+++	CL

表 17 由来別におけるファージ型別状況

ファージ型 (A)	供試菌株の由来			合 計
	河川水・湖水	河川土壌	淡水魚	
1		1	1	2
4		2	5	7
8		1		1
12	1	1	4	6
13			1	1
18			3	3
21	1			1
22		1	1	2
混 合	6	13	45	64
小 計	8(11.9)*	19(26.7)	60(14.8)	87(16.0)
型別不能	59(88.1)	52(73.2)	345(85.2)	456(84.0)
合 計	67(100.0)	71(100.0)	405(100.0)	543(100.0)

*菌株数(%)

表 1 8 河川水・湖水の水系統別におけるファージ型別状況

ファージ型 (A)	供試菌株の地域別由来			合 計
	相模川水系	多摩川水系	津久井湖水系	
1	1	1		2
4	3	4		7
8	1			1
12	1	4	1	6
13		1		1
18	3			3
21		1		1
22	1	1		2
混 合	34	27	3	64
小 計	44(18.5)*	39(13.9)	4(16.7)	87(16.0)
型別不能	194(81.5)	242(86.1)	20(83.3)	456(84.0)
合 計	238(100.0)	281(100.0)	24(100.0)	543(100.0)

*:菌株数(%)

表 1 9 菌種別におけるファージ型別状況

ファージ型 (A)	供試菌株の菌種別		
	<u>A.hydrophila</u>	<u>A.sobria</u> ^{a)}	<u>A.caviae</u> ^{a)}
1	2		
4	3	2	2
8	1		
12	3	3	
13	1		
18	3		
21	1		
22	2		
混 合	37	16	11
小 計	47(45.6)*	21(7.2)	13(8.8)
型別不能	56(54.4)	271(92.8)	135(91.2)
合 計	103(100.0)	292(100.0)	148(100.0)

a)A18-A26未検討 *:菌株数(%)

表20 混合型に型別されたファージ型(A)の組み合わせ

ファージ型混合数	陽性株数	ファージ型混合数	陽性株数
1/2	5	1/11/12/13/15	1
19/20	2	5/13/14/16/17	1
21/24	2	5/11/12/13/15	1
1/12	1	18/22/23/24/25/26	1
4/12	1	1/2/4/5/14/15	1
4/14	1	1/2/4/6/7/9	1
5/14	1	18/21/22/23/24/25	1
24/25	1	18/21/23/24/25/26	1
25/26	1	21/22/23/24/25/26	1
1/2/4	1	18/21/22/23/24/25/26	5
1/2/5	1	1/2/5/11/14/15/16	1
1/2/14	1	18/19/21/22/23/24/25	1
1/9/12	1	1/2/4/8/9/10/12/13	1
5/13/14	1	1/2/4/9/10/13/15/16	1
12/13/15	1	1/2/4/5/10/11/12/13	1
21/23/25	1	1/2/4/5/6/7/8/9	1
21/24/26	1	18/20/21/22/23/24/25/26	1
1/2/4/6	1	1/2/4/6/7/9/10/12/15	1
2/4/12/13	1	1/2/5/7/9/10/11/13/14	1
4/5/7/11	1	5/6/7/8/9/10/11/12/16	1
4/10/12/13	1	1/2/3/4/5/6/7/8/9/14	1
5/11/12/13	1	1/2/4/5/6/7/8/9/12/13	1
18/21/23/24	1	1/2/4/5/6/7/8/9/10/12/13/15	1
18/21/23/25	1	1/2/3/4/5/6/7/8/9/10/12/13/15/16	1
1/2/4/7/9	1	1/2/4/5/6/7/8/9/10/11/12/13/14/15/16	1
1/2/5/15/16	1	1/2/3/4/5/6/7/8/9/10/11/12/13/14/15/16/17	1
1/4/9/12/13	1		1

表2 1 Aeromonas spp.におけるファージ型別状況

ファージ型 (AM)	数値分類による <u>Aeromonas</u> spp.のタイプ						合 計
	I	II	III	IV	V	VI	
1							
2		1					1
3				1			1
4			1				1
5							
6							
7		2	1				3
8		1					1
9				2			2
10	1						1
11							
12	1						1
13							
14	1						1
15	1						1
16	1					1	2
17					1		1
18							
19							
20							
21							
22					1		1
混 合	6	6	4	9			25
小 計	11(73.3)	10(90.9)	6(75.0)	12(92.3)	2(100.0)	1(50.0)	42(82.4)
型別不能	4(26.7)	1(9.1)	2(25.0)	1(7.7)		1(50.0)	9(17.6)
合 計	15(100.0)	11(100.0)	8(100.0)	13(100.0)	2(100.0)	2(100.0)	51(100.0)

表 2 2 Aeromonas spp.で混合型に型別されたファージ型の組み合わせ

ファージ型 (A M)	陽性菌株数
6/9	2
2/7	1
11/12	2
19/22	1
21/22	1
1/3/9	1
4/7/9	1
7/9/11	2
19/20/21	1
1/2/3/4	1
1/3/6/9	1
2/3/4/7	1
2/6/7/9	1
4/6/7/9	1
6/7/8/9	1
1/3/6/7/9	1
2/5/6/7/9	1
2/6/7/8/9	1
6/9/11/12/13	1
18/19/20/21/22	1
2/3/4/6/7/9	1
2/3/4/5/6/7/8/9	1
合 計	25

表 2 3 由来別における Aeromonas spp.ファージ型別状況

ファージ型 (A M)	供試菌株の由来			合 計
	河川土壌	河川水	淡水魚	
1				
2			1	1
3			1	1
4			1	1
5				
6				
7			3	3
8			1	1
9			2	2
10	1			1
11				
12			1	1
13				
14			1	1
15			1	1
16		2		2
17			1	1
18				
19				
20				
21				
22			1	1
混 合	9	1	15	25
小 計	10(90.9)	3(75.0)	29(80.6)	42(82.4)
型別不能	1(9.1)	1(25.0)	7(19.4)	9(17.6)
合 計	11(100.0)	4(100.0)	36(100.0)	51(100.0)

表 2 4 水系統別における Aeromonas spp.ファージ型別状況

ファージ型 (AM)	供試菌株の地域別由来			合 計
	相模川	多摩川	津久井湖	
1				
2		1		1
3	1			1
4		1		1
5				
6				
7	2	1		3
8	1			1
9	1	1		2
10		1		1
11				
12		1		1
13				
14	1			1
15	1			1
16		1	1	1
17	1			1
18				
19				
20				
21				
22	1			1
混 合	9	10	6	25
小 計	18(100.0)*	17(68.0)	7(87.5)	42(82.4)
型別不能		8(32.0)	1(12.5)	9(17.6)
合 計	18(100.0)	25(100.0)	8(100.0)	51(100.0)

*菌株数(%)

表25 検体数における河川土壌からのAeromonas属の分離状況

採取場所	菌 種	1982年 10月	1983年 1月	4月	7月	合 計(%)	信頼限度(p=0.05)
相模川 (n=100)	<u>A. hydrophila</u>	7	0	4	3	14(14.0)	20.8- 7.2
	<u>A. sobria</u>	3	6	3	1	13(13.0)	19.6- 6.4
	<u>A. caviae</u>	2	5	7	5	19(19.0)	26.7- 11.3
	<u>Aeromonas spp.</u>	6	7	4	4	21(21.0)	29.0- 13.0
津久井湖 (n=40)	<u>A. hydrophila</u>	2	2	3	2	9(22.5)	35.4- 9.6
	<u>A. sobria</u>	0	0	1	0	1(2.5)	7.3-(-2.3)
	<u>A. caviae</u>	0	1	3	1	5(12.5)	21.7- 3.3
	<u>Aeromonas spp.</u>	3	4	3	5	15(37.5)	52.5- 22.5
多摩川 (n=60)	<u>A. hydrophila</u>	4	1	1	4	10(16.7)	26.1- 7.3
	<u>A. sobria</u>	3	2	2	0	7(11.7)	19.8- 3.6
	<u>A. caviae</u>	1	1	7	6	15(25.0)	36.0- 14.0
	<u>Aeromonas spp.</u>	7	7	4	6	24(40.0)	52.4- 27.6
合 計 (n=200)	<u>A. hydrophila</u>	13	3	8	9	33(16.5)	21.6- 11.4
	<u>A. sobria</u>	6	8	6	1	21(10.5)	14.8- 6.2
	<u>A. caviae</u>	3	7	17	12	39(19.5)	25.0- 14.0
	<u>Aeromonas spp.</u>	16	18	11	15	60(30.0)	36.4- 23.6

