

富山県の一河川における Salmonella 汚染源の追及とその浄化について

富山県衛生研究所 山崎 茂一
井山 洋子
渡辺 正男

緒言

近年全国的に激減の傾向にある赤痢¹⁾に対し、チフスを始めとして Salmonella (以下 Sal.²⁾ と記す) 感染症、食中毒は増加の傾向にあり、最近では輸入動植物の増加にともない、その菌型も多様化している³⁾⁴⁾。河川は人、動物あるいは広く自然界からの汚廃物の集積場所として、Sal. 汚染の絶好の指標と考えられ、本菌の生態、環境汚染に関する多くの調査、研究に利用されている⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾。著者らは食中毒予防対策の一つとして、富山県内各河川の末端部で水および底泥から多くの Sal. を分離し、疾病との関連を追及して来たが、昭和47年12月、県東部の主要14河川について行なった Sal. 分布調査の結果、滑川市内を流れる中川のみから S. typhimurium (以下 S. ty-m) を濃厚に分離することが出来た。そこで、同河川の Sal. 汚染源の追跡調査を行ない、中川支流の四ッ屋用水上流約10km地点にある多頭飼育のU豚

舎排水に原因があることを確認し、同豚舎の汚染の実態を把握すると共に、その清浄化について対策を講じ、環境浄化に著しい効果をあげることが出来た。Sal. 汚染は広範囲に及び、その対策には全国各自治体が苦慮しているところであるが、環境調査、汚染の確認、汚染源の把握といった一連の糸がたぐられ、その対策に成功した一つのモデルケースとして、ここにその概要を報告し今後の参考に供したい。

調査材料および方法

1. 河川の調査

河川の調査は Fig. 1 に示した中川の St. 1~18 を昭和47年1月20日 (St. 1~10) と2月1日 (St. 10~18) の2回にわけ実施した。各地点から水 200ml と底泥 50g を採取し検体とした。

2. 豚舎の調査

豚舎は昭和47年3月1日家畜保健所および

Fig. 1 Detection of Salmonella from Naka River

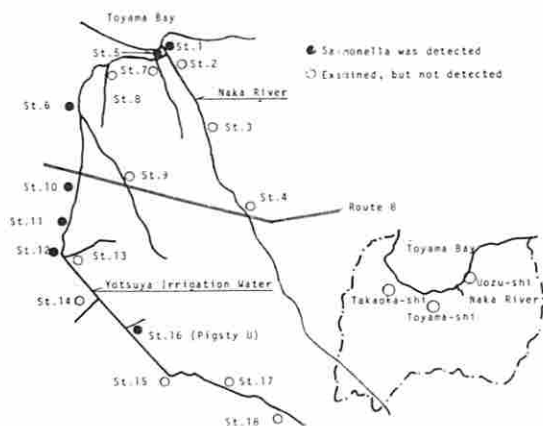
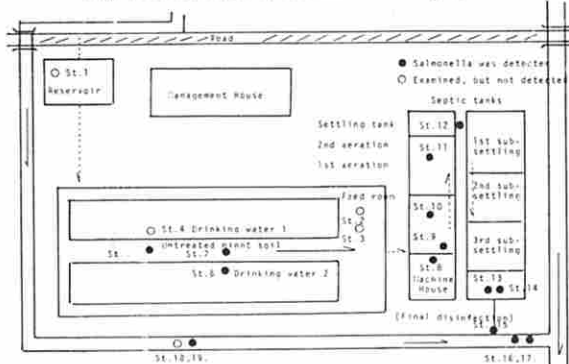


Fig. 2 Distribution of Salmonella at Pigsty U



畜産試験場の協力を得て、Fig. 2に示す如くU豚舎施設全般の調査が行なえるよう設定し実施した。St.1は豚舎および浄化槽に用いる貯水槽で、St. 2、3は飼料、St. 4、6は飲用水槽であるが、St. 5、7以下St.15まではし尿とその浄化施設である。検査材料は各地点から河川に準じた量を採取した。また消毒槽を設置し放流水の消毒が行なわれているにも拘らず、排水口でSal.が認められたことから、殺菌剤の効果が疑われたので、U豚舎のし尿浄化槽用殺菌剤H錠1箱の分与を受け、実験室内で殺菌効果試験を行なった。

