

淡水魚,河川水及び泥土からのエルシニアの分離

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 武藤, 照美, 金城, 俊夫, 源, 宣之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5799

淡水魚, 河川水及び泥土からのエルシニアの分離

武藤照美・金城俊夫・源 宣之

獣医公衆衛生学研究室

(1986年7月31日受理)

Isolation of *Yersinia* Species from Freshwater Fishes, Stream Water and Mud Terumi MUTO, Toshio KINJO and Nobuyuki MINAMOTO

Laboratory of Veterinary Public Health

(Received July 31, 1986)

SUMMARY

An attempt was made to isolate *Yersinia* species from freshwater fishes including silver carps and catfishes in two streams of the suburbs and also from surface water and mud of the streams from where the fishes were captured.

Yersinia species were isolated from rectum contents of 56 out of 276 fishes, or 20.3 per cent, and a total of 106 strains were isolated. Out of 56 positive fishes, 52 were found to harbour *Yersinia intermedia*, 7 had *Y. enterocolitica* and 6 *Y. frederiksenii*. Some of them excreted 2 or more *Yersinia* species. *Y. kristensenii* and *Y. pseudotuberculosis* were not detected in the fishes.

Yersinia species were recovered from the stream water with high frequency, such as 71.4 per cent (24/28) and also from the stream mud in 53.6 per cent (15/28). A total of 119 strains were isolated. Of a total of 35 *Yersinia* positive samples, *Y. intermedia* were predominantly isolated from 32, and subsequently *Y. enterocolitica* from 8, *Y. frederiksenii* from 4 and *Y. kristensenii* from 2. *Y. pseudotuberculosis* was not found in any of the samples.

Yersinia species were isolated more frequently in winter-months than in summer months in both cases of the fishes and their environments.

Yersinia enterocolitica serotypes O:3 B:4, O:5, 27 B:2 and O:9 B:2 which are responsible for human yersiniosis in Japan, were not detected. However, the organisms O:8 B:1 and O:6, 30 B:1, which are suspected to associate with the disease in other countries, were isolated.

The isolates lacked the virulence-associated properties, such as autoagglutination, VW antigen production and pyrazinamidase activity.

The present study showed that freshwater fishes and their environments are contaminated with *Yersinia* species and can act as reservoirs of the organisms.

要 約

近郊を流れる2つの河川で捕獲したフナ, ナマズなどの淡水魚及び捕獲地点の河川水, 川底の泥土からエルシニアの分離を試み, 以下の成績を得た。

1) 淡水魚276尾の直腸内容物のうち, 56尾, 20.3%からエルシニアが分離され, 総計106株を得た。魚種別ではフナから26.3% (45/171) 分離され, ナマズの10.1% (9/89) に比し高率であった。

2) 陽性例56尾のうち, 52尾から *Y. intermedia*, 7尾から *Y. enterocolitica*, 6尾から *Y. frederiksenii* がそれぞれ分離され, 一部同一個体から2種の菌種が分離された。*Y. kristensenii* 及び *Y. pseudotuberculosis*

sis は全く検出されなかった。

3) 河川水からのエルシニアの分離率は71.4% (20/28), 泥土のそれは53.6% (15/28) で, 魚からの分離率より高率であった。河川水及び泥土から計119株を分離した。

4) 河川水及び泥土の陽性検体計35例のうち32検体から *Y. intermedia*, 8 検体から *Y. enterocolitica*, 4 検体から *Y. frederiksenii*, 2 検体から *Y. kristensenii* が分離された。*Y. pseudotuberculosis* は全く検出されなかった。

5) このように魚及びその生息環境におけるエルシニアの分布パターンはほぼ同様で, その主体は *Y. intermedia* であり, 次いで *Y. enterocolitica*, *Y. frederiksenii* が占めることがわかった。

6) 魚, 河川水及び泥土など水系からのエルシニアの分離率は夏季より冬季の方が有意に高かった。

7) 分離株の中には, わが国のヒトの症例から分離される血清型, 生物型のものはなかったが, 外国の散发症例から分離されている *Y. enterocolitica* O: 8 B: 1, O: 6, 30 B: 1 などがあつた。しかし VW 抗原産生性や自然凝集性あるいはピラジナミダーゼ活性試験などの成績から, これら株の病原性を確認することはできなかった。

