

夏期だけ、

禁じた。

2) 傷を海水、汽水（内湾や河口部の水）、海産物などに曝すことについて

指導した

指導しなかった



一年中、
夏期だけ、

傷を海水に曝すことを

注意した。
禁じた。

6. 今後患者さんにビブリオバルニフィカス感染症について指導する予定はありますか？

ある

ない

わからない

7. ビブリオバルニフィカス感染症について今後知りたいことがあればご記入ください。

特にない

(_____)
_____) について

質問は以上です。ご協力ありがとうございました。

厚生労働科学研究費補助金

(厚生労働省科学研究費新興再興感染症研究事業) 分担研究報告書

ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な経口感染に関する臨床的研究

分担研究 小野友道 熊本大学大学院医学薬学部長

研究要旨

1992年以降に日本で発症が報告されたビブリオ・バルニフィカス感染症の患者151人について、診断治療を行った病院および主治医に対してアンケート調査および追跡調査を行った。特にビブリオ・バルニフィカス感染症発症時および発症以前の肝機能障害の程度を中心に調査した。151人中72人について解答を得た。72人中、発症時に肝硬変と判定された患者は46人であった。残り26人の中には軽症のアルコール性肝炎と診断された患者も含まれていた。肝硬変患者46人中33人が死亡しており、死亡率は72%であった。初診時に肝硬変との診断がされなかった患者26人中で死亡したのは13人であり、死亡率は50%であった。つまり、肝硬変に陥っていない患者は肝硬変に陥っていた患者と比較すると明らかに予後は良好であった。ビブリオ・バルニフィカス感染症は基礎疾患として肝機能障害を有する患者が発症する日和見感染であるが、その危険性は必ずしも重篤な肝機能障害に限られるものではない。しかしながら一旦発症した場合にはその予後を決定する重要な因子の一つは肝硬変の有無であることが示唆された。

A. 研究目的

2001年夏に熊本県八代地区を中心にビブリオ・バルニフィカス感染症が大量発生した。ビブリオ・バルニフィカス感染症は、夏場の汽水域でとれた魚介類を生食したことにより起こる稀な疾患である。菌の増殖しやすい環境は海水温度20℃以上、塩分濃度2%以下とさ

れ、汽水域で増殖しやすいのはその塩分濃度によるところが大きい。長雨で海水が希釈された時は特に危険性が増すと考えられる。魚介類生食後数時間から 48 時間で発症する壊死性筋膜炎および敗血症を主症状とし、急激な転帰を辿る。ただし、患者のほとんどは肝機能障害などの基礎疾患を有しており、健康な人が罹ることのない日和見感染症である。1. 臨床症状①初発症状は、ほとんどが発熱と四肢の疼痛である。②皮膚症状が 90%以上の症例にみられる。(典型例では壊死性筋膜炎であり、発赤腫脹、紫斑、水疱、血疱、壊死などの皮疹を呈する)③既報告によれば、敗血症性ショックが初診時の 65%の症例にみられる。④腹痛、嘔吐、下痢などの消化器症状が 45%の症例にみられる。ただし、ビブリオ・バルニフィカス感染症は腸炎ビブリオ感染症を合併していることが多く、そのための消化器症状との意見もある。⑤肝硬変を基礎疾患とする場合には白血球減少や血小板減少が合併することがある。2. 基礎疾患として最も多いのが C 型肝炎やアルコール性肝炎による肝硬変である。その他、肝癌、糖尿病、胆嚢癌、膠原病などがある。また、輸血後や鉄剤を服用している患者における発症も報告されている。3. 感染経路は経口感染が多い。新鮮な魚介類ほど感染の危険性が高いと考えられる。しかしながら、一部にはビブリオ・バルニフィカスの増殖した海域での外傷などから起こる創感染もある。4. 発症後臨床症状皮膚感染に先立ち、敗血症による血圧低下を来す場合がある。全身性に紅斑や紫斑を生じる場合がある。播種性血管内凝固症候群 (DIC) や肝不全、腎不全、呼吸不全などの多臓器不全 (MOF) を併発することもある。5. 治療としては急激に進行する感染症であり、ビブリオ・バルニフィカス感染症を疑った場合には検査に先立つ見込み治療が必要である。同時にショック状態にあれば塩酸ドーパミンやカテコールアミンなどを投与して全身状態の改善に努める。抗生剤治療としてはグラム染色にてビブリオ・バルニフィカスが疑われたら速やかに抗生剤の投与を開始する。使用する抗生剤としてはミノサイクリン、テトラサイクリン系、第 3 世代セフェム系、ペニシリン系、カルバペネム系、ニューキノロン系などほとんどの抗生剤が感受性を有する。中でもカルバペネム系のイミペネムは肝臓への影響が少ないと考えられる。

ビブリオ・バルニフィカス感染症、特に経口感染症は健康人は罹患しない日和見感染症であり、感染症を起こす最も大きな危険因子は肝機能障害である。そこで、日本において過去に発症したビブリオ・バルニフィカス感染症患者の肝機能障害の程度を判定し、より具体的な危険因子を判断することを目的とした。

