

# 地域開発助成

助成番号：108

## ヒトおよび家畜におけるシモンズ培地 陽性大腸菌の分布調査

石黒直隆

獣医学科獣医公衆衛生学研究室

### 1. 目的

大腸菌は、合成培地であるシモンズクエン酸培地のクエン酸を唯一の炭素源として利用しない。したがって、シモンズ培地に発育しない。この性状は、腸内細菌同定に広く利用され、特に公衆衛生面ではIMViC（Cはシモンズ培地発育能を検索する意味）試験として、糞便汚染指標菌としての大腸菌群同定の目的で、本培地の発育能が検査されている。しかし、私どもは、道内でウシ、ブタ、ハトから本培地に発育する大腸菌株を高率に分離した。そして、その性状が、他菌株（大腸菌、サルモネラ菌）に接合伝達するプラスミド依存性であり、薬剤耐性細胞質因子（Rプラスミド）と密接な関係を持っていることを確認してきた。本性状が、伝達可能なプラスミドによる事実は、本性状の他菌種への伝播を意味するものであり、IMViC試験も含め腸内細菌同定に大きな影響を与えるものである。したがって、この問題に対処する資料をうる意味で、広くヒトおよび家畜から大腸菌を分離し、シモンズ培地陽性大腸菌（Cit<sup>+</sup> *E. coli*）の分布現況を調べるとともに、プラスミド依存性を検索することを本研究目的とした。

### 2. 方法

- 1) ヒト、家畜（ウシ、ブタ、ウマ）、ハトおよびカラスなどの野生動物から広く糞便を収集し、大腸菌様株を分離した。また豚舎および牛舎汚水からも大腸菌様株の分離を試みた。
- 2) シモンズ培地発育能を除いて、IMViC試験を基本に分離大腸菌様株の主要性状を検索し、その後、Edwards and Ewing の方法に従い34の生化学性状検索を行い大腸菌と同定した。
- 3) Cit<sup>+</sup> *E. coli*と同定された株について、ML 1410 NA<sup>r</sup>へのCit性状の伝達性によりプラスミド依存性を確認した。また、必要に応じ、Acridine Orange処理によるCit性状脱落を検索した。同時に、Rプラスミドと本性状との関係についても究明した。

### 3. 結果

- 1) ヒト、家畜、鳥類由来糞便を検索材料に大腸菌株を分離し、シモンズ培地陽性性状を除いて、詳細な生化学性状検索の結果、*E. coli*と同定されるCit<sup>+</sup> *E. coli*の分離状況を表-1に示した。

表-1 ヒト、動物および畜舎環境からのシモンズ培地陽性大腸菌 (Cit<sup>+</sup>E. coli)の分離状況

由来宿主	試料採取地域	採取年度	試料	供試大腸菌様株数 (由来例数)	Cit <sup>+</sup> E. coli 数 (由来例数) %
ヒト	帯広市	1977	糞便	5,459 (486名)	24 (7名) 0.44%
ウシ	全道 (53牧場)	1975~77	糞便	2,170 (490頭)	12 (6頭) 0.55%
	十勝 (5牧場)	1977	牛舎汚水	234 (10例)	0
ブタ	帯広市 (5牧場)	1977	糞便(床上)	297 (20例)	0
	帯広市 (5牧場)	1977	豚舎汚水	527 (9例)	22 (6例) 4.16%
ウマ	十勝・釧路 (2牧場)	1976~77	糞便	3,816 (396頭)	6 (4頭) 0.15%
ハト	飼バト 札幌・帯広 (2鳩舎) ドバト 全道 (15群)	1975	糞便	120 (79羽)	13 (7羽) 10.83%
		1976~77	糞便	395 (168羽)	2 (1羽) 0.51%
カラス	幌延 (2群)	1977	糞便	44 (10羽)	2 (2羽) 4.55%
野鳥その他	十勝	1976~77	糞便	80 (6羽)	0