8) 以上, 病原エルシニアの存在は立証できなかったが, 淡水魚やその生息環境には *Y. pseudotuberculosis* を除くエルシニアの各菌種が存在し, 水系がこれらのレゼルボアとなりうることが明らかになった。

結 言

エルシニアは腸内細菌科に属し, 低温増殖が可能な細菌である。エルシニア属菌の中で, ヒトに病原性のあるものとして *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* 及び *Y. pestis* が知られているが, *Y. pestis* はわが国での分離報告はない。その他その病原性が十分究明されてない菌種として, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* 及び *Y. kristensenii* などがある。

Y. enterocolitica が1982年に新たに食中毒菌に指定されて以来, 本菌を含めてエルシニアの疫学に関する研究が広く行われるようになった。その結果, 本菌がブタ, イヌ, ネコ, げっ歯類などに広く分布していることが明らかにされてきた¹⁻⁵⁾。

著者らもエルシニアの自然界における生態を明らかにすべく, 野生動物を中心にその分布の実態を調査してきた^{6,7)}。

今回は, その研究の一環として, 従来あまり検討されなかった本菌の水系における分布状況を把握すべく実験を計画した。

水系での本菌の分布に関して, 既に魚^{8,9)}, 両生類¹⁰⁾, 甲殻類¹¹⁾などの水生動物や, 河川水^{9,12-15)}, 井戸水¹⁵⁾などを対象とした調査が行われているが, 何れも調査規模が小さく, 分離株数も少ないため, まだ本菌の水系における分布の実態は明らかにされていない。特にわが国におけるそれはほとんど調査されておらず, 僅かに浅川ら⁹⁾及び福島ら¹²⁾の報告をみるに過ぎない。

そこで, 著者らはヒトの生活と密接に関わっていると思われる市街地近郊の川に生息する淡水魚及びその生息環境を対象に, 本菌の分離を試みた。

実験材料及び方法

淡水魚の直腸内容物: 1983年9月から翌年8月までの間に, 各務原市及び岐阜市近郊の2つの小さな河川の3地域(A, B及びC)で捕獲したフナ171尾, ナマズ89尾及びその他コイ, ウグイなど16尾合計276尾について, 開腹後その直腸内容物を採取し, 菌分離に供した。

河川水及び川底の泥土: 淡水魚を捕獲した3地域の河川水(表面水)及び川底の泥土を採取し, 菌分離に供した。なお, 採材は同一河川のA地域で3箇所(A-1, 2, 3), B地域で2箇所(B-1, 2)及び別の河川のC地域で2箇所(C-1, 2), 合計7箇所で行った。また, 1箇所につき, 河川水と泥土をそれぞれ2検体づつとり, 冬季と夏季の2回実験を行った。

エルシニアの分離法: 直腸内容物はその約1 gをpH7.6のリン酸緩衝液(PBS)10mlに加え10%乳剤を

作成した。河川水は約50mlを3,000rpm20分間遠心した後その沈渣をPBS50mlに浮遊した。また、川底の泥土はその約5gをトリプトソーヤブイヨン50mlに加え、十分攪拌した。これらを4℃で約3週間増菌培養を行った。増菌後の菌分離にはKOH処理法¹⁶⁾を応用した。すなわち、低温増菌培養後、培地をよく攪拌し、その約10mlをとり、3,000rpm20分間遠心した。その沈渣約0.5mlに等量の0.72% KOHを加えて30秒間強く攪拌し、直ちにその2, 3白金耳量をセフスロジン・イルガサン・ノボビオシン寒天培地(CIN培地)¹⁷⁾に塗抹し、25℃で48時間培養した。エルシニアと思われる集落についてはそのすべてをマツコンキー培地で純培養の後、釣菌保存した。

エルシニアの生化学的及び血清学的性状検査法：保存菌株について、常法に従って諸生化学的性状を検査し、各菌株に分類した^{18,19)}。また、*Y. enterocolitica*と判定された菌株については、Wautersの分類に従って生物型を決定した^{18,19)}。

血清型別については、ヒトに病原性があることで知られる*Y. enterocolitica*のO:1, 2, 3, 5, 8及び9と*Y. pseudotuberculosis*のI~VIは市販(デンカ生研)の抗血清を用いてスライド凝集反応により検査した。その他、北海道大学獣医学部橋本信夫教授より分与されたO:4, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 18及び30の抗血清による型別も行った。