B. 研究方法

1990年以降で学会、論文などで報告されたビブリオ・バルニフィカス感染症患者151人について以下の項目についてアンケートおよび聞き取り調査を行った。①年令、性別②居住地区③発症日④症状⑤基礎疾患⑥初診時の重症度⑦初診時の肝機能の重症度⑧初診時の検査データ⑨治療内容⑩転帰⑪飲酒歴⑫海水への暴露⑬魚介類の生食の有無⑭発症前の肝機能障害の程度⑮発症前の肝機能検査データ

「ピブリオ・バルニフィカス感染症調査」

その1

- ①ピブリオ・バルニフィカス感染症患者さん1例につき1枚（裏表両面）の調査用紙を記入ください。
 ②該当する□にイでチェック、（ ）及び_____に記入してください。
 ③発症前の患者さんの状況について不明の場合は、かかりつけの医又は紹介元の医療機関をお知らせ下さい。

病因名	記入者氏名
住所	

I 「ピブリオ・バルニフィカス感染症」発症後の所見についてお尋ねします。

1. 患者名・性別	イニシヤル(姓) (名) ()	<input type="checkbox"/> 男性	<input type="checkbox"/> 女性
2. 生年月日及び年齢	□明治・□大正・□昭和()年()月()日		
1. 患者住所 (市町村名まで記入)	都道府県	市	町村
2. 病型	<input type="checkbox"/> 敗血症型(経口感染の敗血症例) <input type="checkbox"/> 創部感染症(創部感染によるもの) <input type="checkbox"/> 急性胃腸炎型(経口感染で消化器症状のみで敗血症のない) <input type="checkbox"/> その他()		
3. 発症日時と始発症状	平成()年()月()日()時ごろ		
4. 初診日	平成()年()月()日()時ごろ		
5. 診断確定日	平成()年()月()日		
6. 基礎疾患	最近検出検体()		
うち肝疾患の原因	<input type="checkbox"/> 特になし <input type="checkbox"/> 慢性肝炎 <input type="checkbox"/> 肝硬変 <input type="checkbox"/> 肝癌(原発生・転移性) <input type="checkbox"/> その他()	<input type="checkbox"/> 糖尿病 <input type="checkbox"/> 不明	<input type="checkbox"/> アルコール性 <input type="checkbox"/> 不明

9 症状	<input type="checkbox"/> 発熱 <input type="checkbox"/> 腹痛 <input type="checkbox"/> 嘔吐 <input type="checkbox"/> 下痢 <input type="checkbox"/> 血便 <input type="checkbox"/> 疼痛 (部位)) <input type="checkbox"/> 皮膚症状 (部位)) <input type="checkbox"/> ショック <input type="checkbox"/> その他 ()
10 初診時の重症度	初診時の皮膚症状範囲：体表のおよそ () % 初診時の出血傾向 <input type="checkbox"/> 有 () <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 不明 初診時のショック (循環不全) 合併 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 不明
11 初診時の肝疾患の重症度	脳症状 <input type="checkbox"/> ない <input type="checkbox"/> 軽度 <input type="checkbox"/> 時々昏睡 腹水 <input type="checkbox"/> ない <input type="checkbox"/> 軽度 <input type="checkbox"/> 中等度 総ビリルビン (mg/dl) <input type="checkbox"/> 2.0未満 <input type="checkbox"/> 2.0~3.0 <input type="checkbox"/> 3.0超 アルブミン (mg/dl) <input type="checkbox"/> 3.5超 <input type="checkbox"/> 2.8~3.5 <input type="checkbox"/> 2.8未満 プロトロンビン活性値 (%) <input type="checkbox"/> 70超 <input type="checkbox"/> 40~70 <input type="checkbox"/> 40未満 プロトロンビン時間 <input type="checkbox"/> 4.0秒以下の延 <input type="checkbox"/> 4.0~6.0秒の延 <input type="checkbox"/> 6.0秒以上の延 食道静脈瘤 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 不明 食道静脈瘤の破裂 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
12 初診時の血液生化学検査採取日 () 月 () 日	WBC RBC Hb Ht Ht ptl PT FDP Fib ATIII T-P Alb T-bil TTT ZTT GOT LDH ALP LAP γ -GTP ChE 総コレステロール GPT 血中アンモニア 血清鉄 CPK HbA1c エンドトキシン
13 治療・抗生剤 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	薬剤名 () 投与開始日時 () 月 () 日 () 時ごろ 薬剤名 () 投与開始日時 () 月 () 日 () 時ごろ 薬剤名 () 投与開始日時 () 月 () 日 () 時ごろ
14 治療・外科処置 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	初回デブリードマン施行日時 () 月 () 日 () 時ごろ 初回患肢切断術施行日時 () 月 () 日 () 時ごろ () 施行日 () 月 () 日 () 時ごろ
15 患者転帰	<input type="checkbox"/> 生存 <input type="checkbox"/> 死亡 平成 () 年 () 月 () 日

