— 原 著 —

エルトル型コレラ菌の環境における動態について

特に飲食品および生貝での消長

汲田 元

日本医科大学衛生学・公衆衛生学教室 (主任: 柚木 齊教授)
(指導: 栗木秀夫教授)

Behavior of El Tor *cholera* *Vibrio* in various environments,
especially in foodstuffs and lived shellfish

Gen Kumita

Department of Hygiene Public Health, Nippon Medical School

Studies of El Tor *cholera* *Vibrio* have been studied by a great many workers in the past. Unfortunately, however, the biological study of El Tor *cholera* *Vibrio* is still meager. And the growth and survival of El Tor *cholera* *Vibrio* in foodstuffs is a important problem of infection.

Therefore, several experiments were conducted. The first experiment was made with the object of clarifying the vital time of El Tor *cholera* *Vibrio* in cola, alkali ion drink, milk, coffee, peptone solution and soy sauce. The second was made, increase or decrease of the number of El Tor *cholera* sticking to raw fish and raw meat in settled temperature. The third, whether El Tor *cholera* *Vibrio* was accumulated in short-necked clams in artificial sea water which was contaminated with El Tor *cholera* *Vibrio*.

Factors influencing the survival of El Tor *cholera* *Vibrio* were studied. Results obtained were followings.

1) El Tor *cholera* *Vibrio* became extinct within 5 min in soy sauce of a high salt concentration and within 15 min in cola and alkali ion drinks of high acidity. But they did not extinct up to 60 min in milk, coffee and peptone solution.

2) El Tor *cholera* *Vibrio* sticking to raw fish or raw meat survived longer at 8°C than at 16°C or 24°C. The number of surviving El Tor *cholera* *Vibrio* increased temporally but decreased later. The number of its increase was positively corelated with the degree of environmental temperature.

In addition, when short-necked clams were placed in artificial sea water which had been contaminated with El Tor *cholera* *Vibrio*, it was found that organisms were accumulated and survived within short-necked clams.

Key words : El Tor *cholera* *Vibrio*, foodstuffs, lived shellfish, survival time

緒 言

コレラは、数千年前よりインドで流行していたが、世界的に大流行したのは 1817 年からで、現在までに 7 次にわたり汎発流行をみており、第 1～6 次まではインド由来のアジア型コレラ (インドコレラ、ベンガ

ルコレラ) であった。日本でもアジア型コレラは明治以前では 1822, 1858 年に流行し、明治以降では 1879 年に大流行した。そのほかの年にも毎年のごとく発生していたことが報告¹⁾ されているが、昭和に入りアジア型コレラの発生は、1946 年多数の復員者の帰国に伴う流行以外はほとんどなくなった。

第7次パンデミックと呼ばれている1960年代からの流行は、東南アジアに端を発し、ヨーロッパ、アフリカにまで波及し、いまだに広い範囲にわたり患者が発生し、特に東南アジアでは風土病の観を呈し、現在まで続いていることはWHOの報告^{2,3)}で明らかである。このコレラは、従来のアジア型コレラとは菌の溶血性、ファージIV感受性、毒性、流行の疫学像などに差があり、1962年WHOの会議でエルトル型コレラと呼称された。

わが国においても、1977年輸入例に起因すると思われる流行が和歌山県有田市周辺に発生⁴⁾したのを始めとして、東京・上野の池之端文化センターの折詰による集団発生⁵⁾、神奈川県鶴見区の鶴見川⁶⁾、千葉県市川市の真間川下流でのエルトル型コレラ菌の検出、東南アジアからの輸入例や輸入例とは全く関係のない散発的発生⁷⁾などをみているが、感染源、感染経路は明らかでないことが多い。その原因は、エルトル型コレラは、かつてのアジア型コレラに比して軽症、または無症状に経過することが多いためであろう。

