

Vibrio vulnificus の検出状況と分離株の性状

分離月	水温(°C)	検体番号	由来	菌数 (MPN/g)	菌株番号	血清型	8%NaCl発育	40°C発育	Lactose	Cellobiose	PCR**		
											VVh	16S-23S	
6月	不明	3	試買アサリ(静岡県)	3.6	6-44	UT*	-	+	+	+	-	+	
7月	31.1	12	アサリ(海の公園・東京湾)	3.6	7-3	UT	-	+	+	+	+	+	
					7-4	O4	-	+	+	+	+	+	+
9月	不明	13	アオヤギ(海の公園・東京湾)	9.1	7-9	UT	-	+	+	+	+	+	
					7-38	O4	-	+	+	+	+	+	+
					9-5	UT	-	+	+	+	+	+	+
					9-6	UT	-	+	+	+	+	+	+
10月	21.8	21	試買アサリ(千葉県)	3	9-7	UT	-	+	+	+	+	+	
					9-20	O1	-	+	+	+	+	+	+
					9-21	O7	-	+	+	+	+	+	+
					9-63	O6	-	+	+	+	+	+	+
10月	21.8	23	アサリ(海の公園・東京湾)	15	9-27	UT	-	+	+	+	+	+	
					9-31	O6	-	+	+	+	+	+	+
					9-32	O4	-	+	+	+	+	+	+
					9-33	O7	-	+	+	+	+	+	+
10月	21.8	24	アオヤギ(海の公園・東京湾)	11	9-38	UT	-	+	+	+	+	+	
					10-5	O4	-	+	+	+	+	+	+
		25	カガミ貝(海の公園・東京湾)	9.1									
		32	アオヤギ(海の公園・東京湾)	3									

*UT : O1~O7(-)