*該当菌株数／調査菌株数

表26 検体数における河川水・湖水からのAeromonas属分離状況

採取場所	菌 種	1982年	1983年	4月	7月	合 計(%)	信頼限度(p=0.05)
		10月	1月				
相模川 (n=20)	<u>A. hydrophila</u>	1	1	1	4	7(35.0)	55.9- 14.1
	<u>A. sobria</u>	3	2	2	1	8(40.0)	61.5- 18.5
	<u>A. caviae</u>	1	2	4	1	8(40.0)	61.5- 18.5
	<u>Aeromonas spp.</u>	3	4	1	3	11(55.0)	76.8- 33.2
津久井湖 (n=16)	<u>A. hydrophila</u>	1	1	0	0	3(18.8)	37.9- (-0.3)
	<u>A. sobria</u>	4	3	1	0	8(50.0)	74.5- 25.5
	<u>A. caviae</u>	0	0	2	4	6(37.5)	49.8- 25.2
	<u>Aeromonas spp.</u>	2	4	0	0	5(41.7)	42.9- 19.5
多摩川 (n=12)	<u>A. hydrophila</u>	1	1	1	2	5(41.7)	69.6- 13.8
	<u>A. sobria</u>	1	2	1	1	5(41.7)	69.9- 13.8
	<u>A. caviae</u>	1	3	1	3	8(66.7)	93.4- 40.0
	<u>Aeromonas spp.</u>	2	1	2	0	5(41.7)	69.6- 13.8
合 計 (n=48)	<u>A. hydrophila</u>	3	3	2	7	15(31.3)	44.1- 18.2
	<u>A. sobria</u>	8	7	4	2	21(43.8)	57.8- 29.8
	<u>A. caviae</u>	2	5	7	8	22(45.8)	59.9- 31.7
	<u>Aeromonas spp.</u>	7	8	3	3	21(43.8)	57.8- 29.8

*該当菌株数／調査菌株数

表 27 淡水魚における検体数からの菌種別の Aeromonas 属分離状況

捕獲地域	菌 種	1982年 10月	1983年 1月	4月	7月	合 計(%)	信頼限度(p=0.05)
相模川	<u>A. hydrophila</u>	31/101(30.0)*	NT**	2/16(12.5)	26/69(37.9)	59/186(31.7)	38.4-25.0
	<u>A. sobria</u>	32/101(31.7)	NT	3/16(18.8)	23/69(33.3)	58/186(31.2)	37.9-24.5
	<u>A. caviae</u>	19/101(18.8)	NT	6/16(37.5)	29/69(42.0)	54/186(29.0)	35.5-22.5
	<u>Aeromonas spp.</u>	60/101(59.4)	NT	2/16(19.0)	26/69(37.7)	88/186(47.3)	54.5-40.1
多摩川	<u>A. hydrophila</u>	19/ 60(31.7)	19/ 55(34.5)	24/ 62(38.7)	28/ 51(54.9)	90/228(39.5)	45.8-33.2
	<u>A. sobria</u>	46/ 60(76.7)	31/ 55(56.4)	42/ 62(67.7)	27/ 51(52.9)	146/228(64.0)	70.2-57.8
	<u>A. caviae</u>	27/ 60(45.0)	22/ 55(40.0)	27/ 62(43.5)	29/ 51(56.9)	127/228(55.7)	64.3-47.1
	<u>Aeromonas spp.</u>	40/ 60(66.7)	46/ 55(83.6)	30/ 62(48.4)	6/ 51(11.8)	122/228(53.5)	62.1-44.6
合 計	<u>A. hydrophila</u>	50/161(31.1)	19/ 55(34.5)	26/ 78(33.3)	54/120(45.0)	149/414(36.0)	43.7-28.3
	<u>A. sobria</u>	78/161(48.4)	31/ 55(56.4)	45/ 78(57.7)	50/120(41.7)	204/414(49.3)	51.1-44.5
	<u>A. caviae</u>	46/161(28.6)	22/ 55(40.0)	33/ 78(42.3)	58/120(48.3)	159/414(38.4)	43.1-33.7
	<u>Aeromonas spp.</u>	100/161(62.1)	46/ 55(83.6)	32/ 78(41.0)	32/120(26.7)	210/414(50.7)	55.5-45.9

*該当菌株数／調査菌株数 **検討せず

表 2 8 検体別における菌種別の数値分類について

菌 種	由 来		
	河川水 (n=24)	河川土壌 (n=100)	淡水魚 (n=161)
<u>Aeromonas</u> <u>hydrophila</u>	3(12.3)	15(15.0)	59(36.6)
<u>sobria</u>	18(75.0)	25(25.0)	100(62.1)
<u>caviae</u>	18(75.0)	20(20.0)	71(44.1)
<u>Aeromonas</u> spp.	4(16.7)	13(13.0)	34(21.1)

表 2 9 検体数における由来別のフラーゼ型別状況

フラーゼ型 (A, AM)	供試検体の由来別			合 計
	河川水・湖水 (n=24)	河川土壌 (n=100)	淡水魚 (n=161)	
型別小計	9 (37.5)	30 (30.0)	78 (48.4)	117 (41.1)
型別不能	15 (62.5)	70 (70.0)	83 (51.6)	168 (58.9)
合 計	24 (100.0)	100 (100.0)	161 (100.0)	285 (100.0)

表 3 0 検体数における水系統別のフラージ型別状況

フラージ型 (A, AM)	供試検体の地域別由来			合 計
	相模川 (n=161)	多摩川 (n=96)	津久井湖 (n=28)	
型別小計	60(37.3)	44(45.8)	13(46.4)	117(41.1)
型別不能	101(62.7)	52(54.2)	15(53.6)	168(58.9)
合 計	161(100.0)	96(100.0)	28(100.0)	285(100.0)

表 3 1 検体数における菌種別のフラージ型別状況

フラージ型 (A, AM)	供試検体の菌種別			
	<u>A.hydrophila</u>	<u>A.sobria</u>	<u>A.caviae</u>	<u>Aeromonas spp.</u>
型別小計	43(55.8)	20(13.9)	13(11.8)	42(82.4)
型別不能	34(44.2)	124(86.1)	97(88.2)	9(17.6)
合 計	77(100.0)	144(100.0)	110(100.0)	51(100.0)