現在までにエルトル型コレラ菌に関して、免疫学的研究⁸⁻¹²⁾、コレラエンテロトキシンの研究¹³⁻¹⁵⁾、抗生物質との関係¹⁶⁻¹⁸⁾、病理学的研究^{19,20)}、疫学的研究²¹⁻²³⁾などかなり報告されているが、感染伝播の基礎となる環境における生態学的研究はほとんどされていない。著者の教室では1982年、矢嶋²⁴⁾が分離培養したエルトル型コレラ菌を使用し、海水、河水および生活水中での動態について検討している。

著者はこれに引き続き、食品、飲料、生貝中でのエルトル型コレラ菌の消長について検討を試みた。すなわち汚染地区との人および食品の交流の激しいわが国にとって、食品衛生上の重要課題の一つであり、このような生態学的な研究はコレラ発生予防の重要な課題と考えたからである。

実験材料および方法

(1) 材料

1) 使用菌株

使用菌株は最近、東南アジア旅行をしコレラ様症状をもって帰国した患者から分離された新鮮菌株で、東京都立衛生研究所で分与を受けたエルトルコレラ菌小川型（以下エルトル菌と略す）である。その性状の変化を防ぐため2%加食塩ブイヨン培地で培養後、滅菌脱脂粉乳を10%加え小試験管に分注し、 -20°C で凍結し実験の都度、必要量を取り出し解凍して実験

に供した。

2) 実験に使用した液性材料

- i. コーラ（コカ・コーラボトリング）
- ii. コーヒー（ポッカコーポレーション）
- iii. アルカリイオン飲料（大塚製薬）

以上は、缶入りを使用した。

- iv. 牛乳（明治乳業）……紙パック入りを使用した。
- v. 醤油（キッコーマン）……プラスチック容器入りを使用した。

i.~v. とも開封後3分以内に実験に使用した。

- vi. コントロール……pH 7.0 の0.1% ペプトン水を使用した。

3) 実験に使用した魚・肉・生貝

いずれも都内某デパートより購入した。魚はメバチマグロ、肉は牛肉でいずれも加熱されていないもの、および生貝は東京湾産のアサリを使用した。

4) 人工海水

黒潮（山本海水養魚研究所製）を1日くみおいた水道水に溶かし、比重1.025に調整した。

(2) 方法

1) 液性実験材料

i. エルトール菌接種と菌液の調整

冷凍保存したエルトル菌を解凍し、普通寒天培地で24時間培養後、1%食塩添加の0.1%ペプトン水に18時間培養し $10^6/\text{ml}$ であることを確認し、その後 $10^6/\text{ml}$ に生理食塩水で希釈した。なお実験前に検体のpH、塩分濃度、生菌数を測定した。pHは硝子電極pH測定器または水素イオン濃度試験紙を使用した。塩分濃度は生産会社のデータを採用した。生菌数は標準寒天培地で測定した。

ii. 菌数測定

菌を接種後、一定温度に保持し、経時的に試料を採取した。そして10倍段階希釈法で、検体を滅菌生理食塩水で希釈し、その0.1%をTCBS寒天培地で 37°C 、24時間培養後測定した。

2) 魚肉・牛肉

i. エルトール菌接種と菌液の調整

前記と同様に培養したエルトル菌 $10^6/\text{ml}$ を0.05 mlとり、魚肉片5g、牛肉片5gに滴下、自然の拡散にまかせて、定着接種させた。

ii. 菌数測定

(i) 菌接種後、一定時間後に魚肉片または牛肉片を10 mlのペプトン水に入れ十分攪拌し、5分間静置後そのペプトン水を原液として、10倍段階希釈法で

前記のごとく TCBS 寒天培地によりコレラ菌数を測定した。温度は一定に保持した。

(ii) 菌接種後、一定期間 -20°C で冷凍し、一定時間後に解凍し、上記要領で菌数を測定した。なお魚肉、牛肉の pH は、水素イオン濃度試験紙を使用した。

3) アサリ

i. 人工海水中のエルトル菌

人工海水の温度を、一定温度に保持し、液性実験材料の場合と同様にコレラ菌を接種し、人工海水中でのコレラ菌の増減を調べた。菌量は $10^4/\text{ml}$ で実験した。菌数測定も液性実験材料と同様に行った。

