

学位申請論文

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

〔要 旨〕

福 山 正 文

1987

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の自然界に広く分布している淡水性菌である。本菌属に含まれるA. hydrophila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。なかでも養殖魚に出血性敗血症、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。

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（腹膜炎、髄膜炎、肺炎、中耳炎、敗血症など）からしばしば分離され、自発性感染症（日和見感染症）の原因菌として知られている。

ところが、最近、本菌属に含まれるA. hydrophilaやA. sobriaが下痢症患者糞便から分離される症例が次第に多く認められ、ヒトの下痢症の起因菌となることが示唆され、わが国ではCampylobacter jejuni、Vibrio cholerae non-01、Vibrio fluvialisなどとともに食中毒起因菌として新たに認識されるようになり注目されている。しかし、ヒトの下痢症に關与する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。

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（1984）の方法に従って検討した。第二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。第三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。

1. Aeromonas属の分離状況

1982年10月から84年7月の2年間に河川水、湖水の132件、河川土壌の514件および淡水魚の511件で計1157件の検査試料について Genus のレベルで分離状況を検討したところ、河川水や湖水では132件中全例（100.0%）から、河川土壌では514件中304件（59.1%）から、淡水魚では511件中462件（90.4%）から本菌が分離され、自然環境下や淡水魚の腸管や鰓には常在菌として多数分布していることが明らかとなった。

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検討したところ、河川水や湖水では $1.0 \times 10^2 - 2.3 \times 10^4$ 個/l の菌量を示し、平均で 1.3×10^3 個/l の菌量を、河川土壌では $1.0 \times 10^1 - 1.4 \times 10^8$ 個/g の菌量を示し、平均で 1.6×10^6 個/g の菌量を、淡水魚では $1.0 \times 10^6 - 4.0 \times 10^7$ 個/g の菌量を示し、平均で 1.1×10^6 個/g の菌量を示していた。

3. Aeromonas属の分類および同定

1) Popoffらによる分類学的検討

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1056株の計1352株について生物学的性状による分類を行ったところ、河川水や湖水由来の120株中17株(14.2%)が A.hydrophilaに、33株(27.5%)が A.sobriaに、35株(29.2%)が A.caviaeに分類されたが、残り35株(29.2%)は Aeromonas spp.に分類された。河川土壌由来では176株中38株(21.6%)が A.hydrophilaに、23株(13.1%)が A.sobriaに、43株(24.4%)が A.caviaeに分類されたが、残り74株(42.0%)は Aeromonas spp.に分類された。淡水魚由来では1056株中182株(17.2%)が A.hydrophilaに、332株(31.4%)が A.sobriaに、206株(19.5%)が A.caviaeに分類されたが、残り336株(31.8%)は Aeromonas spp.に分類された。以上のごとく、河川水、湖水、河川土壌および淡水魚由来株は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、Aeromonas属についての分類が未解決な点も多数残されていることが確認され、本菌分類については再整理する必要があることが考えられた。

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がPopoffらの分類で Aeromonas sppに該当する菌株が多数認められた。そこで、Adansonらの方法に従って数値分類法を応用し、河川水由来72株、河川土壌由来82株および淡水魚由来441株の計595株を任意に選び73種類の各種生化学的性状試験成績を利用して検討した。

河川水、湖水及び河川土壌由来は75%の相似度を持って I 群から X 群に、淡水魚由来は70%の相似度を持って I 群から IX 群にそれぞれ群別された。

供試菌株595株中103株(17.3%)が A. hydrophila に、292株(49.1%)が A. sobria に、148株(24.8%)が A. caviae の各グループの中に該当していた。しかし、残り52株(8.7%)は上記3種のグループに該当しなかった。以上のごとく数値分類を行うことにより Popoffらの分類で Aeromonas spp. が42.2%と高率に認められたものが8.7%に減少したことから理解できる様に現在の分類基準では、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。

3) ファージの分離とファージ型別

河川水195件と土壌90件の計285件より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わが国で最初に成功し、A. hydrophila、A. sobria、A. caviae に対し A1-A26型を、Aeromonas spp. に対し AM1-AM22のファージ型別を確立した。

48種のファージ型を用い河川水由来71株、河川土壌由来82株および淡水魚由来441株の計594株についてファージ型別を行ったところ、河川水由来11株(15.5%)、河川土壌由来29株(35.4%)および淡水魚由来89株(20.2%)が型別された。

A. hydrophila、A. sobria、および A. caviae に対する26種のファージを用い543株についてファージ型別(A型)を行ったところ、4型が最も多く7株、続いて12型が6株、18型が3株、1型および22型が2株、8型および13型が各1株が型別されたが、残り68株は混合型に該当した。

Aeromonas spp. に対する22種のファージを用い51株についてファージ型別(AM型)を行ったところ、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株が型別されたが、残り25株は混合型に該当した。

4. 河川水、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

1) Popoffらによる分類学的検討

河川水や湖水48件、河川土壌200件および淡水魚414件の計662件からの分離菌株について検体別に生物学的性状による分類を行ったところ、河川水や湖水由来では48件中15件(31.3%)が A.hydrophila に、各21件(43.8%)が A.sobria と Aeromonas spp. に、22件(45.8%)が A.caviae にそれぞれ認められた。河川土壌由来では200件中33件(16.5%)が A.hydrophila に、21件(10.5%)が A.sobria に、39件(19.5%)が A.caviae に、60件(30.0%)が Aeromonas spp. にそれぞれ認められた。淡水魚由来では414件中149件(36.0%)が A.hydrophila に、204件(49.3%)が A.sobria に、159件(38.4%)が A.caviae に、210件(50.7%)が Aeromonas spp. にそれぞれ認められた。

2) 数値分類学的検討

河川水や湖水24件、河川土壌100件および淡水魚161件からの分離菌株について検体別に生物学的性状による分類を行ったところ、河川水、湖水由来では24件中3件(12.5%)が A.hydrophila に、各18件(75.0%)が A.sobria と A.caviae に、4件(16.7%)が Aeromonas spp. にそれぞれ認められた。河川土壌由来では100件中15件(15.0%)が A.hydrophila に、25件(25.0%)が A.sobria に、20件(20.0%)が A.caviae に、13件(13.0%)が Aeromonas spp. にそれぞれ認められた。淡水魚由来では161件中59件(36.6%)が A.hydrophila に、100件(62.1%)が A.sobria に、71件(44.4%)が A.caviae に、34件(21.1%)が Aeromonas spp. にそれぞれ認められた。

3) ファージ型別状況

48種類のファージ型を用い河川水や湖水24件、河川土壌100件および淡水魚161件の計285件からの分離菌株について検体別に型別を行ったところ、河川水、湖水由来に9件(37.5%)が、河川土壌由来に30件(30.0%)が、淡水魚由来に78件(48.4%)が型別された。

上述の研究成績から河川土壌、河川水、湖水及び淡水魚から本菌が高率に分離され自然環境下や淡水魚に高頻度に分布する菌種であることが明らかになった。また、本菌の分類においてPopoffらの分類では Aeromonas spp. が42.2%と高

率に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.の多くは A.sobriaや A.caviae に移行し、Aeromonas spp.は8.7%に減少が認められ Popoffら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分離することに成功し、本菌のファージ型別を確立し本菌の生態学的調査の解析に応用できることが示唆された。また、将来ヒト下痢症由来と自然界由来の溶菌パターンを比較することにより疫学調査にも応用できるものと思われる。