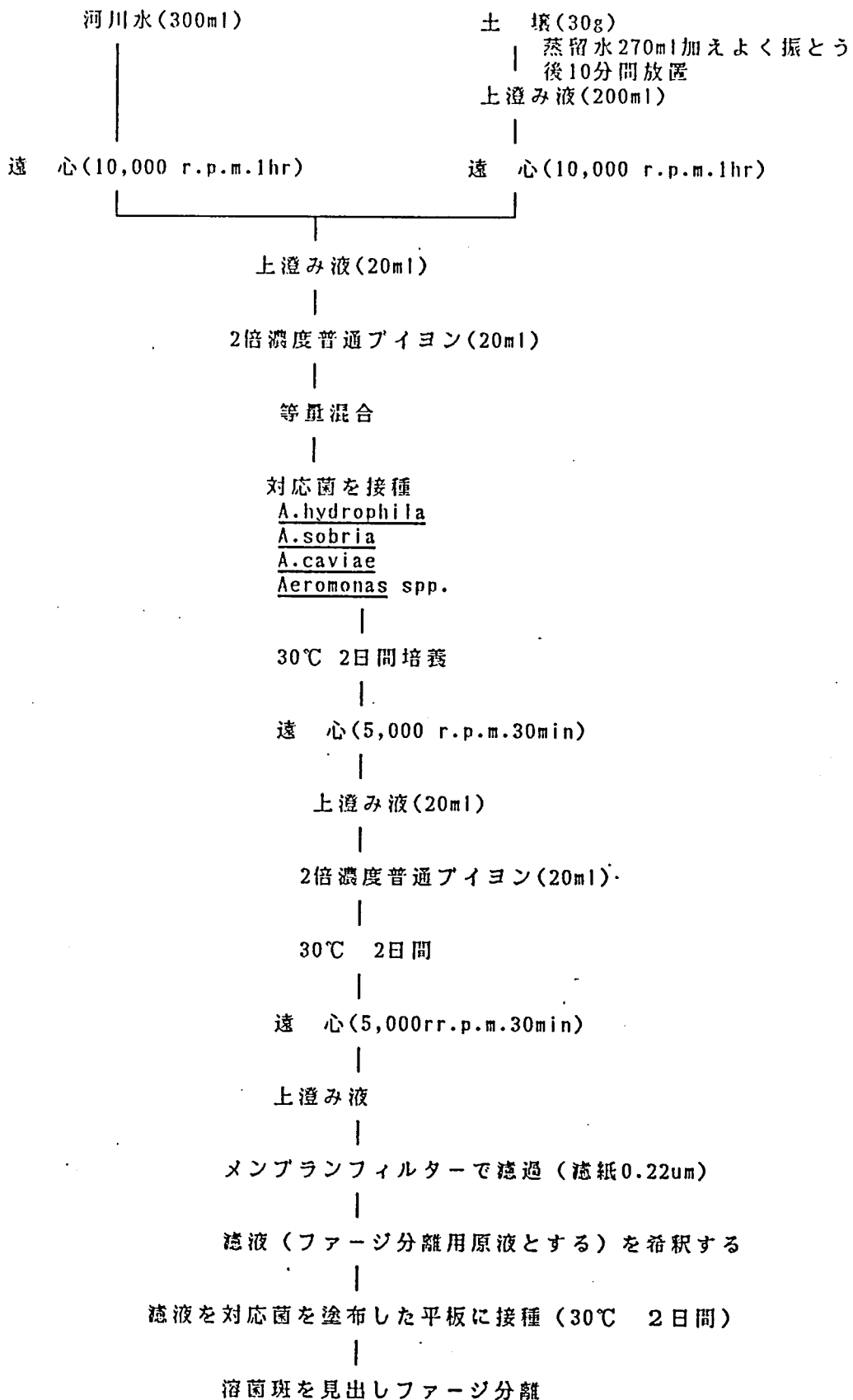
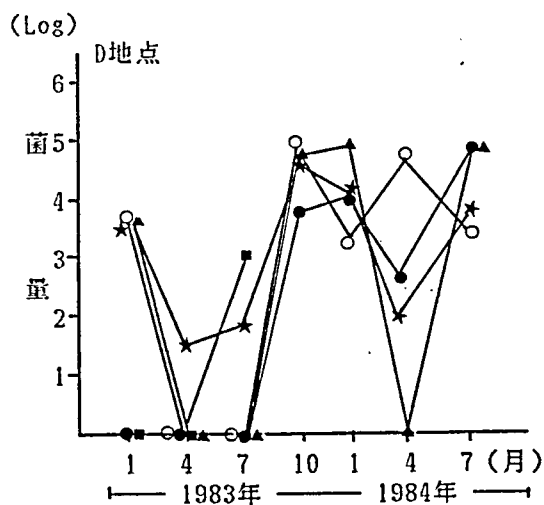
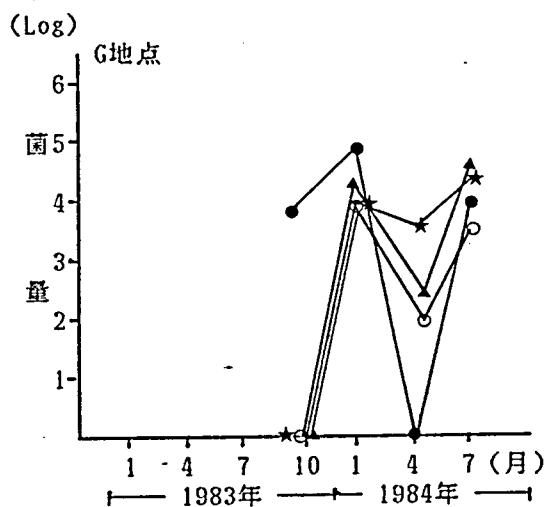
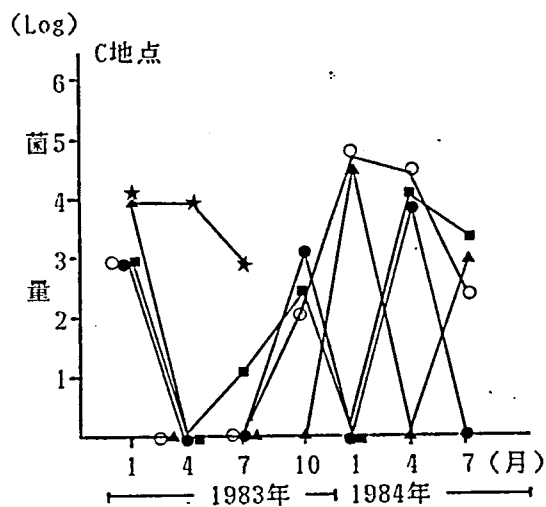
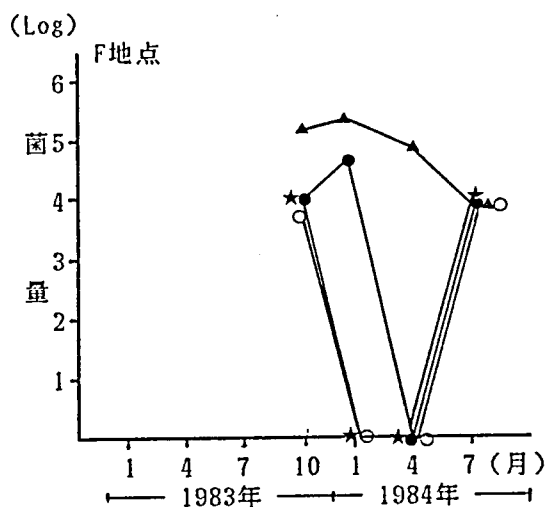
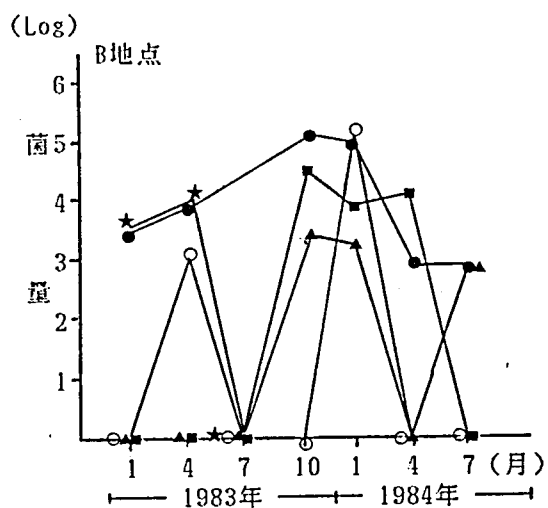
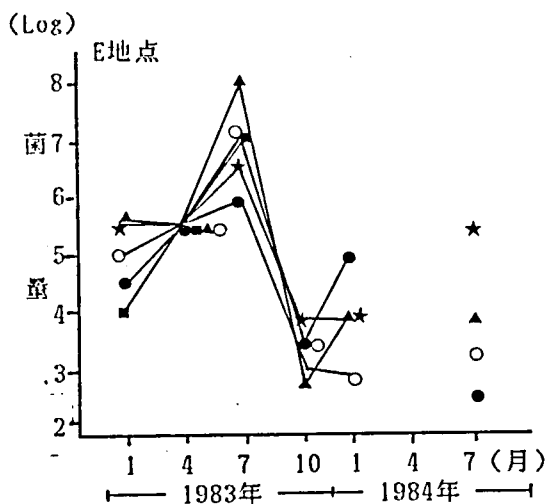
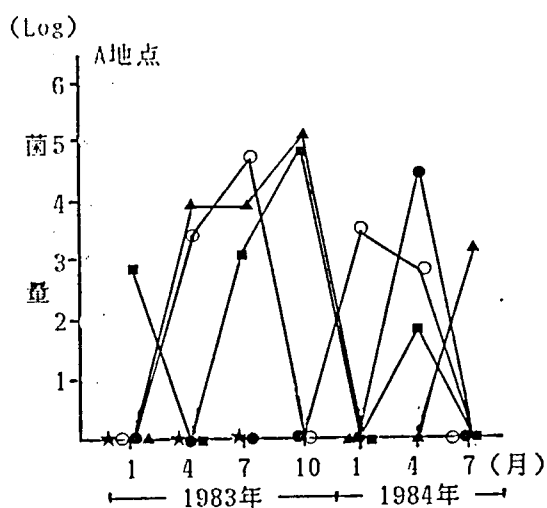