3. 細菌学的検査

I 河川水

河川水の増菌培養には検水 100mlにSBGスルファ培地(以下SBG)粉末 2.4gを直接投入溶解しそのまま43℃の水浴で培養を行なう方法と、Hajnaのテトラチオン酸塩培地(以下Hajna)の2倍濃度50mlに検水50mlを接種する方法を併用し、43℃、24時間および48時間後の2回分離培養を行なった。分離培地は第1回調査ではDHL寒天培地を用いたが、第2回調査はMLCB寒天培地を併用し、37℃、1夜培養後Sal.を疑う集落をTSI寒天培地およびLIM半流動培地に釣菌しSal.の分離を行なった。

II 河底泥

底泥は前記増菌培地の各 100mlに底泥の性状により5~10gを投入し、前記の方法を用いてSal.の分離を行なった。

III 豚舎

U豚舎の検査方法は河川に準じて実施したが、分離培養には第2回河川の調査結果からMLCBのみを用いた。またSt. 7、9、10およびSt.14ではSBG→MLCB寒天培地を用い、MPN法によるSal.の定量を行なった。

IV 分離菌の生物学および血清学的性状

Edwards等の方法⁹⁾によって行なったが、抗血清は東芝製O、H血清を用いた。

V 分離菌の薬剤感受性試験

被検菌は調査毎に各地点1菌型1株とし、薬剤は栄研のトリデスクを用いた。

4. 殺菌剤H錠の殺菌効果試験

供試菌としてU豚舎由来のS.ty-mおよびS.derbyの2株を用い、前後の培養にはBHIブイヨン(Difco)を使用した。被検溶液は重量パーセントで1%原液を作り、この原液から任意の希釈液を作った。原液および希釈液は汚水中の有機物や塩類の影響をみるために、貧腐水性の庄川(砺波市太田橋)と強腐水性の内川(新湊市)、千保川(高岡市)の水を用い、対照の純水とともに、いずれも使用前に高圧滅菌した。作用温度は $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で作用時間は0.5、1、5、10および30分とした。その他実験の詳細は消毒薬の検定法に従った。

結 果

1. 河川の調査: Fig. 1に調査地点を白丸で、Sal.が検出された地点を黒丸で示した。第1回調査では、中川本流よりもその河口付近で合流する四ッ屋用水にその汚染源があることが判明したので、続いてその上流の調査を行なったところ、St.16のU豚舎排水口付近で採取した水、底泥からS.ty-mを検出し、その上流では全くSal.は検出されなかった。このことから汚染源はU豚舎であろうと判定した。しかしこの調査ではSt.11およびSt.12で検出されたS.derbyについての汚染源は不明であった。Sal.検出状況はTable 1、2に示したとおり、第1回調査ではS.ty-mが、第2回調査ではHajnaを用いた系にのみS.ty-mのほかSt.11、12でS.derbyが検出された。検体別ではSt.1~9までの河口から約5km以内では四ッ屋用水系の底泥のみから、同水系のSt.10~16までは水、底泥共にSal.が分離された。

2. 豚舎の調査: Fig. 2およびTable3に示したとおりで、施設内に設置された貯水池(河水)および幼豚、成豚用の各飼料からはSal.は検出されなかったが、豚房以下ではS.ty-m、S.derbyの両方又はどちらかが検出され、その菌数はSt.7のし尿で $9.2 \times 10^4/100\text{ml}$ と高く、

Table 1 First Survey (Jan. 20, 1972)