**+ : 1~5日で(+)

***PCR : VVhは *V. vulnificus* の cytotoxin-hemolysin 遺伝子、16S-23Sは *V. vulnificus* の 16S rDNA と 23S rDNA 間の DNA

調査結果

	検体種類	採取月	入手場所	産地	海水温	Vv (MPN/g)	Vp (MPN/g)	tdh(+)	備考
1	アサリ	6月	海の公園	東京湾	20	<3	43	-	10°Cで保管(3日)
2	アオヤギ	6月	海の公園	東京湾	20	<3	2,400	-	10°Cで保管(3日)
3	アサリ	6月	小売り(魚栄)	静岡県		3.6	<3		8°Cで保管(1日)
4	アジ	6月	小売り(魚栄)	相模湾		<3	<3		8°Cで保管(1日)
5	小アジ	6月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
6	イシモチ	6月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
7	アジ	7月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
8	アオアジ	7月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
9	カマス	7月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
10	アジ	7月	小売り(魚徳)	相模湾		<3	<3		10°Cで保管(2日)
11	アサリ	7月	小売り(魚栄)	静岡県		<3	3.6	-	10°Cで保管(2日)
12	アサリ	7月	海の公園	東京湾	31.1	3.6	3.6	-	
13	アオヤギ	7月	海の公園	東京湾	31.1	9.1	9.1	-	
14	海水	7月	海の公園	東京湾	31.1	<0.3/ml	0.91/ml	-	
15	小アジ	8月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
16	サバ	8月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3		冷凍保管(2日)
17	アサリ	8月	海の公園	東京湾	26.8	<3	43	-	
18	アオヤギ	8月	海の公園	東京湾	26.8	<3	43	-	
19	海水	8月	海の公園	東京湾	26.8	<0.3/ml	2.3/ml	-	
20	カガミ貝	8月	海の公園	東京湾	26.8	<3	9.1	-	
21	アサリ	9月	ヨークマート六会店	千葉県		3	9.1	-	10°Cで保管(1日)
22	アジ	9月	ヨークマート六会店	相模湾		<3	3.6	-	10°Cで保管(1日)
23	アサリ	9月	海の公園	東京湾	26.5	15	43	-	
24	アオヤギ	9月	海の公園	東京湾	26.5	11	9.1	-	
25	カガミ貝	9月	海の公園	東京湾	26.5	9.1	7.3	-	
26	海水	9月	海の公園	東京湾	26.5	<0.3/ml	2.3/ml	-	
27	アジ	9月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	3.6	-	冷凍保管(7日)
28	ウルメイワシ	9月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	3.6	-	冷凍保管(7日)
29	アジ	9月	小売り(魚三)	相模湾		<3	9.1	-	冷凍保管(7日)
30	ウルメイワシ	9月	小売り(魚三)	相模湾		<3	9.1	-	冷凍保管(7日)
31	アサリ	10月	海の公園	東京湾	21.8	<3	9.1	-	
32	アオヤギ	10月	海の公園	東京湾	21.8	3	<3	-	
33	カガミ貝	10月	海の公園	東京湾	21.8	<3	<3	-	
34	海水	10月	海の公園	東京湾	21.8	<0.3/ml	9.3/ml	-	
35	アサリ	10月	相鉄ローゼン六会店	静岡県		<3	3.6	-	10°Cで保管(1日)
36	アジ	10月	相鉄ローゼン六会店	相模湾		<3	11	-	10°Cで保管(1日)
37	アジ	10月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	10°Cで保管(1日)
38	カタクチイワシ	10月	小売り(魚三)	相模湾		<3	7.3	-	10°Cで保管(1日)
39	アジ	10月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	3.6	-	10°Cで保管(1日)
40	カゴカキダイ	10月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3	-	10°Cで保管(1日)
41	アサリ	11月	海の公園	東京湾	16	<3	<3	-	
42	アオヤギ	11月	海の公園	東京湾	16	<3	3.6	-	
43	カガミ貝	11月	海の公園	東京湾	16	<3	3	-	
44	海水	11月	海の公園	東京湾	16	<0.3/ml	<0.3/ml	-	
45	アサリ	12月	7ジスーパー善行店	千葉県		<3	<3	-	
46	アジ	12月	7ジスーパー善行店	千葉県		<3	<3	-	
47	アサリ	12月	相鉄ローゼン六会店	静岡県		<3	<3	-	
48	小アジ	12月	相鉄ローゼン六会店	相模湾		<3	<3	-	
49	アジ	12月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(7日)
50	イワシ	12月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(7日)
51	アサリ	12月	海の公園	東京湾	13.1	<3	<3	-	
52	アオヤギ	12月	海の公園	東京湾	13.1	<3	<3	-	
53	カガミ貝	12月	海の公園	東京湾	13.1	<3	<3	-	
54	海水	12月	海の公園	東京湾	13.1	<0.3/ml	<0.3/ml	-	
55	アジ	1月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(6日)
56	エボダイ	1月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(6日)
57	イシモチ	1月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(6日)
58	アサリ	1月	海の公園	東京湾	10.5	<3	<3	-	
59	アオヤギ	1月	海の公園	東京湾	10.5	<3	<3	-	
60	カガミ貝	1月	海の公園	東京湾	10.5	<3	<3	-	
61	海水	1月	海の公園	東京湾	10.5	<0.3/ml	<0.3/ml	-	
62	アサリ	2月	海の公園	東京湾	11	<3	<3	-	
63	アオヤギ	2月	海の公園	東京湾	11	<3	<3	-	
64	カガミ貝	2月	海の公園	東京湾	11	<3	<3	-	
65	海水	2月	海の公園	東京湾	11	<0.3/ml	<0.3/ml	-	
66	カワハギ	2月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(2日)
67	カマス	2月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(2日)
68	アジ	2月	小売り(磯崎)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(2日)
69	アジ	3月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(2日)
70	ムツ	3月	小売り(魚三)	相模湾		<3	<3	-	冷凍保管(2日)
71	アサリ	3月	海の公園	東京湾	17	<3	<3	-	
72	アオヤギ	3月	海の公園	東京湾	17	<3	<3	-	
73	カガミ貝	3月	海の公園	東京湾	17	<3	<3	-	
74	海水	3月	海の公園	東京湾	17	<0.3/ml	<0.3/ml	-	

協力研究報告 - 3

平成14年度厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業報告書

研究課題:ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な経口感染症に関する研究

分担する研究項目: *V. vulnificus* の分離法の検討及び魚介類や環境中の汚染度の検討

魚介類における *Vibrio vulnificus* の疫学調査

島根県保健環境科学研究所

感染症疫学科

協力研究員 福島博

1. 目的

Vibrio vulnificus(以下 Vv)の魚介類における汚染状況を把握するために、島根県で漁獲された魚介類におけるVvの分布状況とその季節性を把握する。更に、塩分濃度と水温、腸炎ビブリオ(以下 Vp)などとの生存環境との関係を把握する。