「ビブリオ・バルニフィカス感染症調査」

その2

16 飲酒歴	期間 () 年から () 年まで <input type="checkbox"/> ほとんど毎日 ※清酒換算 () 合 <input type="checkbox"/> 機会飲酒	() 年清酒1合に相当する飲酒量	・ビール (大) 1本 ・ワイン2杯 ・焼酎コップ1杯 ・ウイスキーダーダブル1杯 ・ウイスキーシングル2杯
17 発症10日以内の海水・汽水への創暴露 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 不明	平成 () 年 () 月 () 日 () 時ごろ 場所 同行者 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	() 年 () 月 () 日 () 時ごろ	
18 発症前3日以内の海産物の生食 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 不明	平成 () 年 () 月 () 日 () 時ごろ 推定食材名 () 食材の入手先 <input type="checkbox"/> 自家採取 <input type="checkbox"/> 店で購入 <input type="checkbox"/> 不明 保管状況 () 調理法 <input type="checkbox"/> 生食 (刺身など) <input type="checkbox"/> 未加熱加工 (醤油漬・みど漬など) 一緒に食べた人 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有 () 前年の6-9月に同じ物を食べましたか? <input type="checkbox"/> 食べた <input type="checkbox"/> 食べない	() 時ごろ	<input type="checkbox"/> 不明 <input type="checkbox"/> 不明 <input type="checkbox"/> 不明

II 「ビブリオ・バルニフィカス感染症」発症前の基礎疾患についてお尋ねします。

19 かかりつけ医 不明の場合は、紹介元の医療機関を記入ください。	() 病院・医院 住所 電話 ()	() 主治医 () 先生
20 肝疾患の既往(診断日)	<input type="checkbox"/> 急性肝炎 <input type="checkbox"/> 慢性肝炎 <input type="checkbox"/> 肝硬変 <input type="checkbox"/> その他 (内容:)	<input type="checkbox"/> 昭和・ <input type="checkbox"/> 平成 () 年 () 月 <input type="checkbox"/> 昭和・ <input type="checkbox"/> 平成 () 年 () 月 <input type="checkbox"/> 昭和・ <input type="checkbox"/> 平成 () 年 () 月 <input type="checkbox"/> 昭和・ <input type="checkbox"/> 平成 () 年 () 月
21 発症前の肝疾患の	脳症状 腹水	<input type="checkbox"/> 軽度 <input type="checkbox"/> 時々昏睡 <input type="checkbox"/> 軽度 <input type="checkbox"/> 中等度

重症度	総ビリルビン (mg/dl) <input type="checkbox"/> 2.0 未満 <input type="checkbox"/> 2.0~3.0 <input type="checkbox"/> 3.0 超 アルブミン (mg/dl) <input type="checkbox"/> 3.5 超 <input type="checkbox"/> 2.8~3.5 <input type="checkbox"/> 2.8 未満 プロトロンビン活性値 (%) <input type="checkbox"/> 70 超 <input type="checkbox"/> 40~70 <input type="checkbox"/> 40 未満 プロトロンビン時間 <input type="checkbox"/> 4.0 秒以下の延 <input type="checkbox"/> 4.0~6.0 秒の延 <input type="checkbox"/> 6.0 秒以上の延 食道静脈瘤 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 不明 食道静脈瘤の破裂 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
22 発症前の血液生化学検査 採取日 () 月 () 日	WBC <input type="checkbox"/> RBC <input type="checkbox"/> Hb <input type="checkbox"/> Ht <input type="checkbox"/> ptl <input type="checkbox"/> PT <input type="checkbox"/> FDP <input type="checkbox"/> Fib T-P <input type="checkbox"/> Alb <input type="checkbox"/> T-bil <input type="checkbox"/> TTT <input type="checkbox"/> ZTT <input type="checkbox"/> GOT <input type="checkbox"/> GPT <input type="checkbox"/> LDH ALP <input type="checkbox"/> LAP <input type="checkbox"/> γ -GTP <input type="checkbox"/> ChE <input type="checkbox"/> 総コレステロール 血中アンモニア <input type="checkbox"/> 血清鉄 <input type="checkbox"/> CPK <input type="checkbox"/> HbA1c
23 肝疾患治療歴	<input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有 () <input type="checkbox"/> ()
24 糖尿病の治療歴	<input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有：(<input type="checkbox"/> インシュリン <input type="checkbox"/> 経口薬 <input type="checkbox"/> 食事療法・運動量法のみ)
25 鉄剤投与歴	発症1ヶ月以内に <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有：(<input type="checkbox"/> 経口 <input type="checkbox"/> 静注) <input type="checkbox"/> 不明
26 その他	

