

## 東京都内と広島市内の砂場からの アcantアメーバの検出

山浦 常<sup>1)</sup> 白坂龍曠<sup>1)</sup> 松本克彦<sup>1)</sup>  
桑原正彦<sup>2)</sup> 辻 守康<sup>3)</sup> 堀上英紀<sup>4)</sup>

(掲載決定:平成5年4月14日)

**Key words:** *Acanthamoeba*, amphizoic amoeba, keratitis, sandbox, epidemiology, amoeba.

*Acanthamoeba* (以下 ACNT と省略) は, 元来土壌中をはじめ淡水・海中にも広く生息する自由生活性のアメーバとされた。しかし, 1956年以降ヒトへの感染例が相次いで報告され (Martinez, 1985; Visvesvara and Stehr-Green, 1990), さらに近年特にコンタクトレンズ装用者に ACNT に起因する角膜炎が急増し注目をあびている (Stehr-Green *et al.*, 1989; Visvesvara and Stehr-Green, 1990)。本邦でも ACNT 角膜炎の第一症例 (石橋ら, 1988) が報告されて以来, 患者数が漸増しているが (山浦ら, 1992), その感染経路はいまだ明らかでない。

最近鶴原ら (1991) は, 本邦の土壌から高率に ACNT を検出し, 本症の感染経路としての土壌の重要性を指摘した。また児童の生活に密接に関係する公園などの砂場の砂からは犬蛔虫卵などが検出され (Uga *et al.*, 1989; 桑原ら, 1991), 公衆衛生上重要な問題が指摘されているが, ACNT の検出に関する調査は現在までのところ全くなされていない。

今回著者らは, 東京都内と広島市内の砂場の砂を対象として, ACNT の検出状況を調査したので報告する。

1991年11月に東京都内の公園の砂場64例 (新宿区23例, 杉並区21例, 渋谷区11例, 文京区9例) の砂と, 1990年11月に採取した広島市内の砂場106例 (幼稚園・保育園22例, 小学校23例, 中学校・高等学校12例, 公園49例) の砂を材料とした。東京都の材料は採取直後のものを, 広島市内の砂は採取後, ビニール袋に密封し検査時期の1991年11月までの1年間倉庫に室温で保管したものを使

用した。砂の採取は, 1施設から1材料とし, 直径6 cm, 長さ30cmの塩化ビニール管を砂中に直角に押し入れ, 表面から約3 cmまでの深さのものを集めた。培養に先立ち, 砂の状態を均一化するために5日間自然乾燥後, 1 mmと180  $\mu$ m のステンレス製のメッシュを通過させて検体とした。ACNT の分離用培地は, アメーバ塩類溶液 KCM (KCl 4 mg, CaCl<sub>2</sub> 30mg, MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O 10mg を蒸留水に溶解し1,000mlとする) で作製した1.5% NN 寒天平板 (Bacto-Agar, Difco) に, 納豆菌懸濁液 (KCM 中に10<sup>6</sup>/mlの *Bacillus subtilis* を含む菌液を65°C/30分間処理した後, 10<sup>5</sup>/mlに調整したものを) を塗布した培地 (石井・石橋, 1989) を使用した。容器には  $\phi$ 60mm の polystyrene dish (Sumitomo Bakelite Medical Co., LTD.) を用い, 分離用培地の4箇所に検体約0.2 g ずつを置き, 非冠水状態で30°Cの暗所で14日間以上培養し, ACNT を増殖・シスト化させた。各検体の培養は, 1検体につき2枚の培地で行なった。検出された ACNT のシストは, さらに光学顕微鏡下 ( $\times$ 400) で Pussard and Pons (1977) に準じて3グループに分類した。

東京都内の砂場では, 64例中53例 (82.8%) から ACNT が検出された (Table 1)。地区別検出率は, 新宿区82.6%, 杉並区85.7%, 渋谷区72.7%, 文京区88.9% で, 地区による有意の差はなかった ( $p>0.05$ )。東京都内から検出された ACNT のグループ別の占める割合は, グループIIが94.4%と最多で, 次いでグループIが3.7%, グループIIIが1.9%であった。一検体から2グループが混合して検出されたものもあったので, ACNT の総検出数は54例であった。

広島市内の砂場では, 106例中92例 (86.8%) から ACNT が検出された (Table 2)。施設別検出率は, 幼稚園・保育園が81.8%, 小学校が91.3%, 中学校・高等学校が75.0%, 公園が89.8% で各施設間の検出率に有意差は認められなかった ( $p>0.05$ )。検出された ACNT

<sup>1)</sup>東京女子医科大学寄生虫学教室

<sup>2)</sup>広島県安佐医師会

<sup>3)</sup>杏林大学医学部寄生虫学教室

<sup>4)</sup>法政大学生物学研究室

本研究は, 財団法人武田科学振興財団の研究奨励金により行われた。

Table 1 Detection and classification of *Acanthamoeba* from sandboxes in Tokyo parks