2. 材料および方法

2. 1. 調査1:魚介類におけるVvの汚染調査

2. 1. 1. 調査時期 (表1)

2001年6, 7, 8, 9, 10, 11, 12月及び2002年1, 2, 3月の10回で各5検体以上採取した。

2. 1. 2. 魚介類の種 (表1)

島根半島沖で漁獲される魚類のうちアジを毎月2~3検体とイワシ、カレイ、ハマチ、シイラ、サバ、カツオを検体とした。貝類についてはアサリが指定されていたが、島根県にはアサリ生産地がないため、サザエ、カキ、ハマグリを検体とした。さらに、汽水湖である宍道湖に生息する魚類のうちコノシロ、ボラ、フナ、スズキを検体とした。

2. 1. 3. 検体の入手先 (表1)

魚介類の大半は小売店とスーパーで産地が分かるものを購入した。コノシロとボラおよびフナの一部は島根県内水面水産試験場で生態調査の目的で漁獲されたものを、シイラとサバ、カツオは恵曇漁港に陸揚げされたものを入手した。

2. 1. 4. 検体の取り扱い

魚類はエラを、貝類は殻をむいた全体を用いストマッカー袋で揉みだし検体とした。両者と

も複数の検体を集め25gを1件とし検査に供した。

2. 2. 調査2: 島根県の沿岸に生息する貝類における Vv の汚染調査

2. 2. 1. 調査時期

2002年6月と7月の2回実施した。

2. 2. 2. 検査地点 (表4、図1)

島根県沿岸の河川の河口付近または港湾の30地点において貝類を採取し、海水の塩分濃度と水温を測定した。

2. 2. 3. 貝の種 (表5)

島根県の沿岸の多くは岩礁地帯であり遠浅の砂浜が少なく、アサリなどのハマグリ目の生息地は少なく、岩礁に生息する巻貝と港湾等に生息するカキ、ムラサキイガイなどの二枚貝を対象とした。巻貝はニナガイ28件とカサガイ17件、スガイ6件、イシマキガイ1件および二枚貝はカキ10件とムラサキイガイ11件の合計74件を採取した。

2. 2. 3. 検体の取り扱い

検体の採取は7保健所に依頼した。検体は午前中に採取しアイスボックスに入れ、その日のうちに実験室に搬入し、検査に供した。殻をむくことが容易なカサガイ、イシマキガイ、カキ、ムラサキイガイは殻をむいた全体を材料とした。殻をむくことが困難なニナガイとスガイはハンマーで叩きつぶしたものを材料とした。貝の全重量の3/4を殻とみなし、1/4を材料の重量とした。

2. 3. 検査法

2. 3. 1. 培養法による最確数(MPN, 3本法)の測定

検体25gをストマカー袋に入れ、手で揉みだした後、225 mlの自家製アルカリ性ペプトン水(Bacto peptone (Difco) 10 g, NaCl 10 g, pH 8.8)を加え、激しく振り浮遊液を作成した。この浮遊液の10段階希釈液をアルカリ性ペプトン水10 ml(3本)に加え37°C一昼夜増菌培養し10 g当たりの最確数(MPN, 3本法)を算出した後、1 g当たりのMPNを求めた。増菌液はVvの培養のためmCPCとVVM、Vpの培養のためTCBSとクロモアガービブリオに塗布し、37°C一昼夜培養した。mCPC 培地またはVVM 培地で黄色いコロニーが確認されたらVvと考えMPNを算出した。また、3~5コロニーを釣菌し、TSI 寒天培地、SIM 確認培地、LIM 培地及び0, 3, 8, 10% 食塩加 Nutrient broth に培養し同定を行った。TCBS で緑色のコロニーとクロモアガービブリオで紫色のコロニーが確認されたらVpと考えMPNを算出した。