C. 研究結果

151 人の患者中、解答が得られたのは 72 人（回収率 47.7%）であった。①72 人の患者の内訳は男性 59 人、女性 13 人で 82%が男性であった。発症年齢は 50 代が最も多く、50-60 歳代で全体の 60%以上を占めた。②居住地区は青森県を北端とし、全国に分布していたが、熊本県 19 人、佐賀県 19 人が最も多く、全体の 70 以上が九州に集中していた。③発症年は平成 2 年の 5 人から平成 13 年の 18 人と漸増傾向にある。月別発症では 6 月から 11 月までの期間で発症を認め、7 月の 37%が最も多く、7-9 月の夏場で全体の 76%を占めた。④敗血症型が全体の 85%で、創傷型が 8%であった。⑤基礎疾患としては慢性肝炎 36%、肝硬変 44%、肝癌 14%で全体の 88%に肝臓疾患が認められ、アルコール飲酒者が 94%であった。肝炎ウイルスでは C 型 16 人（22%）、B 型 4 人（6%）、B+C 型 1 人（1%）であった。⑥初診時の症状としては発熱（23%）、疼痛（22%）、皮膚症状（20%）、ショック（52%）などを合併し、33%に出血傾向を認めた。⑦⑧初診時の肝機能検査としたは総ビリルビンが 2.0 以上の上昇を認めたのが 56%で肝硬変の指標となる 3.0 以上が全体の 39%であった。アルブミン減少を認めたのが 90%であった。プロトロンビン活性値低下が 85%。GOT 上昇 85%、内 200 以上が 28%であった。GPT 上昇は 68%で 200 以上が 3%であった。γ-GTP 上昇が 61%、内 300 以上が 28%であった。⑨⑩全体の 63%が死亡した。⑪飲酒歴ではほとんど毎日飲むとの解答が 69%で、飲酒歴なしが 23%であった。⑫海水への暴露歴は全体の 21%に認めた。⑬魚介類の生食は 93%に認めた。⑭発症前にかかりつけ医師があったのは全体の 94%であり、慢性肝炎、肝硬変などの肝疾患が既往としてあったのが 89%であった。⑮発症以前の肝機能障害重症度については脳症の合併が 10%、腹水合併 23%、食道静脈瘤合併 50%、食道静脈瘤破裂の既往が 10%であった。検査値では GOP201 以上が 6%、GPT201 以上が 6%であり、γ-GTP300 以上が 24%であった。その他では糖尿病の治療歴があったのが 70%で、内インシュリン治療を受けていたのが 21%であった。また、発症前 1 ヶ月以内に鉄剤の投与を受けていたのは 6%であった。

D. 考察

日本におけるビブリオ・バルニフィカス感染症は最近増加傾向にあり、そのほとんどは夏場の7月から9月に集中している。男女比で80%以上が男性である。これはその基礎疾患である肝機能障害における男女比、飲酒における男女比によるところが大きいと考えられる。好発年齢は50代がピークであることも基礎疾患の肝機能障害、特に肝硬変における好発年齢に一致する。地域分布では九州、特に熊本と佐賀で全体の50%以上を占めた。また、九州以外では三重県、岡山県、千葉県、栃木県で複数の患者を認めている。これらは何れも大平洋側、または瀬戸内海側に位置しており、日本海側での患者発生は稀である。熊本、福岡、佐賀でビブリオ・バルニフィカス感染症が多発する要因としてはこの3県が有明海に面しているという地理的な要因が大きいと予想される。熊本県は2001年の大量発生時には八代海沿岸での発生が多かったが、以前の報告では有明海での発生も認めている。内海である有明海や八代海が多く干潟を有し、梅雨時期の大雨の後にはその塩分濃度が2%前後まで低下することが観測されている。ビブリオ・バルニフィカスは1~8%程度の塩分濃度で増殖することが確認されているが、その至適濃度は2%以下である。そのため、内海周辺における大雨はビブリオ・バルニフィカスの増殖を促進すると予想される。同じ九州でも鹿児島、宮崎、大分からのビブリオ・バルニフィカス感染症の報告がほとんどみられないのは、これら3県がほとんど内海を持たないためと考えられる。従って、気温が低く、大きな内海の無い日本海側ではビブリオ・バルニフィカス感染症の発症は少ないと予想される。

基礎疾患としては肝炎、特にウイルス性肝炎が大きなリスクファクターであった。ウイルス性肝炎の型分類ではB型:C型=1:4であり、これは日本におけるウイルス肝炎の頻度とほぼ一致することより、ウイルスの種類によりビブリオ・バルニフィカス感染症の発生頻度が異なるとは考えにくい。アルコール性肝炎を基礎疾患とするものが全体の半数以上を占めており、ビブリオ・バルニフィカス感染症はウイルス、アルコールを問わず肝機能障害がある患者さんに起こる重篤な感染症と言える。

病院初診時の肝機能障害の程度については脳症を合併する程の肝不全状態の人はほとんど認めなかった。これは脳症を合併する程に肝機能障害の患者は魚介類の生食を行う機会はほとんどないためではないかと考えられる。腹水、総ビリルビン上昇、アルブミン低下など高度の肝硬変状態を呈した患者はそれぞれ20%、39%、39%であった。その他の検査値と臨床症状を検討して発症時に肝硬変を合併していたと予想された患者は72人中46人、58%であった。ビブリオ・バルニフィカス感染症発症以前の患者の肝機能状態については追跡調査が困難で30人の患者のデータしか入手できなかった。その30人については脳症の合併は1人(3%)のみで、腹水を認めたのが23%、総ビリルビン3以上が20%、アルブミン2.8未満が13%であった。その他の臨床検査値や臨床症状より判断して肝硬変状態があったと推測される患者は50%程度であった。発症前の血液検査データでもGOT, GPTが201以上の肝炎状態の患者は6%、 γ -GTPが300以上の上昇をみとめたのが20%であった。これらの症状や検査データには発症直前のものから数年前のものまで含まれるため患者の発症直前の肝機能状態を正確に反映するものではない。ただし、発症後の肝機能状態を含めて考えても重篤な肝機能障害を合併している患者は決して多くはなく、半数程度の患者は軽症な肝機能障害の状態であったと予想された。