図2 Aeromonas属ファージの分離方法



各地点における
土壌採取場所

- 1 ●—●
- 2 ▲—▲
- 3 ■—■
- 4 ○—○
- 5 ★—★

図3 相模川の土壌に分布するAeromonas属推定菌量

各地点における
土壌採取場所

- 1 ●—●
- 2 ▲—▲
- 3 ○—○
- 4 ■—■
- 5 ☆—☆

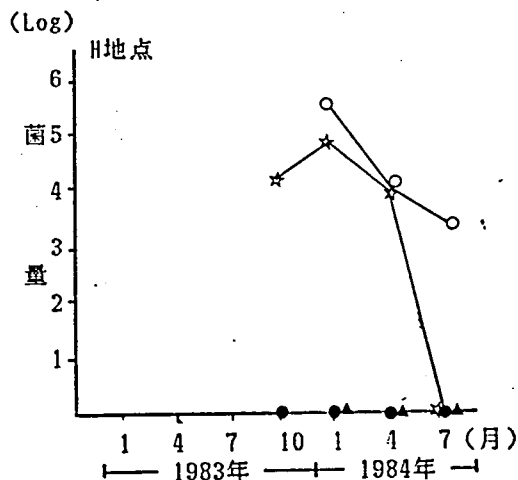
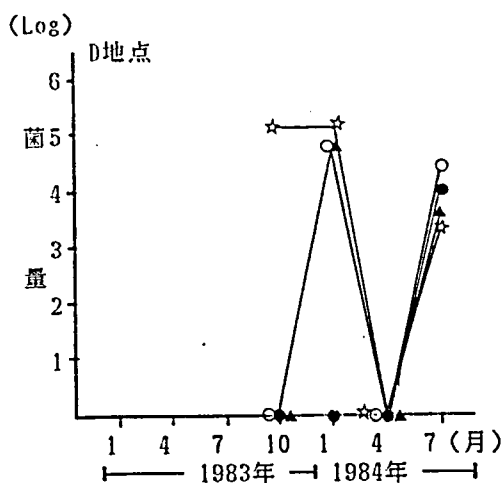
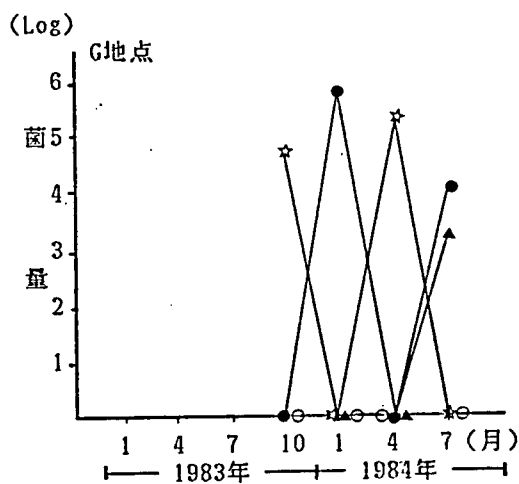
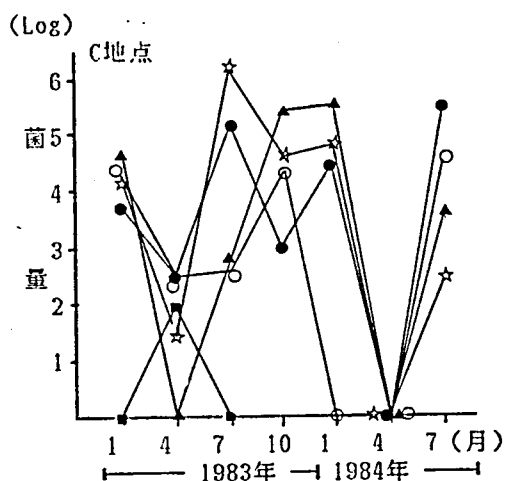