エルシニアの病原性の検査法：病原性との関連が指摘されているVW抗原産生能についてはHiguchi & Smith²⁰⁾の方法で、自然凝集性についてはLaird & Cavanaugh²¹⁾の方法で、また、ピラジナミダーゼ活性についてはKaneko & Wauters²²⁾の方法によってそれぞれ検査した。

実 験 成 績

1. 淡水魚からの分離成績

276尾の直腸内容物について検査した結果、Table 1に示すように56尾(20.3%)からエルシニアが分離され、総計106株を得た。分離率を魚種別にみるとフナが26.3%(45/171)と最も高率で、80株を分離した。その他ナマズから10.1%(9/89)、24株、コイ、ウグイなどから12.5%(2/16)、2株それぞれ分離された。

菌種別に分離成績をみると、*Y. intermedia*が18.8%(52/276)と最も高率であり、分離株も88株と多かった。*Y. enterocolitica*は2.5%(7/276)から12株、また*Y. frederiksenii*は2.2%(6/276)から6株それぞれ分離された。しかし、*Y. kristensenii*及び*Y. pseudotuberculosis*は全く検出されなかった。なお、1個体より複数の菌種が同時に分離された例もあった。

2. 河川水及び川底の泥土からの分離成績

魚を捕獲した7箇所の河川水及び川底の泥土を、夏季と冬季に2回採取して菌分離を行い、その成績をTable 2に示した。

河川水では28検体中20検体(71.4%)から、また泥土では28検体中15検体(53.6%)からエルシニアが分離された。

Table 1. Isolation of *Yersinia* species from fresh-water fishes

Fish	No. of fishes		Per cent	No. of strains isolated	No. of positive samples for *2				
	tested	positive			<i>Y. ent.</i>	<i>Y. int.</i>	<i>Y. fred.</i>	<i>Y. kri.</i>	<i>Y. pst.</i>
Silver carp	171	45	26.3	80	6	43	4	0	0
Catfish	89	9	10.1	24	1	8	1	0	0
Others *1	16	2	12.5	2	0	1	1	0	0
Total	276	56	20.3	106	7(12) *3 2.5%	52(88) 18.8%	6(6) 2.2%	0	0

*1 Include carp and dace etc.

*2 *Y. ent.* : *Y. enterocolitica*; *Y. int.* : *Y. intermedia*; *Y. fred.* : *Y. frederiksenii*; *Y. kri.* : *Y. kristensenii*; *Y. pst.* : *Y. pseudotuberculosis*.

*3 Number in parenthesis indicates number of strains isolated.

Table 2. Isolation of *Yersinia* species from stream water and mud (1)

Sampling station	Isolation rate		No. of positive samples for									
	W ^{*1}	M ^{*1}	Y. ent.		Y. int.		Y. fred.		Y. kri.		Y. pst.	
			W	M	W	M	W	M	W	M	W	M
A-1	2/4 ^{*2}	2/4			2	1				1		
A-2	4/4	2/4	2		4	2	1	1				
A-3	3/4	2/4	1		3	2						
B-1	3/4	2/4	1	1	3	2						
B-2	4/4	2/4	1		3	2	1	1				
C-1	2/4	3/4	1		1	3			1			
C-2	2/4	2/4		1	2	2						
Total	20/28 71.4%	15/28 53.6%	6 (15) ^{*3}	2 (2)	18 (47)	14 (47)	2 (2)	2 (4)	1 (1)	1 (1)	0	0

*1 W : Stream water; M : Stream mud

*2 No. of positive/No. of samples tested

*3 Number of parenthesis indicates number of strains isolated.

Table 3. Isolation of *Yersinia* species from stream water and mud (2)

Species	No. of samples tested	Positive		No. of strains isolated
		No. of samples	Per cent	
<i>Y. enterocolitica</i>	56	8	14.3	17
<i>Y. intermedia</i>	56	32	57.1	94
<i>Y. frederiksenii</i>	56	4	7.1	6
<i>Y. kristensenii</i>	56	2	3.6	2
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	56	0	0	0
Total	56	35 *	62.5	119

* Two or more species were isolated from same sample.