Sample	River water		River soil	
	SBG	Hajna	SBG	Hajna
Enrichment culture				
Isolation plate	D H L			
Station**				
St. 1	-	-	**	-
St. 2	-	-	-	-
St. 3	-	-	-	-
St. 4	-	-	-	-
St. 5	-	-	-	+
St. 6	-	-	-	+
St. 7	-	-	-	-
St. 8	-	-	-	-
St. 9	-	-	-	-
St. 10	+	+	+	+

*All Salmonella isolates were *S. typhimurium*

**See Fig. 1

Table 2 Second Survey (Feb. 1, 1972)

Sample	River water				River soil			
	SBG		Hajna		SBG		Hajna	
Enrichment culture								
Isolation plate	DHL	MLCB	DHL	MLCB	DHL	MLCB	DHL	MLCB
Serotype	T*	D**	T	D	T	D	T	D
Station								
St. 10	+	-	+	-	+	-	+	-
St. 11	+	-	+	-	+	-	+	-
St. 12	+	-	+	-	+	-	+	-
St. 13	-	-	-	-	-	-	-	-
St. 14	-	-	-	-	-	-	-	-
St. 15	-	-	-	-	-	-	-	-
St. 16	+	-	+	-	+	-	+	-
St. 17	-	-	-	-	-	-	-	-
St. 18	-	-	-	-	-	-	-	-
Total of positive station	4	0	4	0	3	1	3	1

* T: *S. typhimurium*** D: *S. derby*

さらに消毒槽内の水でも $1.7 \times 10^3/100\text{ml}$ でこれがそのまま排出されていた。しかしこの菌数について *S. ty-m* と *S. derby* の比率は不明であった。このことから豚の顕性又は不顕性感染による連続汚染が推定された。また豚舎排水口上流の St. 19 の泥から Sal. が検出されたが、これは時に施設内からの汚物投棄がなされたためであることが聞き取り調査の結果判明した。また Sal. の分離状況は Table 3 のとおりで、前培養に SBG を用いた場合の Sal. 検出は *S. ty-m* が 11/19 (57.9%)、*S. derby* は 6/19 (31.6%) で *S. derby* の検出率は約 1/3 であったが、Hajna を用いた場合 *S. ty-m* は 5/19 (26.3%)、*S. derby* は 12/19 (63.2%) となり、SBG と逆の現象が認められ、培地により菌の選択性に差が見られた。

3. 分離菌の薬剤感受性: Table 4 に示したとおり、*S. ty-m* および *S. derby* はマクロライ

Table 3 Serotype of Salmonella Isolates at Pigsty U

	SBG		Hajna		MPN/100ml
	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. derby</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. derby</i>	
1. Reservoir	-	-	-	-	
2. Feed S	-	-	-	-	
3. Feed S	-	-	-	-	
4. Drinking water 1	-	-	-	-	
5. Untreated night soil 1	+	+	+	+	
6. Drinking water 2	-	-	-	-	
7. Untreated night soil 2	-	-	-	-	
8. Precipitation of untreated night-soil	+	+	+	+	3.2×10^4
9. Supernatant of untreated night-soil	+	+	+	+	5.4×10^4
10. Contents in the 1st aeration tank	+	+	+	+	4.9×10^2
11. 2nd aeration tank	-	-	-	-	
12. Outlet from settling tank	-	-	-	-	
13. Waste-water in disinfection tank	-	-	-	-	1.7×10^3
14. Soil in disinfection tank	+	+	+	+	
15. Final outlet after disinfection	+	+	+	+	
16. Irrigation water (downstream)	-	-	-	-	
17. Irrigation soil	+	+	+	+	
18. Irrigation water (upstream)	-	-	-	-	
19. Irrigation soil	-	-	-	-	

Table 4 Antibiotic Sensitivity of Salmonella Isolates

Salmonella Serotype	Origin	Number of Strain	Antibiotic							
			EM*	OM	LM	CM	TC	SM	KL	
<i>S. typhimurium</i>	from river (1st survey)	1	-	-	-	3+	-	-	3+	3+
	from river (1st survey)	4	-	-	-	3+	-	-	3+	3+
	from river (2nd survey)	4	-	-	-	3+	-	-	3+	3+
<i>S. derby</i>	from pinsty	11	-	-	-	3+	-	-	3+	3+
	from river (2nd survey)	2	-	-	-	3+	-	-	3+	3+
	from pinsty	12	-	-	-	3+	-	-	3+	3+