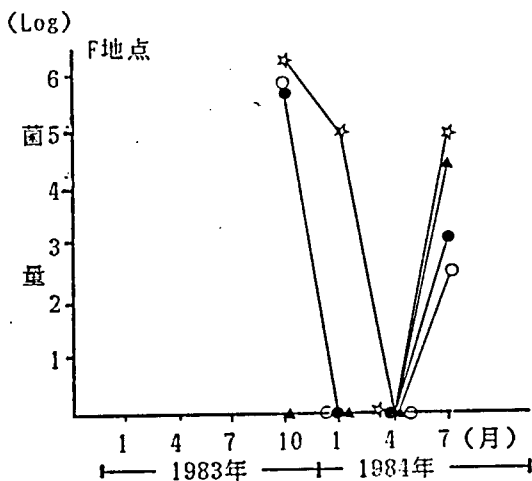
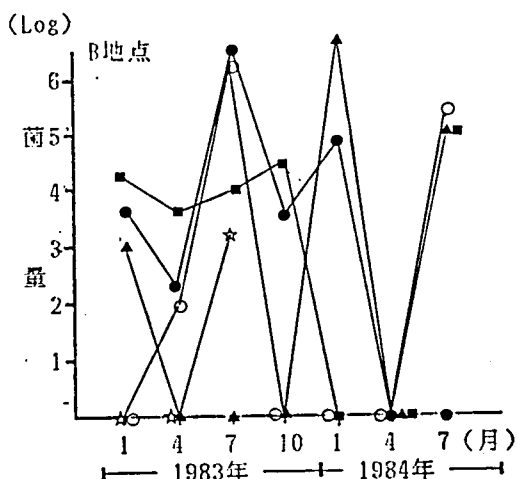
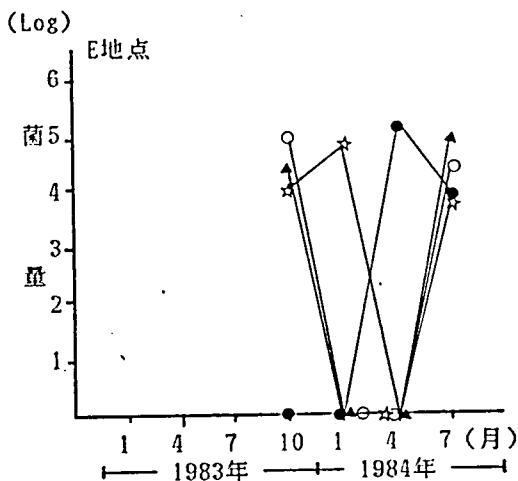
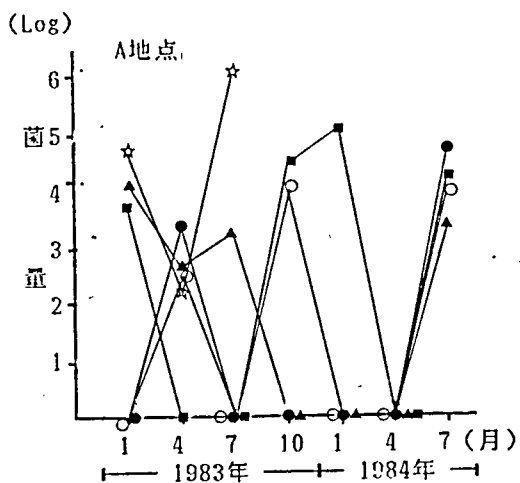
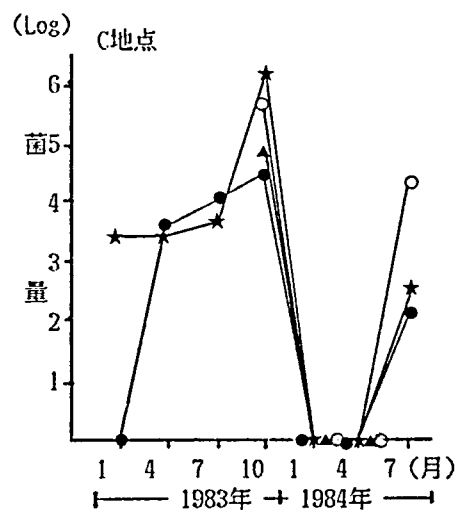
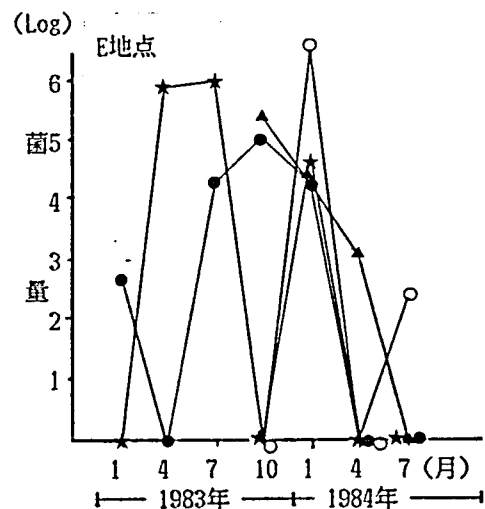
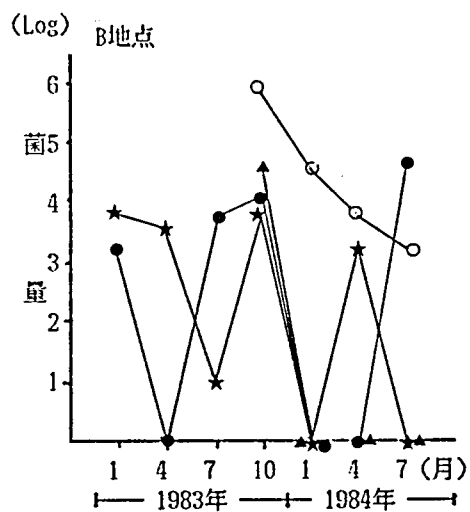
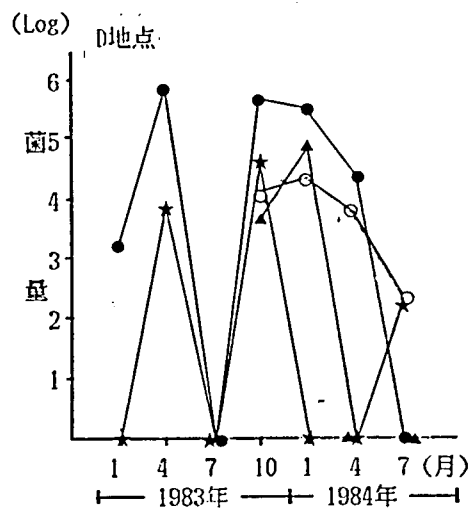
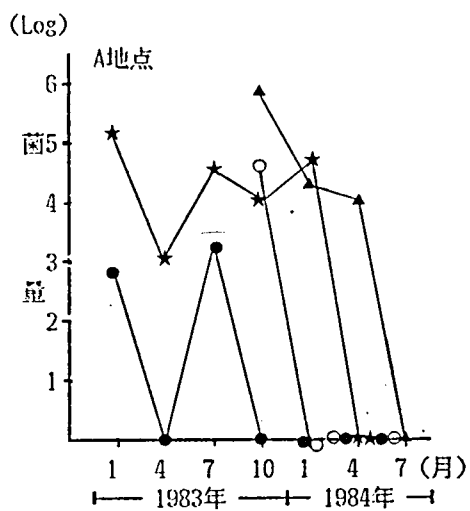