分離率を菌種別にみると、Table 3 のように魚の場合と同様 *Y. intermedia* が57.1%と最も高率に、また何れの地域の河川水、泥土からも分離され、94株を得た。*Y. enterocolitica* は河川水6検体、泥土2検体の計8検体、14.3%から確認され、計17株を得た。*Y. frederiksenii* は河川水、泥土とも2検体、7.1%から計6株分離された。また魚では検出されなかった *Y. kristensenii* が河川水、泥土各1検体から1株ずつ分離された。*Y. pseudotuberculosis* は魚と同様全く検出されなかった。結局、エルシニアは河川水から65株、泥土から54株、計119株が分離された。

3. 季節による分離状況の比較

魚の捕獲が、1年をとおり各月に万遍なく行われてないため、厳密な比較はできないが、Table 4 に示すように、魚からのエルシニアの分離状況を春、夏、秋、冬の四季に分けてまとめた。冬季における分離率が60%で最も高率で、他の3季のそれと有意差 ($P < 0.01$) が認められた。次いで春の25.3%、秋の17.8%、夏の5.8%の順であった。

また、Table 5 には、河川水及び泥土からのエルシニアの分離状況を夏季と冬季に分けて示した。冬季には河川水の1検体を除きすべての検体 (96.4%) からエルシニアが分離されたのに対して、夏季には河川水で半数の7検体、泥土からは僅か1検体の計8検体 (28.6%) から検出されただけで、冬季の分離率が有意 ($P < 0.01$) に高かった。

Table 4. Seasonal incidence of *Yersinia*-positive fishes

	Spring (Apr., May)	Summer (July, Aug.)	Autum (Sept. -Nov.)	Winter (Dec.)
No. of samples tested	75	52	129	20
No. of positive	19	3	23	12
Positive rate (%)	25.3 ^{a*1}	5.8 ^b	17.8 ^{ab}	60.0 ^c
No. of positive for				
<i>Y. enterocolitica</i>	7	0	0	0
<i>Y. intermedia</i>	15	3	22	12
<i>Y. frederiksenii</i>	4	0	1	1

*1 Those with different superscript letters are significantly different at 1% level.

Table 5. Seasonal variations of *Yersinia*-positive stream water and mud

Season	Positive rate			No. of positive samples for			
	Water	Mud	Total (%)	<i>Y. ent.</i>	<i>Y. int.</i>	<i>Y. fred.</i>	<i>Y. kri.</i>
Summer	7/14	1/14	8/28 (28.6) *	3	6	0	1
Winter	13/14	14/14	27/28 (96.4) *	5	26	4	1
Total	20/28	15/28	35/56 (62.5)	8(14.3)	32(57.1)	4(7.1)	2(3.6)

Number in parenthesis indicates positive percentage.

* Significantly different at 1% level

Table 6. Serotype and biotype (Wauters) of 29 isolated strains of *Y. enterocolitica*

Origin of strain	Serotype*	Biotype	No. of strains
Fish	0 : 4	3	1
	0 : 6, 30	1	1
	UD	1	10
Water	0 : 5 A	1	1
	0 : 6, 30	1	2
	0 : 9	1	4
	UD	1	8
Mud	0 : 8	1	1
	UD	1	1

* UD : undetermined

Table 7. Serotype of the isolated strains of *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* and *Y. kristensenii*

Species	Serotype	No. of isolated strains	
		Fish	Water & mud
<i>Y. intermedia</i>	0 : 4	17	10
	0 : 6, 30	—	1
	0 : 17	19	7
	UD	52	78
<i>Y. frederiksenii</i>	0 : 3	1	—
	0 : 17	1	—
	UD	4	6
<i>Y. kristensenii</i>	UD	—	2

4. 分離株の血清型及び生物型

淡水魚、河川水及び泥土から分離された29株の *Y. enterocolitica* について、血清型と Wauters の生物型を調べ Table 6 に示した。魚からは O : 4 及び O : 6, 30 が、河川水から O : 5A, O : 6, 30 及び O : 9 が、そして泥土からは O : 8 がそれぞれ確認された。しかし型未定の株 (UD) が19株と大半を占めた。

次に、*Y. enterocolitica* 以外の菌種の血清型を Table 7 に示した。*Y. intermedia* では O : 4, O : 6, 30 及び O : 17 が型別された。このうち O : 4 と O : 17 は魚、河川水及び泥土の何れからでも数多く分離された。*Y. frederiksenii* では魚由来株において O : 3 及び O : 17 がそれぞれ1株ずつ型別された。*Y. kristensenii* の2株は何れも型未定であった。前2菌種においても *Y. enterocolitica* と同様、型未定株が多数を占めた。