* Eiken Tridisk

ド系の EM、OM、LM と、TC、SM には全て耐性を示し、CM、KM、CL では感受性であった。

4. 豚舎の衛生管理: 以上の調査結果より、家畜保健所ではクレゾール系消毒薬を用いて豚舎内の熱消毒を行なうと共に約 700 頭の豚に対し、日量 200mg/kg のクロラムフェニコールを 3 日間連続投与して、施設および豚からの Sal. 除菌を試みた。また豚舎のし尿浄化設備は畜産試験場でモデル施設に指定していた関係から、消毒槽の改善と殺菌剤を液体塩素の点滴に切りかえた結果、以後約 3 ヶ月間の追跡調査により、同施設からの Sal. 汚染は完全に排除されたことが確認された。

5. H 錠の殺菌効果: Table 5 に示したとおり、貧腐水性の庄川上流水では純水と同じく添加濃度 1,000ppm、作用時間 1 分で殺菌効果が現われたが、強腐水性の内川の水では *S. ty-m* は 5 分、*S. derby* は 0.5 分、千保川の水では *S. ty-m* は 0.5 分、*S. derby* は 1 分で発

育が阻止された。このように汚濁した水の場合、ばらつきが多く、効力を強める場合と減弱させる場合がみられ、その要因については今後さらに検討しなければならぬが、実際に使用する場合は、安全度を考慮して添加濃度 1,000ppm、作用時間 5 分以上が必要であると考えられる。

Table 5 Experiments on the Disinfecting Effects of Tablet H Used for the Septic Tank at pigsty U

Diluent*	Concentration (ppm)	Test organism									
		<i>S. typhimurium</i>					<i>S. derby</i>				
		Time of contact (min.)									
		0.5	1.0	5.0	10.0	30.0	0.5	1.0	5.0	10.0	30.0
Distilled water	1000	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
River water (Sho r.)	1000	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
River water (Uchi r.)	1000	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
River water (Sendo r.)	1000	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*Autoclaved before use

考 察

著者らは *S. arizona* 汚染卵による食中毒事例¹¹に遭遇以来、自然環境における *Sal.* 汚染の実態を把握するため、各種検体からの *Sal.* 検索を行ない多くの *Sal.* を分離したが、汚染源の追及やその対策までは実施出来なかった。就中、河川における *Sal.* 汚染源の追及は、随所に大小各様の流入支川があり、それら総てについて *Sal.* のチェックが必要であることから、恒常的かつ濃厚な汚染源がない場合には非常に困難である。幸い本調査では、汚染源が唯一カ所であったことと、汚染源までの距離が約 10km と比較的短かったことが、汚染源追及を可能ならしめたものと考えられる。中川および U 豚舎において分離された *S. ty-m* および *S. derby* の薬剤感受性パターンが、由来および調査期日を異にする分離菌株総てについて同一であったことも、U 豚舎が中川の *Sal.* 汚染の源であり、かつその汚染が濃厚でしかも長期に互っていたことを裏付けるものである。本事例とは別に、魚津市内を流れる角川河口でも *S. ty-m* を検出し、追跡調査を