ii. アサリ中のエルトル菌

i. の実験の結果を踏まえ、人工海水にエルトル菌を $10^4/\text{ml}$ になるように浮遊させ、アサリ 10 個を 1 群として次の実験を実施した。

A 群：温度を 8°C に保持し、24 時間後と 48 時間後に取り出した。

B 群：温度を 20°C に保持し、24 時間後と 48 時間後に取り出した。

C 群：温度を 8°C に保持し、24 時間後にコレラ菌の入っていない人工海水に 24 時間入れて採取した。

D 群：温度を 20°C に保持し、24 時間後にコレラ菌の入っていない人工海水に 24 時間入れて採取した。

次いで、アサリの生存を確かめた後、貝殻を取り、食品衛生法中の細菌検索の方法^{25,26)}に準じて、ワーニングブレンダー型のホモジナイザーで貝 10 g に pH 7.2 リン酸緩衝液 90 ml を加え、20,000 回転で 1 分間ホモジナイズし、10 倍段階希釈、0.1 ml を TCBS 培地に移植後、 37°C 24 時間培養し検体 1 g 当たりの菌数を測定した。

結 果

1. 液性実験材料におけるエルトル菌の経時的变化

温度は 8°C は冷蔵庫、 16°C は室温と考えて実験した。また検体は開封後 1 時間以内に使用されるものとして、5, 15, 30, 60 分で測定した。その結果、Fig. 1, 2 に示すように、醤油は温度に関係なく 5 分以内に死滅した。アルカリイオン飲料、コーラは 15 分以内で死滅したが、この場合も温度による差はみられなかった。コントロール、コーヒー、牛乳は 1 時間以内では 8°C でや

や減少、 16°C ではやや増加したが、差はあまりなかった。また塩分濃度、pH は Table 1 に示したとおりである。

Table 1 Characteristics of liquid sample

	pH	Salt density	Viable count
Milk	6.5	under 0.1%	$1 \times 10^8/\text{ml}$
Cola	2.4	under 0.1%	—
Coffee	6.4	under 0.1%	—
Alkali ion drink	4.0	under 0.1%	—
0.1% peptone solution	7.0	under 0.1%	—
Soy	4.2	17%	—

2. 魚肉・牛肉にエルトル菌を接種した時の菌の経時的变化 (Fig. 3)

8°C と 16°C の場合を比べると、 8°C のほうが魚肉、牛肉ともに生存期間は長かったが、菌接種後 4~36 時間までは 16°C の時のほうが菌数は多かった。 16°C と 24°C の場合では、 24°C の時のほうが菌接種後 4~36 時間までは菌数が多かった。しかし生存期間には差が認められなかった。魚肉と牛肉の場合を比べると、 16°C と 24°C の場合には魚肉に接種したほうが増殖は強く、生存期間も長かった。 8°C の場合には両者に差

Fig. 1 Viable cells of *El Tor cholera Vibrio* in each of liquid sample at 16°C

Fig. 2 Viable cells of El Tor *cholera* *Vibrio* in each of liquid sample at 8°C

Table 2 Viable cells of El Tor *cholera* *Vibrio* in refrigerated raw fish and raw meat

	Viable cells
raw fish (one day)	$2 \times 10^8/\text{ml}$
raw meat (one day)	$3 \times 10^8/\text{ml}$
raw fish (one week)	$1 \times 10^8/\text{ml}$
raw meat (one week)	$8 \times 10^2/\text{ml}$

はなかった。なお、魚肉の pH は 6.4, 牛肉 は 6.0

であった。

3. 魚肉・牛肉にエルトール菌を接種後、冷凍した時の菌の経時の変化 (Table 2)