図4 多摩川の土壌に分布するAeromonas属の推定菌量



各地点における土壌採取場所

- 1 ▲—▲
- 2 ●—●
- 3 ○—○
- 4 ★—★

図5 津久井湖の土壌に分布するAeromonas属の推定菌量

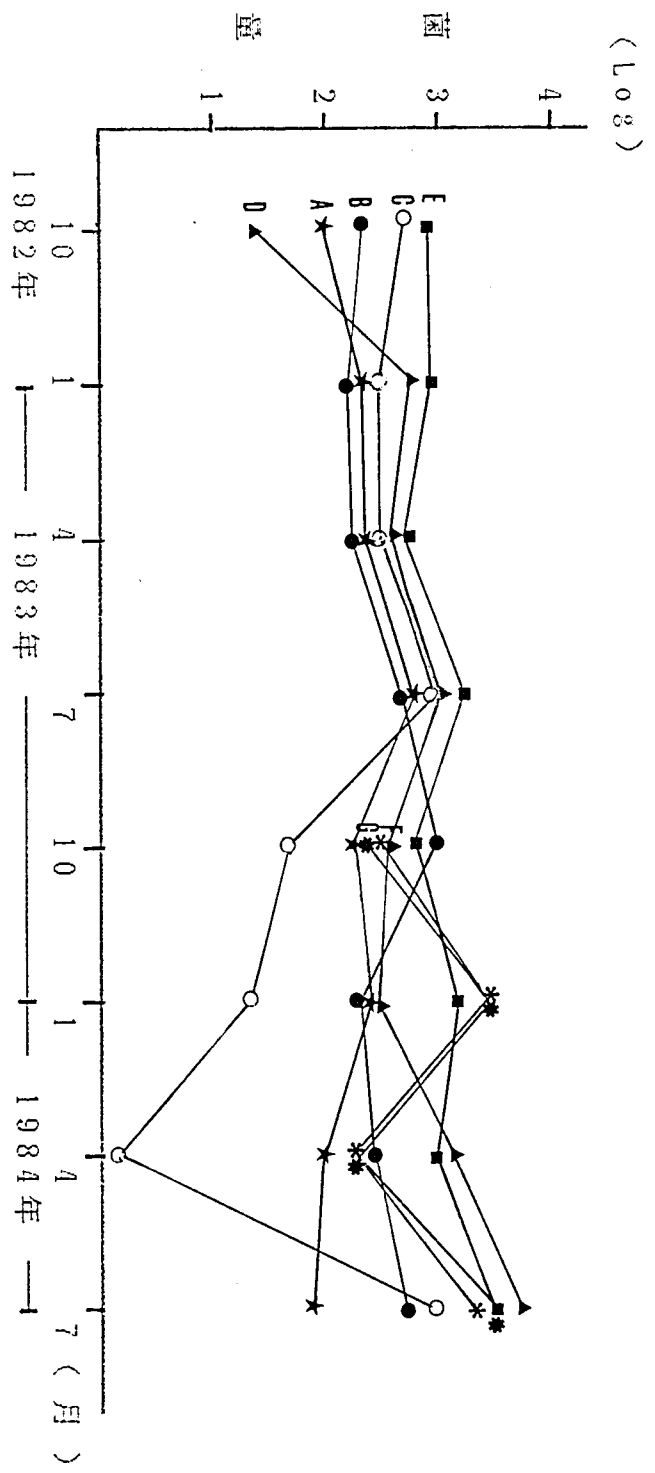


図 6 相模川の河川水における Aeromonas 属の推定菌量

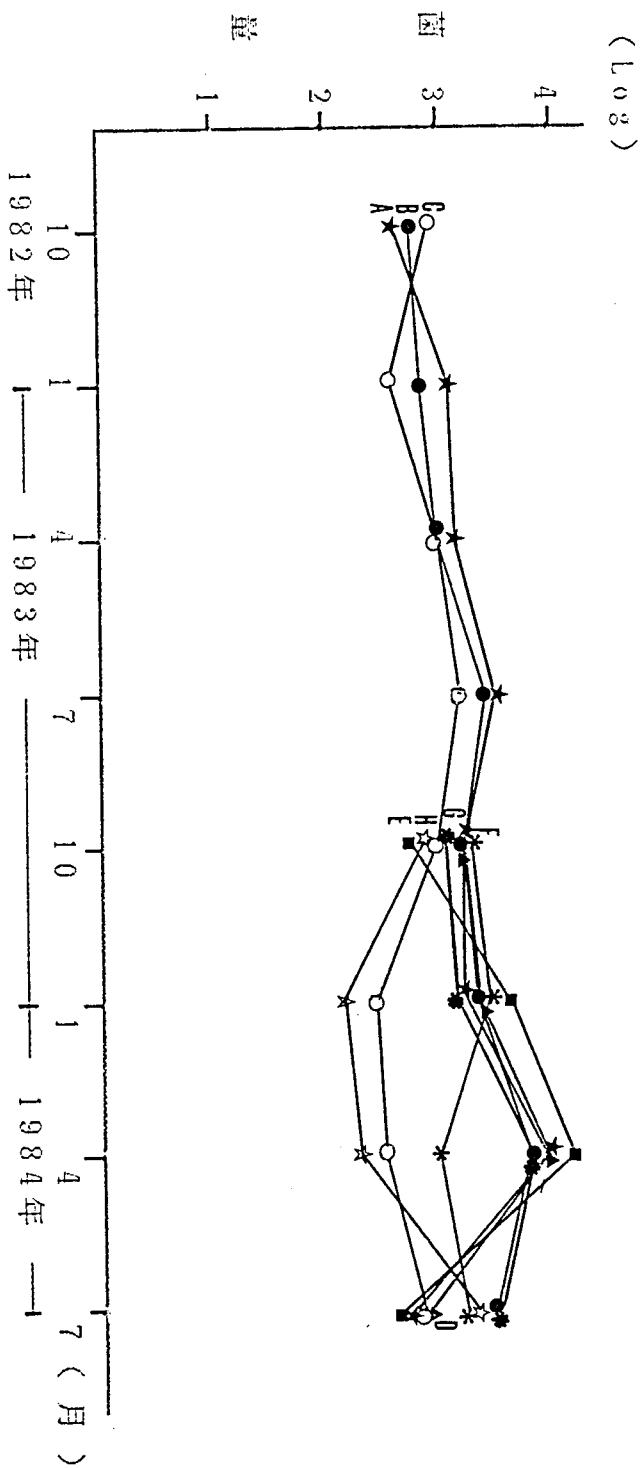


図 7 多摩川の河川水における Aeromonas 属の推定菌量