Ward	No. of parks		Classification of <i>Acanthamoeba</i>		
	Examined	Detected	Group I	Group II	Group III
Shinjuku	23	19 (82.6%)	1	18	0
Suginami	21	18 (85.7%)	1	17	0
Shibuya	11	8 (72.7%)	0	8	1
Bunkyo	9	8 (88.9%)	0	8	0
Total	64	53 (82.8%)	2 (3.7%)	51 (94.4%)	1 (1.9%)

Table 2 Detection and classification of *Acanthamoeba* from sandboxes in Hiroshima City

	No. of institutions		Classification of <i>Acanthamoeba</i>		
	Examined	Detected	Group I	Group II	Group III
Kindergartens, day nurseries	22	18 (81.8%)	1	18	1
Elementary schools	23	21 (91.3%)	0	22	0
Junior high schools, senior high schools	12	9 (75.0%)	0	9	0
Parks	49	44 (89.8%)	2	44	0
Total	106	92 (86.8%)	3 (3.1%)	93 (95.9%)	1 (1.0%)

のグループ別の割合は、東京都内の場合と同様に、グループⅡが95.9%と圧倒的に多く、グループⅠが3.1%、グループⅢは1.0%であった。ここでも、一検体から2グループが混合して検出されたものもあったので、ACNTの総検出数は97例であった。また地域別検出率はTable 3に示された如く、住宅地域が87.1%、商業地域が88.9%、農業地域では75.0%で3地域間に有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。

アメーバ角膜炎やアメーバ性肉芽腫性脳炎の原因とな

るACNTは、海外では種々の自然環境から分離されている (Martinez, 1985; Rondanelli, 1987)。しかし、いずれの報告も淡水、温水などいわゆる水圏に関するものが圧倒的に多いが、土壌からのものは極めて少なく (Henney and Henney, 1989; 鶴原ら, 1991)、また砂からの分離報告は皆無である。さらにACNT角膜炎患者の住居の水道水や、コンタクトレンズ保存液からもACNTが検出されている (Stehr-Green *et al.*, 1987; 石橋ら, 1988; Stehr-Green *et al.*, 1989) ことなどが

Table 3 Zone of Hiroshima City and *Acanthamoeba* from sandboxes

Zone	No. of Parks examined	No. in which <i>Acanthamoeba</i> was detected	Detection rate
Residential	62	54	87.1%
Business	36	32	88.9%
Agricultural	8	6	75.0%

ら、これまでは本症の感染経路として水道水がもっぱら注目されてきた。鶴原ら (1991) は、本邦の土壌からの ACNT 検出率が54~70%であることを報告し、ACNT 角膜炎の感染経路としての土壌の重要性を指摘した。従来、砂場の砂は土壌より保水性が悪く、貧栄養のため ACNT の検出が疑問視されがちであった (石井, 私信)。しかし、今回の調査による ACNT 検出率は、東京都内で82.8%, 広島市内でも86.8%と共に高率で、鶴原ら (1991) による土壌での成績を上回った。東京都内での地区別や、広島市内の施設および地域別の ACNT 検出率に差が認められなかったことは、本原虫の自然環境への広範な浸潤を意味している。砂場に ACNT が存在する原因としては、ヒトや動物などによる搬入が考えられるが、風による本アメーバの飛散の可能性も無視できない。このことは、海外での屋内や屋外の空気中からの ACNT の検出報告 (Kingston and Warhurst, 1969; Rivera *et al.*, 1987), さらに著者による室内塵からの ACNT の検出報告 (山浦ら, 1993) によっても示唆される。

一方、ACNT は耐乾性のシストを形成し、乾燥状態で長期間生存可能であるとされている (Griffin, 1978; 石井・石橋, 1989)。今回の結果でも広島市内の砂は採取後1年を経過したものであったにもかかわらず、採取直後の東京都内の砂と同程度に高い検出率が得られた。以上のことから、ACNT は少なくとも両地域の砂場の砂中に高率かつ広範に存在するばかりでなく、強い生存力も確認されたので、ACNT 角膜炎の感染経路として土壌と同様に砂も重要と思われた。

現在までに角膜炎患者から分離されている ACNT はグループⅡが最も多く (Auran *et al.*, 1987; 石橋ら, 1988), 著者が分離報告した5例と (山浦ら, 1992), 未発表の1例を合わせた計6例の ACNT も全てグループⅡであった。今回の東京都内と広島市内の砂場におけるグループ別 ACNT 検出率でも、やはりグループⅡが大部分を占めており、ACNT 角膜炎にグループⅡが多いこととの関連性が示唆された。