冷凍期間が1日でも7日間でも菌の減少はほとんど認められなかったが、冷蔵時の減少は認められた。また魚肉と牛肉との間には差は認められなかった。

4. 人工海水中でのエルトール菌の経時の変化 (Fig. 4)

8~16°C まではコレラ菌は減少し、20°C では増減はほとんどなく、24, 28°C では増加を示した。

5. アサリの中でのエルトール菌の経時の変化 (Table 3)

4. の結果を踏まえ、アサリ中でのコレラ菌の消長を 8°C と 20°C で実験した。コレラ菌の入った人工海水中では、8°C ではわずかにアサリ中のコレラ菌数は増加傾向を示したが、20°C では明らかに増加を示した。次に1日コレラ菌の入った人工海水の中に入れておいたアサリを、コレラ菌を含まない人工海水の中にもう1日入れておきその菌数を調べたところ、1日目と2日目では 20°C でほとんど増減を示さず、8°C ではかなりの減少を示した。

考 察

Fig. 3 Viable cells of El Tor *cholera* *Vibrio* in each of raw fish and raw meat at 8°C, 16°C and 24°C

Fig. 4 Correlation between artificial sea water and population of *El Tor cholera Vibrio*

Table 3 Viable cells of *El Tor cholera Vibrio* in short-necked clam after one day and after two days

	after one day	after two days
Group A	$4 \times 10^2/g$	$8 \times 10^2/g$
Group B	$3 \times 10^3/g$	$8 \times 10^4/g$
Group C	$4 \times 10^2/g$	$2 \times 10/g$
Group D	$3 \times 10^3/g$	$4 \times 10^3/g$

Group A : Short-necked clams in artificial sea water that contained *El Tor cholera Vibrio* at 8°C for 24 h and 48 h.

Group B : Short-necked clams in artificial sea water that contained *El Tor cholera Vibrio* at 20°C for 24 h and 48 h.

Group C : Group A that was taken out after 24 h in artificial sea water that didn't contained *El Tor cholera Vibrio* at 8°C for 24 h.

Group D : Group B that was taken out after 24 h in artificial sea water that didn't contained *El Tor cholera Vibrio* at 20°C for 24 h.

日本で最初にエルトル菌が検出されたのが 1947 年であり、その後 1960 年代に入り国内での伝染流行が始まった。現在では、コレラの流行はエルトル菌が世界的に主流になっている。そのためその菌型、毒性、疫学的研究などはかなり進んでいる。エルトル菌の特徴の一つに、流行時で健康保菌者の関与する率が、かつてのアジア型コレラより高いことである。また菌の排出は数日以内のものが多く、病後保菌者でも 3 週間以内のものがほとんどであることが、サルモネラ系、赤痢系の伝染病とは異なっている。このようなコレラで特に問題となるのは、人そのものより飲食物の中でのコレラ菌の生態である。

そこで今回、食物、飲料、生貝にエルトル菌を付

着させて、その時の菌の動態を検討した。このような実験は、不安定要素がかなり入ってくるため、あまり行われていないが、わずかの報告はみられる。その報告では、新鮮なコレラ患者の下痢便を使用しての実験で多くの問題を残している。著者は、患者より新鮮分離したエルトル菌を、その性質を変化させないように大量培養し、冷凍保存したものを、その都度実験に供する方法をとってこの実験を行い、不安定要素の関与をできるだけ防止した。