2. 3. 2. PCR 法による最確数((PCR-MPN 3本法)の測定

増菌液1 mlを12,000回転2分間遠心分離して得た遠心沈渣を滅菌生理食塩水で洗浄し、12,000回転2分間遠心分離した後、遠心沈渣を200 μlの精製水に浮遊したものを100°C、10分加熱後10,000回転1分間遠心し、PCRの鋳型として用いた。Vvの検出にはHillらのcytotoxin-hemolysin gene 検出プライマーを用い、熱変性94°C、8秒間、アニーリング69°C、10秒間、DNAの伸長72°C、20秒間の3ステップを30サイクル繰り返した後、最終伸長を72°C、5分間行った。Vpの検出にはKimらのtoxR gene 検出プライマーを用い、熱変性94°C、1分、

アニーリング63℃、1.5分間、DNAの伸長72℃、1.5分間の3ステップを20サイクル繰り返した後、最終伸長を72℃、5分間行った。PCR増幅産物はサブマリン電気泳動を行い、陽性コントロールの増幅産物のバンドと比較し判定した。MPN-PCR陽性の試験管数を基にMPNを算出した。

3. 結果

3. 1. 調査1:魚介類におけるVvの汚染調査

3. 1. 1. 検出率 (表1)

海水産の魚介類54検体と汽水産の魚類11検体、合計65検体を調査した。海水産の魚介類はアジ23件、サザエ10件、カキ6件、ハマグリ3件、アジ以外の魚12件であった。汽水産の魚はフナ5件、スズキ3件、コノシロ2件、ボラ1件であった。Vvは培養法により11件(17%)から分離され、PCR法により13件(20%)から検出された。合計14件(22%)から分離または検出された。海水産の魚介類ではアジ4件(17%)、サザエ4件(40%)、カキ2件(33%)から検出されたが、ハマグリとアジ以外の魚からは検出されなかった。汽水産の魚ではコノシロ、ボラ、フナから検出された。

3. 1. 2. 月別検出率 (表1, 図2)

Vvの検出率は2001年6月に60%、7月に67%、8月に20%、9月に22%、10月に33%、10月～2002年3月に0%であり、Vvは6月～10月の間に検出された。通年調査したアジからは8月～10月に57%から検出された。サザエとカキからは6月、7月、10月に検出された。この時期の海水温は恵曇漁港の港内で朝8時半に20℃以上であった。汽水産の魚のうちVvが検出されたコノシロとボラ、フナは宍道湖で7月に漁獲されたものであったが、1月と2月に漁獲されたフナからはVvは検出されなかった。

3. 1. 3. 検出菌量 (表2)

汽水産の魚から検出されたVvの菌量は海水産の魚介類のそれに比較し多かった。7月に宍道湖で漁獲されたコノシロとフナ、ボラからPCR法により $10^2 \sim 10^5$ 個以上/g検出されたが、海水産のアジ、サザエ、カキからの検出菌量は 10^1 個以下/gであり、そのほとんどは 10^1 個/gであった。検出菌量は検査法により異なった。培養法ではコノシロとフナから $10^1 \sim 10^4$ 個/gとPCR法よりも少なく検出された。PCR法でVvのcytotoxin-hemolysin geneが検出されても、選択分離培地に発育できないVvの菌株があった。また、選択培地に発育し、Vvと同定された菌株のなかにはPCR法でcytotoxin-hemolysin geneが検出されない菌株も存在した。そのため菌数の測定には両法を併用し、高い値を用いた。

3. 1. 4. 腸炎ビブリオ(Vp)との関係 (表3, 図3)

Vvは魚介類の22%から検出されたが、VpはVvの2倍の44.6%から検出された。汽水産の魚種からはVvのみが検出された。アジ以外の海水産の魚種からはVpのみが検出された。アジ、サザエ、カキからは両者が検出されたが、Vvの汚染菌量はほとんどの例でVpよりも1～2オーダー少なかった。

3. 2. 調査2: 島根県の沿岸に生息する貝類における Vv の汚染調査

3. 2. 1. 検出率 (表6)

Vv は74件中49件(66%)から検出され、巻貝53件中32件(60%)、二枚貝21件中17件(81%)から検出され、二枚貝からの検出率は巻貝のそれに比較し高かった。巻貝ではニナガイ28件中16件(57%)、カサガイ17件中11件(65%)、スガイ6件中5件(83%)、イシマキガイ1件中1件(100%)から検出された。二枚貝ではカキ10件中8件(80%)とムラサキイガイ11件中9件(82%)から検出された。

3. 2. 2. 月別検出率

6月と7月に検体を採取したが、両月における検出率には差は認められなかった。

3. 2. 3. 検出菌量 (表6)