## 文 献

- 1) Auran, J. D., Starr, M. B. and Jakobiec, F. A. (1987): *Acanthamoeba keratitis*. A review of the literature. *Cornea*, 6, 2-26.
- 2) Griffin, J. L. (1978): Pathogenic Free-Living Amoebae. In *Parasitic Protozoa*. Vol. 2. Kreier, J. P., ed., Academic Press, New York, 507-549.
- 3) Henney, M. R. and Henney, H. R. Jr. (1989): *Acanthamoeba* isolates from the Houston coastal center: some characteristics and establishment in pure culture. *Cytobios*, 57, 109-120.
- 4) 石橋康久・松本雄二郎・渡辺亮子・本村幸子・安羅岡一男・石井圭一・小山 力・遠藤卓郎・八木田健司 (1988): *Acanthamoeba keratitis* の1例—臨床像, 病原体検査法および治療についての検討—日眼会誌, 92, 963-972.
- 5) 石井圭一・石橋康久 (1989): 両性アカントアメーバによる角膜炎. *原生動物誌*, 22, 4-9.
- 6) Kingston, D. and Warhurst, D. C. (1969): Isolation of amoebae from the air. *J. Med. Microbiol.*, 2, 27-36.
- 7) 桑原正彦・下村 浩・辻 守康 (1991): トキソカラ感染児童の環境. *小児保健研究*, 50, 187.
- 8) Martinez, A. J. (1985): Free-Living Amebas. *Natural History, Prevention, Diagnosis, Pathology, and Treatment of Disease*, CRC Press, Boca Raton, 156 pp.
- 9) Pussard, M. and Pons, R. (1977): Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). *Protistologica*, 13, 557-598.
- 10) Rivera, F., Roy-Ocotla, G., Rosas, I., Ramirez, E., Bonilla, P. and Lares, F. (1987): Amoebae isolated from the atmos-

- phere of Mexico City and environs. *Environ. Res.*, 42, 149–154.
- 11) Rondanelli, E. G. (1987): Amphizoic Amoebae: Human Pathology. *Infectious Diseases Color Atlas Monographs*. 1, Piccin, Padua, 279pp.
- 12) Stehr-Green, J. K., Bailey, T. M., Brandt, F. H., Carr, J. H., Bond, W. W. and Visvesvara, G. S. (1987): *Acanthamoeba* keratitis in soft contact lens wearers. A case-control study. *JAMA*, 258, 57–60.
- 13) Stehr-Green, J. K., Bailey, T. M. and Visvesvara, G. S. (1989): The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am. J. Ophthalmol.*, 107, 331–336.
- 14) 鶴原 喬・富山 慶・富沢 浩・堀上英紀・石井圭一 (1991): *Acanthamoeba* の土壌分布. *原生動物誌*, 24, 25–26.
- 15) Uga, S., Matsumura, T., Aoki, N. and Kataoka, N. (1989): Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan. *Jan. J. Parasitol.*, 38, 280–284.
- 16) Visvesvara, G. S. and Stehr-Green, J. K. (1990): Epidemiology of free-living ameba infections. *J. Protozool.*, 37, 25 S–33 S.
- 17) 山浦 常・白坂龍曠・中川 尚・中川裕子・堀上英紀・石井圭一 (1992): 当院におけるアカントアメーバ角膜炎の5例. *寄生虫誌*, 41, 76.
- 18) 山浦 常・白坂龍曠・松本克彦・中井呈子・堀上英紀・石井圭一 (1993): 室内塵からのアカントアメーバの検出. *寄生虫誌*, 42, 130–133.

[*Jpn. J. Parasitol.*, Vol. 42, No. 4, 361–364, August, 1993]

Abstract

ISOLATION OF ACANTHAMOEBA FROM SANDBOXES IN TOKYO AND HIROSHIMA CITY

HISASHI YAMAURA<sup>1)</sup>, RYUKOH SHIRASAKA<sup>1)</sup>, KATSUHIKO MATSUMOTO<sup>1)</sup>,  
MASAHIKO KUWABARA<sup>2)</sup>, MORIYASU TSUJI<sup>3)</sup> AND HIDEKI HORIKAMI<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Parasitology, Tokyo Women's Medical College, kawada-cho 8-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

<sup>2)</sup>Asa Medical Association, Gion 2-48-7, Asa-Minami, Hiroshima 731-01, Japan

<sup>3)</sup>Department of Parasitology, Kyorin University School of Medicine, Shinkawa 6-20-2, Mitaka City, Tokyo 181, Japan

<sup>4)</sup>Laboratory of Biology, Hosei University, Fujimi 2-17-1, Chiyoda-ku, Tokyo 102, Japan

In a survey conducted to estimate the incidence of *Acanthamoeba* in sandboxes, 64 samples of sand in Tokyo and 106 samples in Hiroshima City were collected from recreational sandboxes. The detection rate was high in both Tokyo (82.8%) and Hiroshima City (86.8%). Of the total of 54 isolates of *Acanthamoeba* in Tokyo, group II accounted for 94.4%, group I for 3.7%, and group III for 1.9%. Of the total of 97 isolates in Hiroshima City, the proportion was similar to that in Tokyo, namely, 95.9%, 3.1%, and 1.0%, respectively. No correlation was found between the *Acanthamoeba* detection rate and either the ward within Tokyo, or the institution or zone within Hiroshima City.

The strong vitality of *Acanthamoeba* was confirmed by the high detection rate from Hiroshima City samples which were stored for one year.

Based on the above findings, it is concluded that sand should be monitored carefully as a source of *Acanthamoeba* infection.