行なったが、わずかに上流では更に *S. enteritidis* および *S. heidelberg* が検出された。角川は一部で市街地に入り、暗渠となり追跡は困難であったが、上流 10km 地点にある豚舎排水口で、*S. derby*, *S. sachsenwald* および *S. arizona* が、またその下流 0.5km 地点では *S. derby* が検出された。豚舎排水からの分離菌型と、下流で分離された *Sal.* の菌型が *S. derby* を除いては異なっていたこと、この豚舎が小規模であって、近く養豚団地への移転を予定しており、豚舎内への立入り調査が不可能であったために、この豚舎が主汚染源であることは裏付けられなかったが、少なくとも複数の汚染源のうちの一つであろうと推定された。このように豚舎排水からはしばしば *S. derby* が分離されるが、豚と *S. derby* との関係は古くから知られており、本菌型による食中毒の初発例においても、原因食は豚肉入りパイであったといわれている¹³。中川の *Sal.* 汚染源であることが確認された U 豚舎では、施設全般に互り *Sal.* 汚染が認められ、しかもその汚染はし尿中の *Sal.* 菌数が $9.2 \times 10^4/100\text{ml}$ 、それが浄化排出される消毒槽内でもなお $1.7 \times 10^3/100\text{ml}$ と極めて濃厚であった。豚に対しては、病原性の強い *S. typhisuis* との関係は別として、他の多くの菌型の *Sal.* は飼料等に混入したものが一時的に腸管を通過するのみと考えられている⁴⁾。しかしながら U 豚舎では過去に月 2~3 頭の斃死例があったこと、また一般に健康なと殺豚の腸間膜リンパ節や他の臓器から種々の菌型の *Sal.* が検出されること¹⁰などから、当然 *S. ty-m* や *S. derby* により顕性又は不顕性感染を受けた豚が順次、U 豚舎内で汚染源となったものと推定される。家畜保健所、畜産試験場および業者の協力により、幸いにして同豚舎の *Sal.* を撲滅することは出来たが、これは氷山の一角に過ぎず、他の多くの豚舎では何ら対策が講じられないままにそれらが *Sal.* 汚染源となっている可能性がある。これら豚舎については適切な衛生管理が望まれる

が、具体的には、定期的に豚舎排水の細菌検査を行なうと共に、飼育者がより一層Sal.等の人獣共通感染症に関する認識を持つような行政指導も必要であろう。環境基準により、一般の浄化槽放流水やと場排水は大腸菌群数3,000/cm以下と規制されているが、腸管系病原菌対策は全くなされていないのが現状である。今回調査を行なったU豚舎でも、消毒槽が設備されているが、使用薬剤が排水量に対して完全に作用するか否かについての配慮が欠けていたように思われた。実験室内で同豚舎から分離されたS.ty-mおよびS.derbyに対して、消毒槽に実際に使用されていたH錠の殺菌効果試験を行なった結果、1,000ppm、5分の作用時間で初めてこれらが完全に殺菌されることが判明した。本剤は固形形であって水に接して溶解し効力を発揮するタイプであるため、U豚舎の如く多頭飼育を行なっていて多量の排水を放出する施設では効果的でないと判定され、同施設を管理する畜産試験場により、かわりに液体塩素点滴装置が導入された。同時に、家畜保健所により、前記の如き豚舎の消毒および豚に対するCM投与が行なわれた。この後U豚舎排水のSal.検査を家畜保健所で数回実施したが、総て陰性であり、著者らも最終的確認のため同年6月、中川で前回Sal.が検出された地点3ヵ所を選び、菌検索を行なったが、全くSal.は分離されず、このようにしてU豚舎を汚染源とした中川のSal.汚染を完全に浄化することが出来た。Sal.汚染豚が一旦と場に搬入されると、以後枝肉、食肉の本菌による汚染を防止するのは至難の業である。食品衛生関係者ばかりでなく、畜産関係者も又、家畜のSal.汚染に関して再認識すべきであろう。最後に、本報告の主題とはやや離れるが、Sal.の分離条件について多少触れたい。本菌の選択分離培地はよく研究開発され、目的に応じて各種の培地が使い分けられている。著者らは、河川水等の液性検体を多数処理するために、培地そのもの