5. 分離株の病原性状

魚由来株から40株、河川水及び泥土由来から40株を選び、VW 抗原及び自然凝集性について検索を行ったが、何れの株も陰性で、病原性を示唆する成績は得られなかった。

また、ピラジナミダーゼ活性については、すべての分離株について検討した結果、*Y. intermedia* で魚由来2株、泥土由来1株の計3株が病原性の疑われるピラジナミダーゼ活性陰性の成績を示した。

考 察

エルシニアは人畜共通伝染病あるいは食中毒の原因菌として注目されている細菌である。本菌は健康な動物の腸管内に存在するほか、食品、水、土壌などにも広く分布している^{1~4,9,12~14,19}。しかし本菌の自然界における生態はまだ十分解明されておらず、特に水系における分布については調査が緒についたばかりである。

そこで今回、淡水魚とその生息環境におけるエルシニアの分布の実態を明らかにすべく実験を行った。

その結果、フナ、ナマズなど淡水魚のエルシニアの保菌率が20.3% (56/276) と比較的高率であることがわかった。さらに河川水では71.4% (20/28) 及び泥土では53.6% (15/28) から分離され、水系がエルシニアによって高率に汚染されていることが明らかにされた。また菌種別分離状況をみると、*Y. intermedia* が最も高率で、魚から18.8%、その環境から57.1%分離されている。次いで、*Y. enterocolitica* がそれぞれ2.5%及び14.3%から分離された。*Y. frederiksenii* 及び *Y. kristensenii* は低率で、また *Y. pseudotuberculosis* は全く検出されなかった。

このようにエルシニア汚染の主体は *Y. intermedia* であるが、特に冬季における水系での本菌種の分布は常在菌の様相を呈した。福島¹²⁾も松江市の4つの河川の水についてエルシニアの検索を行い、81.3% (39/48) と高率に分離しているが、著者らの成績と同様 *Y. intermedia* が75% (36/48) と大多数を占めている。浅川⁹⁾も水系から43.7% (52/119) 分離しているが、やはり *Y. intermedia* が優位を占めた。エルシニアの中で特に *Y. intermedia* が水系環境に定着しやすい性状を有しているように思われる。

なお、魚とその生息環境における菌種間の分布状況が酷似していることから、両者間に本菌の移行がおこっていることが容易に考えられる。

今回エルシニアの保菌率がフナとナマズで異なることが示されたが、両魚種がほぼ同一水域に生息していることから、本菌の腸管定着性に魚種間に差があるのかも知れない。

次に、本菌の検出率に季節的な変動がないかを調べてみた。すなわち、魚については四季に分け、また河川水及び泥土については夏季と冬季に分けて、分離率を比較した。その結果、何れの場合も冬季に検出率が有意に高まる成績が得られた。本菌が低温細菌であることから、本菌感染症はむしろ寒冷期に多発することが考えられ、事実 Tsubokura³⁾もブタにおける調査で冬季に高率に分離できたことを報告し、また氏の総説⁵⁾に外国のヒトの症例も同様の傾向にあると述べている。また Meadows & Snudden¹⁴⁾は河川水からのエルシニアの分離率が冬季に明らかに高まることを報告している。これらのことより少なくとも水系におけるエルシニアの検出率には季節的変動があり、冬季に高くなると思われる。このことは、水系での本菌の生態を知る上に非常に興味ある所見である。

次に、魚やその環境から分離された *Y. enterocolitica* の菌株について血清型及び生物型を調べたところ、その多くが血清型別不能であったが、型別できたもののうち泥土由来の1株がわが国ではまだ分離例のないO: 8 B: 1であった。この型は従来北アメリカにおいてのみ検出され、ヒトに敗血症を起こす原因菌とされており²³⁾、この菌型に汚染された川の水を飲んだヒトが感染したという報告もある²⁴⁾。また、魚と河川水から分離されたO: 6, 30 B: 1はカナダにおいて胃腸炎の患者から分離され¹¹⁾、病原性が疑われている型である。河川水から分離されたO: 5A B: 1も同様に病原性が示唆されている²⁵⁾。

今回最も高率に分離された *Y. intermedia* では血清型別可能な株の中で、O: 4 とO: 17が数多く確認されているが、このうちO: 17は Bottone²⁶⁾によりヒトの症例から分離されており、臨床的に重要な血清型である。なおこのO: 17は福島¹²⁾も河川水から分離している。その他、血清型不明であるが *Y. frederiksenii* 及び *Y. kristensenii* による感染症の散発例も報告されている¹⁹⁾。