発症時に肝硬変と考えられた患者46人中33人が死亡しており、死亡率は72%であった。初診時に肝硬変との診断がされなかった患者26人中では死亡したのは13人であり、死亡率は50%であった。つまり、肝硬変に陥っていない患者は肝硬変に陥っていた患者と比較すると明らかに予後は良好であった。

E. 結論

ビブリオ・バルニフィカス感染症は北海道を除くほぼ全国で確認されたが、ほとんどは九州、とりわけ有明海、八代海などの内海周囲で発生していた。患者のほとんどが肝障害などの基礎疾患を有する日和見感染症である。しかしながら、その肝障害の程度としては肝硬変を合併するような重篤なものだけではなく、軽症な肝障害を有する患者においてもそ

の発症が確認された。ただし、一旦発症した場合の予後は肝機能障害によるところが大きかった。

F. 健康危険情報

夏場において、肝疾患を有する患者が魚介類を生で食するのはビブリオ・バルニフィカス感染症を引き起こす可能性があるので控えるべきである。内海で、大雨の降った後に捕れた魚介類は特に注意が必要である。

G. 研究発表

7. 論文発表

Yuji inoue, Tamano Matui, Tomomichi Ono. An outbreak of *Vibrio vulnificus* infection in Kumamoto, Japan, 2001. *Archive of Dermatology* 投稿中

8. 学会発表

井上雄二、松井珠乃、小野友道。Vibrio Vulnificus 感染症患者の肝機能評価—アンケート調査を中心に—。第102回日本皮膚科学会学術大会、2003年5月23日（東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分 担 研 究 報 告

分担研究者：田 村 和 満（ 国立感染症研究所 ）

分担研究項目：

V.vulnificus (Vv) の分離法の検討および魚介類や環境中の汚染度の検討の概要

1) Vv の魚介類や環境中の汚染度の検討

これまでに、わが国の Vv の魚介類や環境中の実態調査報告は道家ら¹⁾、大中ら²⁾ の報告があるが、これらはわが国の特定地域での実態調査報告である。これらの報告からは Vv がどのような魚介類に汚染されているか、また Vv の生息環境（塩分濃度、海水温度）等についての総括的実態調査報告はない。したがって本研究は Vv の環境中での実態を全国レベルで把握するために企画された実態調査研究である。この研究の初年度である平成 14 年度の実態調査協力研究者はつぎのとおりである。

齊藤紀行（ 宮城県保健環境センター ）

浅井良夫（ 神奈川県衛生研究所 ）

福島博（ 鳥根県保健環境科学研究所 ）

宮坂次郎（ 熊本県保健環境科学研究所 ）

一年度目の本実態調査の主な目的は (1) Vv の全国的な分布および検出時期 (2) Vv の汚染魚介類の調査であった。

その結果、実態調査をおこなった 4 ケ所の成績を総合すると、つぎのような成績の傾向が得られた。

わが国の Vv の生息実態では Vv は *V.parahaemolyticus* (Vp) と同様に全国的に検出されるが、Vp より塩分濃度の弱い近海の汽水域に生息し、その生存温度も Vp よりは高く 20℃以上の海水温度で発育することが確認された。Vv の検出時期は 6 月～10 月でその魚種は魚より貝類の検出率が高い傾向が見られた。

以上の成績から二年度目の平成 15 年度は(1) 調査時期および検査の回数 (2) 検査地域

および環境条件の設定 (3) Vv の汚染検体としての魚介類の検討等について、より詳細な実態調査をおこなう予定である。

2) Vv の検査法の確立：協力研究者； 小川正行（川崎市衛生研究所）、田村和満

従来より Vv の選択分離培地としては mCPC, SPS 培地または Vp の選択分離培地またはその改良培地がその検査に用いられていた。しかしながら、以前からそれらのどの培地も選択分離培地に含まれている選択抑制剤がある分離菌株には抑制的に作用することがわかっていた。とくに臨床分離菌株ではその傾向が強かった(田村らの Vv の新しい選択分離培地—仮称 CB ager の開発研究報告を参照)。そこで全ての検体からの Vv の検査法の確立のための選択分離培地の研究開発をおこなった。その結果、Vv は Vp よりは発育条件、選択抑制剤に対し感受性が高いことがわかった。したがって開発選択分離培地は Vv のみを選択的に発育することは不可能なことが判明したので Vv と Vp およびその他のビブリオ菌種の鑑別は色調でおこない、その色調の鑑別がより鮮明になるような培地組成の開発、また本来発育があまり良くない Vv の集落の発育を良くするような培地組成になった。しかしながら多くの菌によって汚染されているような検体、または Vv の菌数が少ない検体ではその検出率に不安が残るため、本開発培地は直接塗布するのではなく、あらかじめ増菌培地および選択増菌培地の併用により、より Vv の検出率が向上することがその後の開発研究でわかった(小川らの Vv の選択増菌培地の検討の報告書を参照)。