対象として、現在わが国で伝播可能なものとして問題となっている牛乳、コーヒーなどの飲料、調味料として醤油、また牛肉、魚肉、生貝を取り上げた。

1. 液性材料について

これらの材料では、日常接している温度範囲では、いずれも生存期間に大差なく、他の因子による支配が高い。醤油で 5 分以内で死滅しているのは、他の飲料と異なり極端に塩分濃度が高いためと考えられる。下川²⁷⁾らは、アジア型コレラ菌では塩分濃度が 3% 以上では菌は急速に死滅すると報告し、矢嶋²⁴⁾はエルトル菌の場合は 4% 以上で発育が非常に悪くなったと報告している。塩分が 0.1% 以下のコーラ、アルカリイオン飲料、ペプトン水、牛乳、コーヒーについてみると、コーラとアルカリイオン飲料は他の飲料と異なり 15 分以内で死滅している。この 2 品目は pH 4 以下であり、他の飲料が pH 6~7 前後であることから、pH が大きく関与していると考えられる。矢嶋²⁴⁾や斉藤²⁸⁾らもコレラ菌は pH に大きく影響を受けると報告している。牛乳、コーヒー、ペプトン水は 60 分以内の観察ではほとんど差はみられない。強いていうならば上記 3 品目を比較すると、16°C でやや牛乳での増加が低いという程度である。これは牛乳がコーヒー、ペプトン水に比して、材料そのものに生菌が多い ($1 \times 10^8/ml$) ため、コレラ菌が拮抗するためと考えられる。Pesigan ら²⁹⁾、Prescott ら³⁰⁾、Felsenfeld³¹⁾らの報告では、菌量、菌の種類、菌の状態、温度条件などの点で著者の実験方法とはかなり異なっているが、生存期間はコーラでは 1~19 時間、牛乳では 1~48 時間、コーヒーでは 24 時間と報告している。それらは著者の実験結果とだいたいの傾向は類似している。

以上の結果は、コレラ汚染地域での飲料の摂取については、その温度の問題より、酸性の強い飲料がより安全ということが推論できる。

2. 魚肉・牛肉について

魚肉、牛肉に接種したエルトール菌は、温度条件として 8, 16, 24°C の実験では、8°C の場合は魚肉、牛肉とも減少し続けるが、生存期間は長く両者に差は認められなかった。16°C と 24°C では、菌は一時増加するが、すぐ減少傾向を示し、生存期間は 8°C に比して短い。この傾向は魚肉、牛肉による差はなかったが、やや魚肉のほうが牛肉より菌の生存は長かった。Pesigan ら²⁰⁾の報告では、魚肉は 30°C で 2 日間、5°C で 1 週間生存し、牛肉では 30°C で 1 日、5°C で 5 日間生存すると報告しており、その他バナナ、パイナップル、トマト、海水、飲料水などすべての実験材料で低温のほうが高温のほうがより生存期間が長いと報告している。今回の実験でも 8°C と他の温度との間に同様の傾向が現れているが、16°C と 24°C では明瞭な差は認められなかった。魚肉が牛肉に比して生存期間の長いのは、両者の pH に大きな差はなく、その理由は今回の実験では明らかにすることができなかったが、両者の含水量または栄養分の差などからきていることが考えられる。以上のことから一般の冷蔵状態では、コレラ菌はなかなか死滅しないことが分かった。冷凍実験では一般にいわれているように菌の減少はほとんどなく、魚肉、牛肉の差も出てこなかった。この結果は上野・池之端文化センターでの集団発生²¹⁾時の東京都衛生研究所でのロブスターによる実験結果と同様であった。また Miyaki ら²²⁾は -20°C では水に入れたエルトール菌は短時間に死滅するが、糖水、スキムミルクでは 1 ヶ月以上生存するし、また -72°C でも同様であったと報告している。これらのことは、十分な栄養があれば、冷凍下ではエルトール菌はほとんど死滅させることなく長期間生存の状態に置かれていることを意味している。

3. アサリについて

現在まで、このような生物実験は、ほとんど行われていない。ただ遠山²³⁾が、アジア型コレラ菌を魚介類を入れた水槽に投入したところ 5~10 分で魚の腸管まで侵入したと報告している。今回、アサリの中でのエルトール菌の動態を知るため、前述の実験を行った。人工海水中でアサリを生存させ、その人工海水中にコレラ菌を投入し、アサリの中におけるコレラ菌の状況をみた。1 日目と 2 日目の貝中のコレラ菌をみると、8°C では貝中のコレラ菌数はやや増加しているが、20°C ではその増加が著しい。また 20°C の人工海水中で