このように魚とその環境から病原性の疑われる菌型が分離されることから、これらがヒトに対する病原性エルシニアのレゼルボアとなりうる可能性が強く示唆された。

ところで、エルシニアの病原性に関しては、エンテロトキシン産生性、マウス腸管定着性、培養細胞侵入性、VW 抗原産生性及び自然凝集性などで確かめられ、これら諸性状が特定の血清型、生物型の組合わせの株と密接に関連することが実証されている^{27,28)}。その中で VW 抗原産生性及び自然凝集性は、その証明が比較的簡単であることから、病原性との関わりで広く研究されている²⁹⁻³³⁾。そこで、今回分離され病原性が疑われている O : 8 B : 1 を含む一部の代表株についてこれら 2 つの病原性状の検索を行った。しかし何れの株にもこれら性状を確認することはできなかった。また最近、ピラジナミダーゼ活性がエルシニアの病原性を明らかにする上に重要な要素となることが報告されている²²⁾。すなわち病原性のある血清型、生物型の組合わせの株はピラジナミダーゼ活性を欠き、たとえ病原性を支配するプラスミドが脱落してもこの性状は残るため、潜在的病原株を検出するのに有用であるといわれる。そこで今回分離されたエルシニアの全株について調べてみた。その結果、魚から分離された *Y. intermedia* の 2 株と泥土から分離された同じく 1 株の計 3 株がピラジナミダーゼ活性陰性であった。しかしこれら 3 株は上述の VW 抗原産生性、自然凝集性の何れも陰性で、成績が一致しなかった。これら 3 株が病原性プラスミドの脱落によって、このような矛盾がでたのか現段階では不明であるが、その他の病原性の指標となる性状の検査も行い明らかにしていきたい。なお、前述の病原性の疑われている菌型の株もすべてピラジナミダーゼ試験による病原性の確認はできなかった。従って今回、魚およびその環境から分離されたエルシニアの中に、各種の病原性の指標となる試験で、ヒトへの病原性を確認できた株はなかった。

しかし、エルシニアの全菌種が低温細菌として、ほぼ同一条件下で増殖可能である点から、水系がヒトに病原性のある株で一度汚染された場合、そのレゼルボアとして重要な役割を果しうる可能性のあることが、本実験で示唆された。従って、病原性エルシニアの水系への汚染の防止に努めると共に、その検索を定期的に行う必要が痛感された。今後さらにこの面の検討を続けたい。

以上、今回の研究でエルシニアの水系における分布の一端を明らかにすることができた。

文 献

- 1) Kaneko, K., Hamada, S., Kasai, Y. & Hashimoto, N.: Smouldering epidemic of *Yersinia pseudotuberculosis* in barn rats. Appl. Environ. Microbiol. **37**: 1-3, 1979.
- 2) Tsubokura, M., Fukuda, T., Otsuki, K., Kubota, M. & Itagaki, K.: Isolation of *Yersinia enterocolitica* from some animals and meats. Jpn. J. Vet. Sci. **37**: 213-215, 1975.
- 3) Tsubokura, M., Fukuda, T., Otsuki, K., Kubota, M., Itagaki, K., Yamaoka, K. & Wakatsuki, M.: Studies on *Yersinia enterocolitica* II. Relationship between detection from swine and seasonal incidence and regional distribution of organism. Jpn. J. Vet. Sci. **38**: 1-6, 1976.
- 4) Yanagawa, Y., Maruyama, T. & Sakai, S.: Isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from apparently healthy dogs and cats. Microbiol. Immunol. **22**: 643-646, 1978.
- 5) 坪倉 操: *Yersinia enterocolitica* の動物における分布. モダンメディア **24**: 290-302, 1978.
- 6) 木原正子・金城俊夫・源 宣之・松林伸子・松林清明: サル糞便からのエルシニア属菌の分離. 岐大農研報(50): 311-320, 1985.
- 7) 杉山芳宏・金城俊夫・源 宣之: ニホンカモシカ糞便からのエルシニア及びサルモネラの分離と薬剤感受性. 岐大農研報(48): 129-135, 1983.
- 8) Kapperud, G. & Jonsson, B.: *Yersinia enterocolitica* in brown trout (*Salmo trutta* L.) from Norway. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. **84**: 66-68, 1976.
- 9) 浅川 豊・赤羽荘資・塩沢寛治: 環境材料, 食肉からの *Y. enterocolitica*, *Y. enterocolitica*-like strains (*Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*) の検出. 静岡衛研報 **23**: 25-29, 1978.
- 10) Botzler, R. G., Wetzler, T. F. & Cawan A. B.: *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia*-like organisms isolated from frogs and snails. Bull. Wildl. Dis. Ass. **4**: 110-115, 1968.
- 11) Toma, S.: Survey on the incidence of *Yersinia enterocolitica* in the Providence of Ontario. Can. J. Publ. Health **64**: 477-487, 1973.