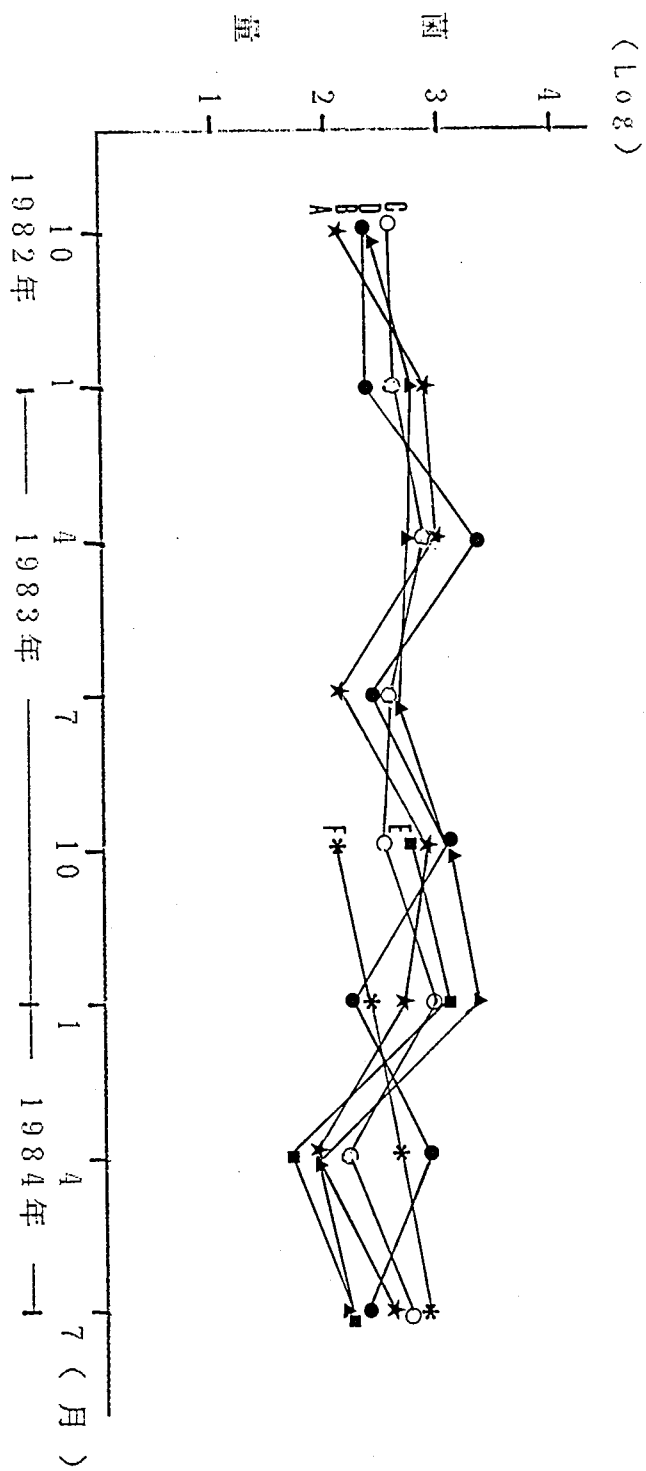


図 8 津久井湖の湖水における Aeromonas 属の推定菌量

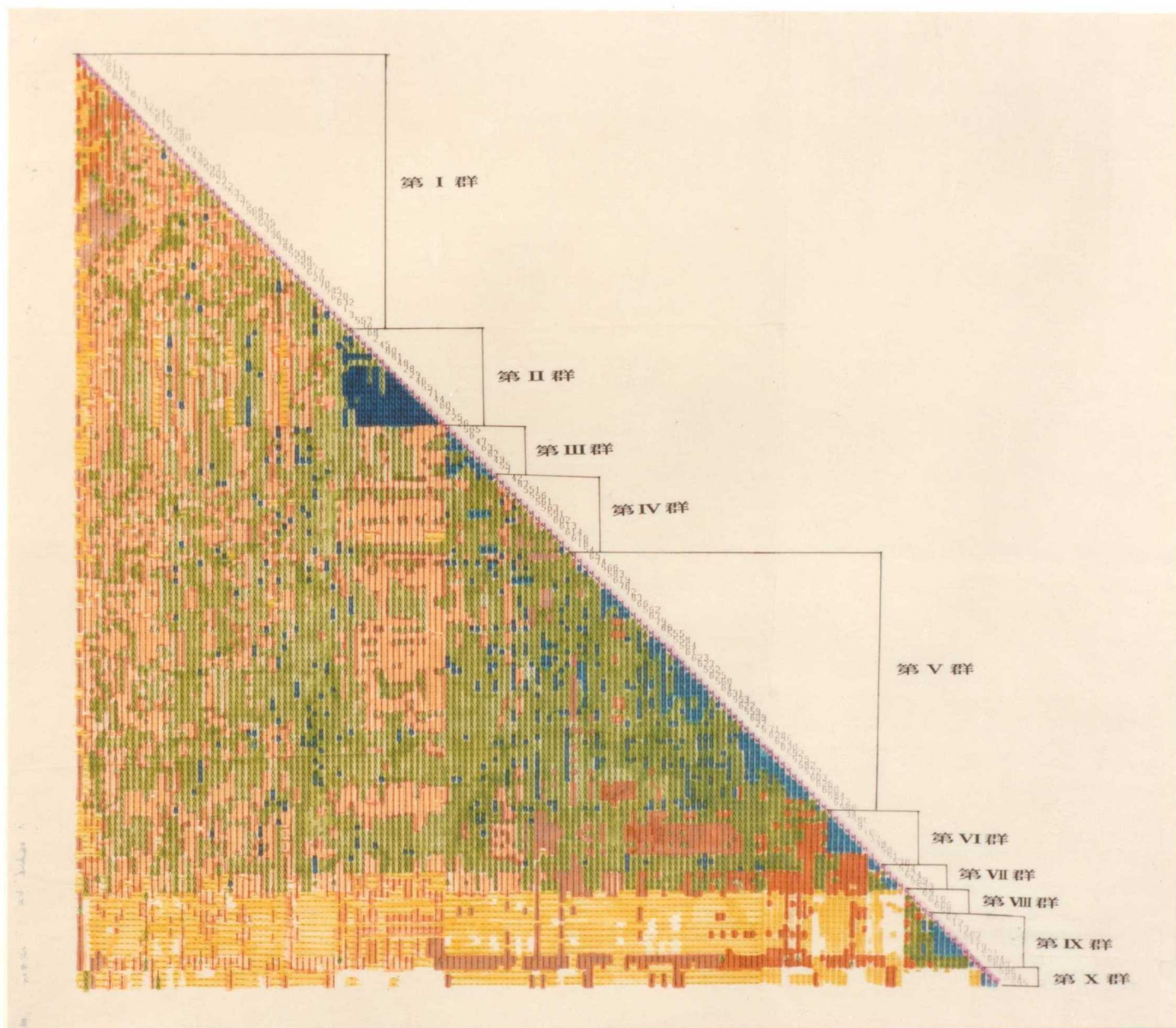


図9 河川水、湖水および河川土壌由来株の相似度マトリック

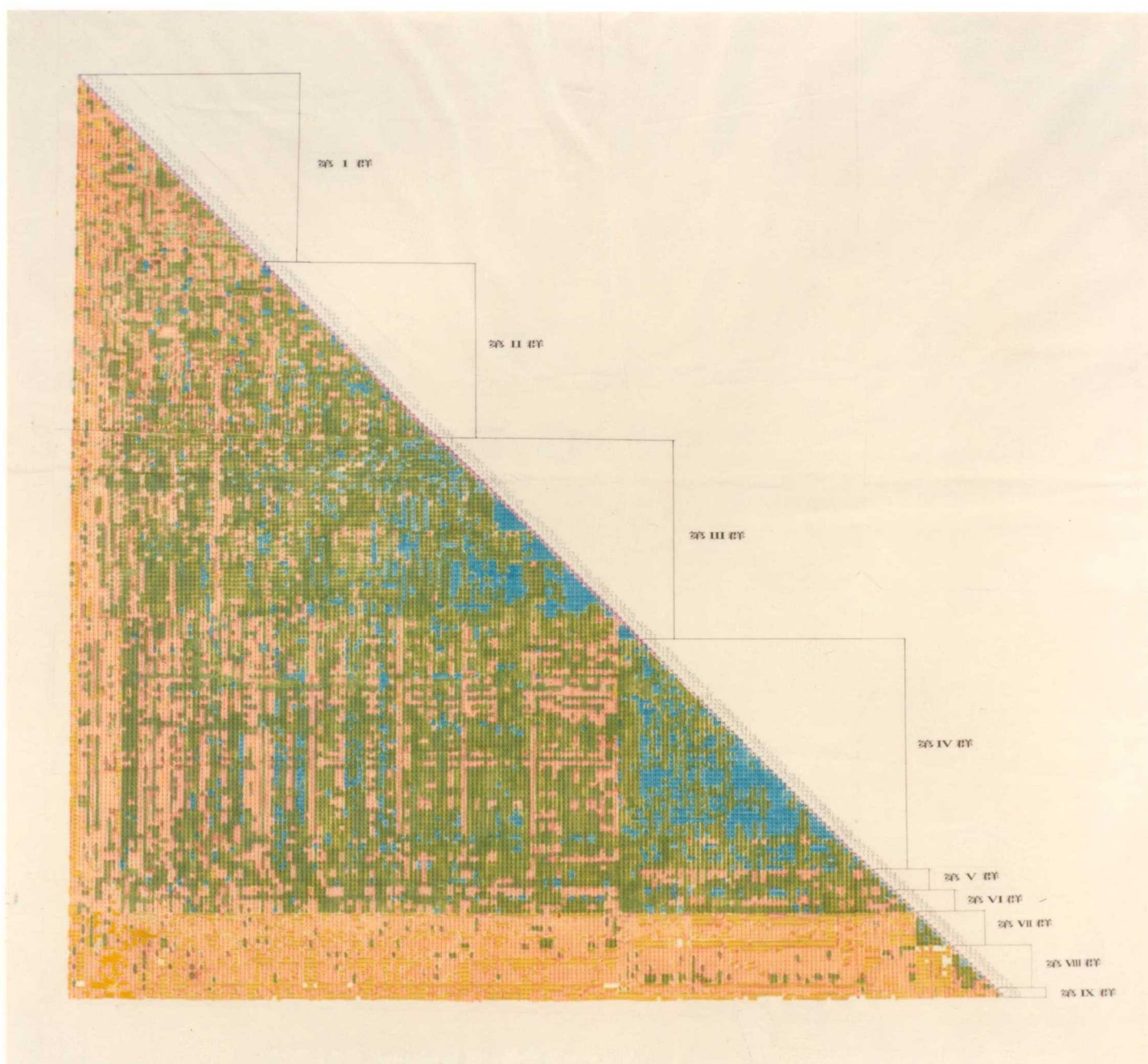


図10 淡水魚由来株（相模川由来）の相似度マトリック