なお、選択分離培地および選択増菌培地の評価は同一供試菌株で田村および小川の 2ヶ所で成績の確認がおこなわれたが、ほぼ同一の成績が得られた。

したがって、平成 15 年度の全国的な実態調査研究には本基礎的研究で得られた Vv の検査法である増菌培地および選択分離培地の併用を実検体で実施するよう、計画中であるが、それに使用される増菌および選択分離培地は同一成績を得るため、培地会社に特別注文し精度管理のされた培地を用いる予定である。

3) Vv の血清学的研究：協力研究者； 荒川英二（国立感染症研究所）、田村和満

Vv の疫学的解析のためには従来より O 抗原による O 群別法が用いられている³⁾。この O 抗原は現在 1~16 まで番号が付けられているが、今日まで重篤な敗血症からの分離菌は全て 1~7 までの O 抗原に該当していたため、およびこれらの抗血清作製に

多大な時間が必要なため、平成 14 年度は各協力研究班に分与した抗血清は 1～7 に留まった。その結果、各研究班の報告にあるように魚介類からの分離菌にはその他の血清型があることが判明したため、現在、型別不能菌株についてはその同定をおこなっている。さらに本研究班では平成 15 年度の各協力研究班に分与する抗血清の作製のための準備を引き続きおこなっている。

4) V v の分類学的再検討の研究：協力研究者；小迫芳正(理化学研究所)、田村和満

V v は乳糖を分解し *V. parahaemolyticus* の性状とは異なることから、1979 年に Farmer⁴⁾ が *V. vulnificus* と命名した。その後本菌には三種類の亜種が報告されている⁵⁾。しかしながら、これらの亜種間およびその他のビブリオ菌種との同定のための鑑別性状は必ずしも明快ではない。この理由として考えられることは本来、新菌種を検討するための分類学的研究は数値分類および遺伝学的分類の二種類の検討をおこない、両手法の分類学的考察が一致した場合に新菌種が提案されるべきであるが、これらの発表論文からは、特に遺伝学的な考察にウエイトが強いような感がある。したがって、そのような矛盾点を解明するために再分類をおこなっている。供試菌株は各種疾病から分離した菌株および類似菌株計 40 株を用い検討中であるが、なにぶん研究テーマが大きいため、現時点の実験成績からは考察が得られていない。

引用文献

- 1) 大仲賢二ら：*Vibrio vulnificus* 感染症に関する基礎的研究：海水、海泥およびカキからの本菌分離状況、感染症学雑誌 76,7, 528-535, 2002
- 2) 道家直ら：*Vibrio vulnificus* の環境・貝類中の分布・熊本県衛生公害研究所報 11, 20, 1981
- 3) Shimada T, et al. On the serology of *Vibrio vulnificus*. Jpa J Med Sci 37:241-246,1984
- 4) Farmer JJ: *Vibrio (Beneckeia) vulnificus*, the bacterium associated with sepsis, septicemia, and the sea, Lancet 2 : 3,1979
- 5) Bisharat N, et al. Clinical, epidemiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel, Lancet 354, 1421-1424, 1999

協力研究報告 - 1

厚生科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）分担研究報告書
ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な経口感染に関する研究

「宮城県内の市販魚介類及び海水・海泥からのビブリオ・バルニフィカスの検出」

研究協力者：齋藤紀行 佐々木美江 山口友美 有田富和

畠山敬 渡邊節 秋山和夫

（宮城県保健環境センター 微生物部）

研究主旨：基礎疾患を有するヒトへ重篤な感染を起こす *Vibrio vulnificus* について、宮城県内における沿岸部での生息状況と流通魚介類の汚染状況を把握することを目的とした。調査は、平成13年4月から平成15年2月までの約2年間にわたり、県内沿岸部1定点から定期的に採取した海水・海泥および市販流通魚介類を対象に *Vibrio vulnificus* と *Vibrio parahaemolyticus* の検出を行い、両者の検出状況を比較した。その結果、*Vibrio vulnificus* は調査定点での海水温が20℃を越す7月から9月の海水・海泥から高率に、また7月および9月の県内産アサリ3件からMPN値は低いものの *Vibrio vulnificus* が検出され、県内沿岸部にも *Vibrio vulnificus* が生息していること、また *Vibrio vulnificus* に汚染された流通品のあることが確認された。なお、*Vibrio vulnificus* の生息状況あるいは汚染状況と *Vibrio parahaemolyticus* との関連性については確認できなかった。