表-2 Cit<sup>+</sup>E. coliのCit性状伝達とRプラスミドとの関係

由来宿主	Cit <sup>+</sup> E. coli 株数	Rプラスミド保有	供試株数	Cit性状の大腸菌への伝達株数	Rとの同時伝達株数
ヒト	24	{ + - }	3 21	3 21	3
ウシ	12	{ + - }	1 (ts)*1 11	1 2	1
ブタ	22	{ + - }	19 (ts) 3	19 0	19
ウマ	6	{ + - }	1*2 5	0 0	0
ハト	15	{ + - }	13 (ts) 2	13 2	13
カラス	2	+	1 (ts) 1	1 1	1

\* 1 伝達が温度感受性を示すもの。

\* 2 内1株は Acridine Orange処理でCit性状脱落。

ヒト(0.44%), ウシ(0.55%), ウマ(0.15%), 飼バト(10.83%), ドバト(0.51%), カラス(4.55%)が Cit<sup>+</sup>E. coli と同定された。また豚舎汚水(4.16%)からも分離された。豚舎汚水, 飼バトおよびカラスから高率に同性状菌が検出された。飼バトでは, 1群のハトの大部分から検出されたためであるが, 豚舎汚水での高率検出は注目する必要がある。後述のごとく, Cit 性状と R プラスミドとは密接な関係を示しているが, 豚舎汚水大腸菌には, 多剤耐性菌が多いことと関連するものと考えられる。

2) Cit<sup>+</sup>E. coli と同定された菌株の Cit 性状伝達性と R プラスミドとの関係について表-2 に示した。ウマ由来全株とウシの多数の株で, Cit 性状が非伝達性であったのに比べ, ヒト, ハト, カラス由来ではすべて Cit 性状が, ML 1410 NA<sup>r</sup> に伝達した。また, ヒト, ウシおよびウマ由来株は, 多くの株が R プラスミド非保有なのに比べ, ブタ, ハト, カラス由来 Cit<sup>+</sup>E. coli の多くは, R プラスミドを保有していた。豚舎汚水由来の Cit<sup>+</sup>E. coli 株では, Cit 性状と R プラスミドとの同時伝達が高率にみられた。また, 豚舎汚水とハト由来 Cit<sup>+</sup>E. coli での Cit 伝達性状が, R プラスミドと同様すべて温度感受性を示したことは興味深い。ウシ, ハト由来株の Cit 性状は非常に不安定であったり, ウマ由来株での非伝達性の Cit 性状が, Acridine Orange 処理で脱落することから七ても, これら分離株の Cit 性状はプラスミド依存性であると考えられる。

#### 4. 考 察

従来ともヒト由来大腸菌には, 0.3~0.9%程度の株がシモンズ培地陽性を示していることが報告されている(Edwards and Ewing, 1972)。しかし, 家畜, 鳥類および環境要因からの本性状菌株の分離の報告はない。また, それらの性状が, R プラスミドと密接な関係をもったプラスミド依存性であることの報告も私どもが最初である(Sato *et al.* The 2nd Tokyo Symposium on Microbial Drug-resistance Oct. 26~28, 1977)。今回, ヒトも含め家畜および広くその環境からの本性状菌株の分離検索を行ったところ, 上記のような結果を得た。由来宿主によるかたよりは, 特にみられなかったが, ヒト由来株では, R プラスミドとは関係なく Cit 性状が単独で伝達することは, R プラスミドと密接な関係を持っているブタ, ハト由来株の成績とは, 対照的であった。また, 豚舎汚水由来大腸菌に高率に分布していたことは, 多剤耐性 R プラスミドの伝達と関連しているものと考えられ, 公衆衛生上重要な問題である。特に, 本性状がシモンズ培地に発育できないサルモネラ菌や赤痢菌に伝達可能であることから, 公衆衛生上はもちろん腸内細菌同定上ゆゆしき問題である。今後とも, 広く調査をすすめるとともに, Cit<sup>+</sup>E. coli の遺伝性状検索を行い, 本問題に対処する資料としたい。