はコレラ菌は 2 日間の観察で投入菌量にほとんど変化を認めない。次にコレラ菌の入った人工海水中に 1 日生存させ、そのあとコレラ菌を含まない人工海水中に移して 1 日後の比較では 8°C で減少し、20°C では変動はほとんど認めていない。以上のことから、人工海水中にコレラ菌が存在している限り、アサリは菌を蓄積していることを意味し、またその温度ではアサリ中でコレラ菌は増加することなく生存することを示すものといえる。

結 論

エルトール菌の伝播について、飲食物汚染が重要な因子となる。すなわち飲食物中におけるコレラ菌の動態、特に汚染食品での生存、増加が、感染成立の重要な因子というわけである。著者はこの点を取り上げ、日常の食品、飲料を対象としての実験および汚染海水中に生存する貝のコレラ菌汚染について人工海水を利用して実験を行った。その結果の要約は次のとおりであった。

1) 実験した温度に関係なく塩分濃度の濃い醤油では、5 分以内に菌は死滅した。酸性の強いコーラ、アルカリイオン飲料では、15 分以内に死滅した。牛乳、コーヒー、ペプトン水では 1 時間以内では死滅しなかった。

2) 魚肉と牛肉では、8°C のほうが 16, 24°C の時に比べ生存期間が長かった。16, 24°C では、一時増加を示すが漸次減少した。増殖作用は 24°C が一番強く、16, 8°C の順であった。魚肉のほうが牛肉よりエルトール菌の増殖作用は強く、生存期間は長かった。

3) 魚肉と牛肉にエルトール菌を付着させて冷凍した場合、魚肉、牛肉ともに冷凍期間の長短にかかわらず、菌の減少はほとんど認められなかった。

4) 人工海水中のエルトール菌は、28°C と 24°C では増加、20°C ではほとんど増減なく、16, 10, 8°C では減少した。

5) 人工海水中のエルトール菌はアサリに蓄積され生存する。

稿を終るにあたり、本学第 2 内科教室柿彰郎教授および新城之介名誉教授の有意義な御助言に深謝いたします。また御協力頂いた衛生学・公衆衛生学教室員各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 厚生省防疫課：防疫必携。p. 223~259, 厚生省, 東京,