A. 研究目的

ビブリオ・バルニフィカス (*Vibrio vulnificus* : Vv と省略) は腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* : Vp と省略) と同じビブリオ属に分類され生化学的性状も非常によく似た海洋細菌である。また、Vv による感染症は Vp 感染症の原因と同様、魚介類の喫食により発症し、重篤な場合は急激な壊死性筋膜炎から敗血症を起こし死に至る。我が国での患者発生は過去20年間で約100件と少ないが、韓国では年間約35件¹⁾、米国では年間約90件の発生が報告されている²⁾。

我が国においては、平成13年、熊本県内で7月から10月にかけて魚介類の

生食を原因とする V_v 感染患者が 8 名発生しその内 3 名が死亡³⁾、また同時期に静岡県内でも 1 名患者が発生し死亡している。V_v 感染症は一種の日和見感染症であり、V_v 感染のハイリスク群として肝疾患あるいは糖尿病等の基礎疾患保有者が挙げられている。前述の感染事例死亡患者はいずれも肝臓障害の持病を持っていた。

我が国のハイリスク群は、C 型肝炎ウイルス感染者 100～200 万人、B 型肝炎ウイルス感染者 120～140 万人、糖尿病患者 700 万人、大量飲酒者 200 万人と推計されている^{4、5)}。さらに、日本人の食習慣に魚介類の生食があることから V_v 感染症が発生する可能性はこれまで確認された数字より高いと考えられる。

宮城県内ではこれまで V_v 患者発生が報告されていないことから、海洋あるいは沿岸環境での V_v 生息状況、また流通魚介類における V_v の汚染状況についての実態調査は行われていない。

そこで、V_v 感染症の発生予防の資料に供することを目的として、宮城県内の沿岸部の V_v 生息状況調査を定期的に 1 定点の海水・海泥について、また市中流通魚介類の V_v 汚染状況調査を市販魚介類について V_v 検索を実施した。なお、V_p の検出状況についても同時に調査した。

B. 研究方法

1. 調査期間

V_v 調査は平成 13 年 4 月から平成 15 年 2 月まで行った。ただし、食品については平成 13 年 6 月から平成 14 年 3 月まで、海水及び海泥については平成 13 年 7 月から平成 15 年 2 月まで実施した。

2. 調査定点

宮城県名取市閑上地区の増田川河口の汽水域を海水・海泥の検体採取定点とした。この地点は、太平洋に面し入り江になった漁港から約 100 m 川の上流に位置している。

3. 調査項目

(1) 定点における海水温度及び気温：検体採取時に測定した。

(2) *Vibrio parahaemolyticus* の菌数：最確数（MPN 3 本：MPN と省略）法で実施した。

(3) *Vibrio parahaemolyticus* 菌株の同定：生化学性状試験、食塩耐塩試験、血清

型及び腸炎ビブリオ特異遺伝子（LDH）、耐熱性溶血毒素遺伝子（TDH）を調べ同定した。

（４）*Vibrio vulnificus* の菌数：MPN法で実施した。

（５）*Vibrio vulnificus* 菌株の同定：生化学性状試験、食塩耐塩試験、血清型及び特異溶血毒素遺伝子（VVh）を調べ同定した。

4. 調査材料

（１）海水・海泥

月に１度、定点より海水約500ml、海泥約100gを採取し検体とした。

（２）市販流通魚介類食品

月に１度、小売店より産地が異なるかあるいは販売店が異なるアジ3～5匹を1検体とし2件、アサリ10～20個を1検体とし2件、また地元産海産物としてホタテ1～2枚を1検体とし1件あるいはホヤ等1個を1検体とし1件の合計5件を月1回購入し、対象食品とした。さらに、Vp食中毒事例等で当センターに検査品として搬入された県内産の魚介類の一部についても検査対象とした。

5. 検査方法

（１）使用培地：海水・海泥の増菌用としてアルカリペプトン水培地（APW：日水製薬）、分離用としてTCBS（栄研化学）、mCPC（Cellobiose-PolymyxinB-Colistin 変法寒天：日水製薬）培地を、菌株の生化学的性状の確認用として3%食塩加TSI（日水製薬）及び3%食塩加LIM（日水製薬）、0、6、8、10%食塩加ペプトン水（食塩耐塩試験用培地：Diffco）、及びアラビノース培地を用いた。

（２）海水：海水100mlに粉末のAPW 2gを加え原液（原）とし、さらに原を10倍、100倍（場合によっては1000、10000倍）に希釈し、各希釈濃度の3本を菌数測定用MPN管として培養した。翌日、各MPN管から1白金耳をTCBS及びmCPC培地に接種し、培養した。翌日、TCBS培地からVpを疑うコロニーを、またmCPCからVvを疑うコロニーを釣菌し、生化学的性状確認用培地に接種した。翌日、生化学性状試験の結果からVp及びVvを同定し、それぞれの菌が検出されたMPN管を判定し、換算表からMPN値を算出し、海水1ml当たりの菌数とした。方法の詳細は図1に示した。

（３）海泥：海泥20gをAPW 180mlに加えこれを10倍液とし、100倍、1000倍の希釈液を調整後、海水の場合と同様にしてVv、Vpの1g当たりのMPN値を求めた。方法の詳細は図1に示した。