のがSal.に汚染されていないことを確認した上で、S B G培地粉末を検水に直接規定量投入溶解し、そのまま培養する方法を採用している。この方法では、河川水中に $10^4/100\text{ml}$ というオーダーの大腸菌群が共存していても $3\sim 7/100\text{ml}$ という少数のS.ty-mやS.enteritidisを検出することが可能であったことから、培地の節約、手技の簡素化のため好都合であった。しかしながら、より確実に他の多くの菌型のSal.を分離するために、今回は増菌培地としてS B G、Hajnaの両方を併用した。検体の違いにより、増菌培地としての両培地の長所、短所はすでに認められているところであるが、今回のように同一検水についてS B GではS.ty-mが、HajnaではS.derbyが極端に多く検出されるというデータが得られたことは興味深く、今後は検体の違いばかりでなく、目的とする菌型によっても増菌培地の選択を考慮すべきことが示唆された。これらの詳細については別の機会に報告する予定である。

要 約

滑川市内を流れる中川におけるSalmonellaの汚染調査、その汚染源追及および環境浄化を行ない、次の成績を得た。

1. 中川では河口から5km地点までは四ッ屋用水系の河底泥のみから、同水系の上流10kmまでは水からも同時にS.typhimuriumとS.derbyが分離されたが、中川本流、その他の支川からは全くSalmonellaは検出されなかった。
2. 同河川におけるSalmonella汚染はその菌型分布から少数の汚染源が推定されたが、河口付近で流入する四ッ屋用水上流約10km地点のU豚舎排水が汚染源であることが確認された。
3. U豚舎はし尿浄化槽等近代設備を有するモデル豚舎の一つであったが、Salmonellaはし尿で $9.2 \times 10^4/100\text{ml}$ 、末端消毒槽内の水で $1.7 \times 10^3/100\text{ml}$ と濃厚な汚染が認められた。
4. 同豚舎で用いられていた殺菌剤H錠は、

Salmonellaを完全に死滅させるには 1,000 ppmの濃度で5分を要した。

5. 家畜保健所の協力でクレゾール系薬剤による豚舎の熱消毒と豚へのクロラムフェニコール投与により、同豚舎排水から完全にSalmonellaを除去することができた。

謝 辞

豚舎の調査に当り御協力を賜わった富山県西部家畜保健衛生所屋木敏都主任並びに種々貴重な助言を賜わった当研究所細菌部長児玉博英博士に深謝致します。

文 献

- 1) 富山県厚生部編：昭和49年度防疫関係資料、P13
- 2) 相磯和嘉：最近の食中毒の動向、日本公衛誌、15(8) 697—701、1968
- 3) 善養寺浩：最近のサルモネラについて(その1) 日本公衛誌 16(8) 680—684、1969
- 4) 善養寺浩：最近のサルモネラについて(その2) 日本公衛誌 16(9) 729—735、1969
- 5) 秋山昭一：河川および汲取り尿のサルモネラ、Media Circle, 14(8) 339—345、1969
- 6) 村松絃一：河川・湖・下水などから検出した Salmonellaについて、日本公衛誌、16(7) 665—668、1969
- 7) 村松絃一：河川・湖・下水などから検出した Salmonellaについて(第2報)、日本公衛誌、18(12) 741—745、1971
- 8) 田中恭生他：福岡市内のヒト・市販食肉・河川水のSalmonella汚染について、日本公衛誌、21(12) 683—685、1974
- 9) Edwards, P. R. and Ewing, W. H.: Identification of Enterobacteriaceae, BURGESS PUBLISHING COMPANY, Minneapolis, 1962, P. 92
- 10) 医科学研究所学友会編：細菌学実習提要、丸善KK、東京、1971、P. 335—339
- 11) 上田貞善他：Arizonaによる食中毒例について、日本公衛誌、9(9) 454、1962
- 12) 白濁智旨他：富山県におけるSalmonella 分布調査成績について、感染症学雑誌、26—27、1971
- 13) Kelterborn, E: Salmonella Species; Published by DR. W. JUNK, N. V. DEN# HAAG, 1967, P. 124—125
- 14) 深沢平他：と畜場からみたサルモネラ、Media Circle, 14(8)、333—339、1969
- 15) 坂崎利一：培地学各論(2)、近代医学社、東京、1972、P. 12—42