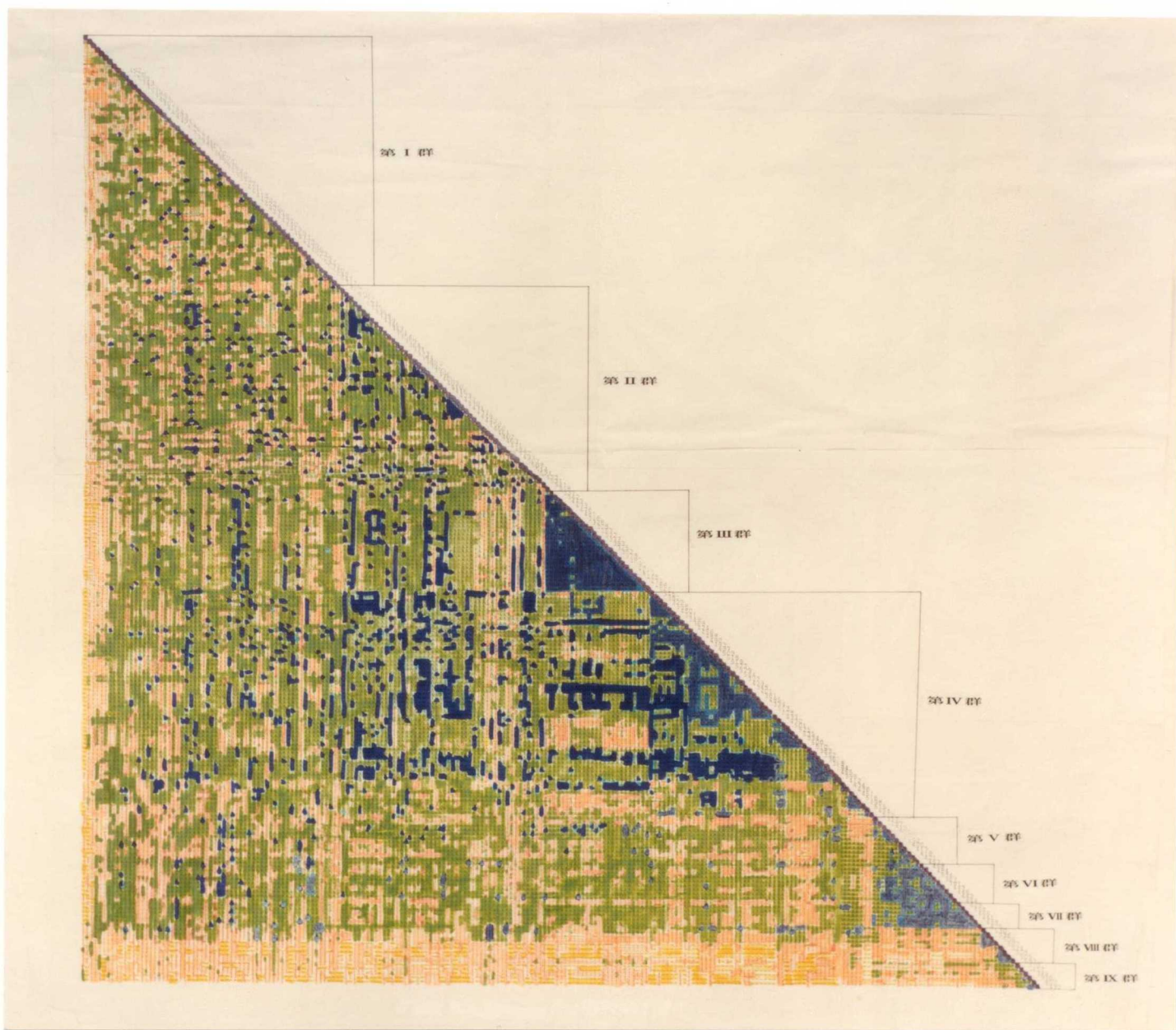


図11 淡水魚由来株（多摩川由来）の相似度マトリック

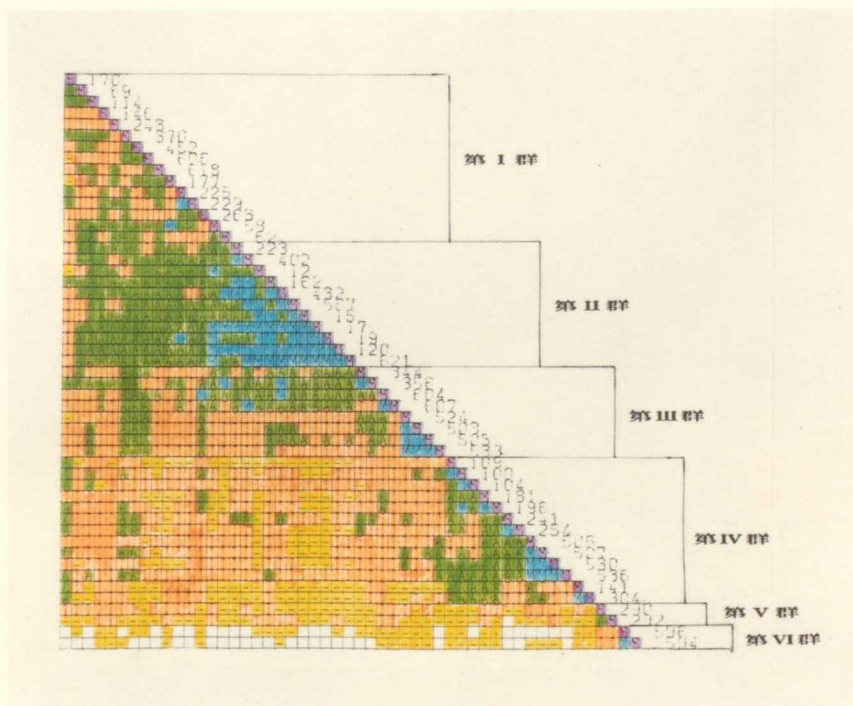


図12 Aeromonas spp.株の相似度マトリック



図 1 3 Aeromonas 属のファージ溶菌斑



図 1 4 ファージの電子顕微鏡で観察した形態

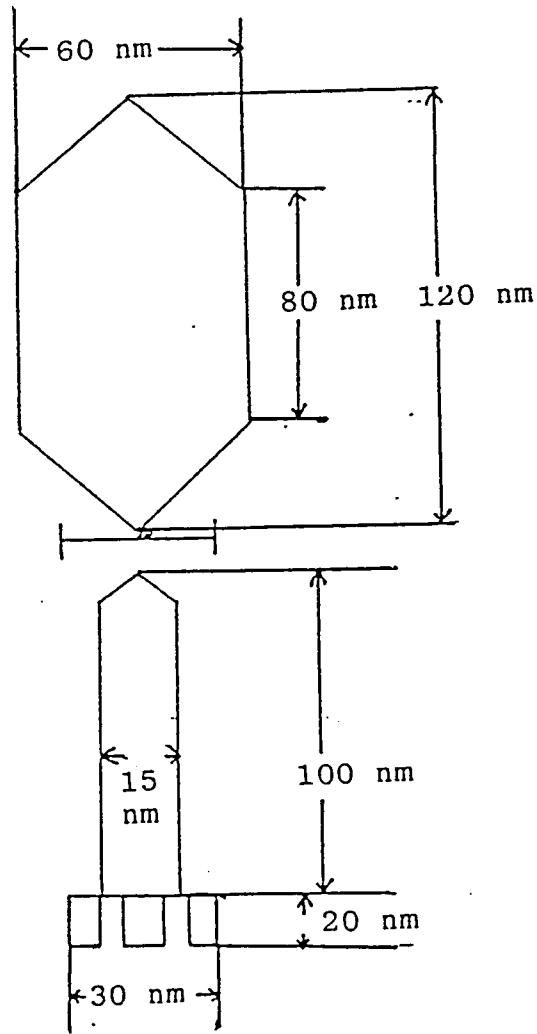


図 1 5 Aeromonas属ファージの模型図