- 1953.
- 2) 小張一峰：エルトルコレラの流行。公衆衛生, **43**, 852~854, 1979.
- 3) 厚生統計協会：検疫伝染病(1)コレラ・厚生指標, **24** (臨時増刊), 144, 1977.
- 4) 厚生省公衆衛生局保健情報課：コレラ防疫の記録；有田市を中心とした集団発生。p. 3~41, 日本公衆衛生協会, 東京, 1978.
- 5) 東京都衛生局公衆衛生部防疫課：池之端文化センターに関連したコレラ流行調査報告書。東京都衛生局, 東京, 1980.
- 6) 福見秀雄：鶴見川のコレラ菌汚染事件。日医新報, No. 2822, 12~17, 1978.
- 7) 小張一峰：最近のコレラの臨床像。日臨, **38**, 336~339, 1980.
- 8) Northrup, R.S., Bienenstock, J., and Tomasi, T.B. : Immunoglobulins and activity in the intestine and serum in cholera. *J. Infect. Dis.*, **121**, 137~141, 1970.
- 9) Taylar, K.B. : Immunological mechanisms of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, **51**, 1058~1073, 1966.
- 10) Ghosh, H.K. : Immunological observation on experimental cholera. *J. Med. Microbiol.*, **3**, 441~451, 1970.
- 11) Freter, R., De, S.P., Mondal, A., Shrivastava, D.L., and Sunderman, F.W., Jr. : Coproantibody and serum antibody in cholera patients. *J. Infect. Dis.*, **115**, 83~87, 1965.
- 12) Felsenfeld, O., Felsenfeld, A.D., Green, W.E., and Hill, C.W. : Relationship of some vibrio antibodies to serum immune globulin in human and in *ceropithecus aethiops*. *J. Infect. Dis.*, **116**, 329~334, 1966.
- 13) 大橋誠：コレラエンテロトキシン。日細菌誌, **29**, 354~367, 1974.
- 14) Burrows, W. : Cholera toxin. *Annu. Rev. Microbiol.*, **22**, 254~268, 1968.
- 15) Fuhrman, G.J., and Fuhrman, F.A. : Inhibition of active sodium transport by cholera toxin. *Nature*, **188**, 71~72, 1960.
- 16) 鄭潮滄：化学療法におけるコレラの予防及び保菌者の治療。日伝誌, **37**, 8~12, 1963.
- 17) 善養寺治, 大久保暢夫, 五十嵐英夫, 堀幹夫, 坂井千三：腸炎ビブリオおよびコレラ菌の各種抗菌剤に対する感受性。日伝誌, **40**, 337~344, 1966.
- 18) 神中寛, 霜鳥翔一, 武谷健二：El Tor コレラ菌とアジアコレラ菌の抗生剤, とくにポリミキシンBに対する感受性の比較。日伝誌, **39**, 1~5, 1965.
- 19) 所沢剛, 関根一郎：コレラの病理。臨病理, **22**, 384~389, 1974.
- 20) Greenough, W.B. : Pancreatic and hepatic hypersecretion in cholera. *Lancet*, **II** (7420), 991~994, 1965.
- 21) Blake, P.A., Rosenberg, M.L., Costa, J.B., Ferreira, P.S., Guimaraes, C.L., and Gangarosa, E.J. : Cholera in Portugal, 1974 Modes of Transmission. *Am. J. Epidemiol.*, **105**, 337~343, 1977.
- 22) Baine, W.B., Mazzotti, M., Greco, D., Izzo, E., Zampieri, G., Di Gioia, M., Gangarasa, E.J., and Pocchiarri, F. : Epidemiology of cholera in Italy in 1973. *Lancet*, **II** (7893), 1370~1374, 1974.
- 23) Levine, M.M. : Cholera in Louisiana; Old problem, new light. *N. Engl. J. Med.*, **302**, 345~347, 1980.
- 24) 矢嶋博己：エルトル型コレラ菌の環境における動態について；特に海水・河川水および都市排水中での消長。日医大誌, **49**, 791~798, 1982.
- 25) 厚生省編：食品衛生検査指針(Ⅰ)。“水産食品衛生検査法”, p. 1~23, 厚生省, 東京, 1960.
- 26) 五十嵐英夫, 宇田川俊一, 鈴木昭, 春田三佐夫, 松本昌雄, 村上一：目でみる食品の衛生微生物学的品質評価法。p. 34~39, 日水製薬株式会社, 東京, 1980.
- 27) 下川繁治：コレラ流行の状況に鑑みてコレラ菌と水質との関係を論ず。国民衛生, **3**, 1585~1602, 1929.
- 28) 齊藤敬子：Vibrio comma の栄養要求に関する研究。日伝誌, **34**, 342~352, 1960.
- 29) Pesigan, T.P., Plantilla, J., and Rolda, M. : Applied studies on the viability of El Tor vibrios. *Bull. WHO*, **37**, 779~786, 1967.
- 30) Prescott, L.M., and Bhattacharjee, N.K. : Viability of El Tor vibrios in common foodstuffs found in an endemic cholera area. *Bull. WHO*, **40**, 980~982, 1969.
- 31) Felsenfeld, O. : Notes on food, beverages and fomites contaminated with vibrio cholera. *Bull. WHO*, **33**, 725~734, 1965.
- 32) Miyaki, K., Iwahara, S., Sato, K., Fujimoto, S., and Aibara, K. : Basic studies on the viability of El Tor vibrios. *Bull. WHO*, **37**, 773~778, 1967.
- 33) 遠山祐三：コレラ菌・チフス菌の海水及び魚介中における運命。日伝誌, **4**, 101~137, 1929.

(受付: 1983 年 2 月 7 日)