(4) 食品：アジはエラを、アサリはむき身を、ホタテは中腸腺を、ホヤはむき身をそれぞれの検査対象材料として無菌的に採取し、25gを滅菌済のストマッカー袋に計量した。次に、それぞれにAPW 225mlを加え、袋の上から手揉みにより混和した。これを10倍希釈液とし、さらにAPW液で100倍、1000倍の希釈液を調整し、海水の場合と同様にV_v、V_pの1g当たりのMPN値を求めた（生食用魚介類の成分規格規準による）。方法の詳細は図1に示した。

(5) 菌種の同定：TCBS培地で緑色を呈したコロニーを生化学性状確認用培地に接種し、ブドウ糖分解、乳糖・蔗糖非分解、リジン脱炭酸陽性、インドール産生、運動性陽性を示し、3～8%食塩加TSI培地、ペプトン水で発育、0及び10%食塩加ペプトン水で非発育、アラビノース分解の性状を示す菌株をV_pとした。一方、mCPCで薄黄色の扁平なコロニーを生化学性状確認用培地に接種し、ブドウ糖分解、乳糖・蔗糖非分解、リジン脱炭酸陽性、インドール産生、運動性陽性を示し、3～6%食塩加TSI培地、ペプトン水で発育、0、8及び10%食塩加ペプトン水で非発育、アラビノース非分解の性状を示した菌株をV_vとした。さらにV_pは市販抗血清（デンカ生研）でO（11種）及びK（74種）抗原型を、V_vは国立感染症研究所より分与された抗血清（1～7型）でO抗原型を決定した。

(6) 遺伝子検索：PCR法によりV_vの菌株はV_v特異溶血毒素遺伝子VVh⁶⁾を、V_pは特異遺伝子LDH⁷⁾の確認を行った。

C. 研究結果

1. 食品からのV_pとV_vの検出状況

市販流通魚介類のV_pとV_v汚染状況調査の定性及び定量試験の結果を表1に示し、食品毎のV_p及びV_vの検出状況を表2・表3に示した。検査したアジは全てが県外産で、8～11月の8検体のうち5検体からMPN値は3.6～15と低値であったがV_pが検出されたのに対して、V_vは6～3月に検査した19検体全てから検出されなかった。アサリは県内産、県外産ともに、7～9月の6件全てからV_pが検出され、9月の1件はMPN値が240と高値を示した。一方、V_vは県内産の7月の1件と9月の2件の合計3件（3/6：検出率50%）から検出された。次に、県内産の海産物21件について調査を行った結果、計11件からV_pが検出された（7月のタコ、ホタテそれぞれ1件から、9月のホタテ6件、10月のカキ3件）。7月のタコは食中毒事件の原因食品でMPN値が93で、T

DH陽性の血清型 O3:K6 の Vp であった。また、10月のカキ3件は食中毒関連食品として調査し、MPN値が460と高濃度に汚染された1検体も確認され、その菌株はTDH陽性、血清型 O3:K6 であった。なお、両食中毒事件の患者からTDH陽性の Vp O3:K6 菌株が検出されていた。このタコ及びカキ以外から検出された Vp の菌株は全てTDH陰性であった。しかし、県内産の海産物21件から Vv は全く検出されなかった。

2. 海水・海泥における Vp 及び Vv の生息状況

調査定点の海水あるいは海泥における Vp 及び Vv の検出状況を年度別に図2～5に示した。検出菌数は海水（1ml当たり）及び海泥（1g当たり）中のMPN値として棒グラフで、また調査定点の海水温を折れ線グラフで示した。

調査定点は小河川の河口で入り江になった場所のため、海水温は気温に左右されており、海水温と気温がほぼ同じであったことから、図には気温を省略し海水温を示した。

平成13年度は、5月から海水温は20℃を超え、7月に入り暑い日が続き海水温も最高温度を示し、その後20℃以上の水温が9月まで続いた。10月以降、温度は低下し、11月から3月までは15℃以下の水温であった。

海水からの Vp 検出状況は、9月がピーク（MPN/ml値：110）で海水温は27℃であった。海泥中の Vp は12月～2月を除く3月～11月までの検体から検出され、MPNのピークは海水と同様に9月（MPN/g値：1400）であった。

一方、海水及び海泥からの Vv は7月から9月の検体からのみ検出され、MPN値は Vp に比べ低く8月の海泥検体の44が最高値であった。

平成14年度の7月～10月までの4ヶ月間は20℃を越えたが、検体採取日に30℃を越えることはなく、11月からは急激に気温が下がり、海水温度も低下した。Vp 及び Vv の検出状況は平成13年と同じ傾向を示し、Vp は海水から6月～10月、海泥から5月～12月に、Vv は海水で6月～11月、海泥で5月～10月に検出された。Vp 及び Vv のMPN値は共に海水温が24℃以上であった7月～9月に高値となった。

3. 検出した Vv 菌株

Vv は、平成13年度の県内産アサリ3件、海水3件及び海泥3件から、平成14年度の海水5件及び海泥5件の合計19件から24菌株検出された。

平成13年度の海泥、アサリから検出した Vv 8菌株と対照として平成13年