- 12) 福島 博・斉藤考一・坪倉 操：河川水からの *Yersinia* spp. の分離. 第97回日獣学会講演 1984.
- 13) Harvey, S., Greenwood, J. R., Pickett, M. J. & Man, R. A. : Recovery of *Yersinia enterocolitica* from stream and lakes of California. *Appl. Environ. Microbiol.* **23** : 352-354, 1976.
- 14) Meadows, C. A. & Snudden, B. H. : Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in waters of the lower Chippewa river basin, Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* **43** : 953-954, 1982.
- 15) Saari, T. N. & Jansen, G. P. : Waterborne *Yersinia enterocolitica* in the Midwest United States. *Contr. Microbiol. Immunol.* **5** : 185-196, 1979.
- 16) Aurisio, C. C. G., Mehlman, I. J. & Sanders, A. C. : Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. *Appl. Microbiol.* **39** : 135-140, 1980.
- 17) Schiemann, D. A. : Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. *Canad. J. Microbiol.* **25** : 1298-1304, 1979.
- 18) Brenner, D. J. : Classification of *Yersinia enterocolitica*, in "*Yersinia enterocolitica*" Bottone, E. J. ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1-8, 1981.
- 19) 坂崎利一編：「食中毒II」東京：中央法規 1983.
- 20) Higuchi, K. & Smith, J. L. : Studies on the nutrition and physiology of *Pasteurella pestis*. VI A differential plating medium for the estimation of the mutation rate to avirulence. *J. Bacteriol.* **81** : 605-608, 1961.
- 21) Laird, W. J. & Cavanaugh, D. C. : Correlation of autoagglutination and virulence of *Yersiniae*. *J. Clin. Microbiol.* **11** : 430-432, 1980.
- 22) Kaneko, K. & Wauters, G. : Pyrazinamidase activity in *Yersinia enterocolitica* and related organisms. *J. Clin. Microbiol.* **21** : 980-982, 1985.
- 23) 丸山 務：人畜共通伝染病としてのエルシニア症. 日獣会誌. **35** : 2-8, 1982.
- 24) Keet, E. E. : *Yersinia enterocolitica* septicemia. *N. Y. St. J. Med.* **74** : 2226-2230, 1974.
- 25) Ratnam, S. & Butler, R. : A nosocomial outbreak of diarrheal disease due to *Yersinia enterocolitica* serotype O : 5 biotype 1. *J. Infect. Dis.* **145** : 242-247, 1982.
- 26) Bottone, E. J., Chester, B., Malowany, M. S. & Allerhand, J. : Unusual *Yersinia enterocolitica* isolates not associated with mesenteric lymphadenitis. *Appl. Microbiol.* **27** : 858-861, 1974.
- 27) Gemski, P., Lazere, J. R. & Caey, T. : Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* **27** : 682-685, 1980.
- 28) Mors, V. & Pai, C. H. : Pathogenic properties of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* **28** : 292-294, 1980.
- 29) Berche, P. A. & Carter, P. B. : Calcium requirement and virulence of *Yersinia enterocolitica*. *J. Med. Microbiol.* **15** : 277-284, 1982.
- 30) Carter, P. B. : 'Human *Yersinia enterocolitica* infection: Laboratory models', in "*Yersinia enterocolitica*" Bottone, E. J. ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 73-82, 1981.
- 31) Carter, P. B., Zahorchak, R. J. & Brubaker, R. R. : Plaque virulence antigen from *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* **28** : 638-640, 1980.
- 32) Schiemann, D. A., Devenish, J. A. & Toma, S. : Characteristics of virulence in human isolates of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* **32** : 400-403, 1981.
- 33) Skurnik, M., Bölin, I., Heikkinen, H., Piha, S. & Wolf-Watz, H. : Virulence plasmid-associated autoagglutination in *Yersinia* spp. *J. Bacteriol.* **158** : 1033-1036, 1984.