検出菌量は巻貝と二枚貝ともに最高 10^4 個/gであったが、巻貝では $10^0 \sim 10^1$ 個/g 検出されたものが多かったが、二枚貝では 10^2 個以上/g 検出された頻度が高かった。また、二枚貝からの 10^4 個/gの検出頻度は巻貝の2倍であった。

3. 2. 4. Vv 及び Vp の分布と水温との関係 (図4, 5)

海水温は $19 \sim 32^\circ\text{C}$ で平均 24.7°C であった。海水温はほとんどの地点でVvおよびVpが旺盛な増殖をはじめめる水温の 20°C を越しており貝からは最高で 10^4 個/g 検出された。水温の高い水域では水温の低い水域で採集された貝からよりも多くの菌量が検出された例もあった。

3. 2. 5. Vv 及び Vp の分布と塩分濃度との関係 (表4, 7, 8, 図4, 6)

塩分濃度は $0.24 \sim 33.4\%$ で平均 15.4% であった。Vvは49件(66%)から検出されたのに対し、Vpは67件(94%)から検出され、Vvの分布は塩分濃度に影響されることが示唆された。すなわち、塩分濃度が 5% 以下の汽水域と 23% 以上の沿岸で採集されたニナガイとカサガイからはVvが検出されない頻度が高いが、塩分濃度が $5 \sim 25\%$ の海岸で採集された貝のほとんどからはVvが検出された(図4)。またこの現象はカキやムラサキイガイでも認められた。いっぽう、Vpは塩分濃度の高い沿岸でも検出され、塩分濃度が低い河口付近でもVvよりも高頻度に検出された。図5に貝におけるVvとVpの保菌量の関係を示した。Vvが検出されない貝からもVpは 10^3 個以下/gで検出された。これらの貝は上述した塩分濃度が 5% 以下の汽水域と 23% 以上の沿岸で採集されたものであった。また、塩分濃度が $5 \sim 25\%$ の沿岸に生息する貝類においては両菌種の保菌量はほぼ相関した。

3. 2. 6. 生存環境が Vv の分布に及ぼす影響

表9に貝の採集地域におけるVvの検出状況を示した。島根県沿岸から選定した30調査地点(図1)は大～中規模河川の河口域と小規模河川が流入するか又はしない海岸の二つに分けられた。益田、浜田、県央、出雲地域(図1のA～Q)の調査地点は前者に、出雲、松江地域の島根半島の北部沿岸(図1のR～ZA)と隠岐島(図1のZCのZD)は後者に属した。後者の地点では海水の塩分濃度が高く、ニナガイとカサガイからのVvの検出率が低く検出量も少なかった。特に、隠岐島の島後地区(図1のZB)の西郷湾では流入河川の河口付近で採集し

たスガイから Vv が検出されたが、大きな川がない隠岐島の島前地区の湾や港では Vv はほとんど検出されなかった。島前地区の湾や港の塩分濃度は通常30‰以上であり Vp は分布しているが、Vv は諏訪湾でニナガイとスガイ1件ずつから少量の菌が検出されたに過ぎず、浦郷湾では全く検出されなかった。浦郷湾では降雨により塩分濃度が7月に3.7‰まで下降し、Vv の増殖に適した環境が出現したにもかかわらず Vv は検出されなかった。

4. 考察

今回の調査では島根県で流通している魚介類における Vv の汚染状況を解明する目的で、小売店やスーパーで市販されている魚類のうちアジを中心に調査した。また、調査する貝類としてアサリが指定されていたが、島根県沿岸ではアサリの生息地がほとんどなく他県産のアサリが市販されており、アサリの代わりに島根県沿岸で漁獲され刺身用としても市販されているサザエと隠岐島や島根半島沿岸で養殖され市販されているカキについて調査した。また、汽水湖である宍道湖で生態調査の目的で漁獲されたコノシロ、ボラ、フナなどの汽水産魚類についても調査した。調査の結果、Vv は水温が20℃を越す7月に宍道湖で漁獲されたコノシロとボラ、フナの全例から 10^5 個以上/g の Vv が検出されたが、冬季に刺身用として市販されていたフナからは検出されなかった。また、日本海で漁獲されたアジについての通年の調査では Vv は8月から10月に7件中4件(57%)から検出されたが、汚染菌量は1件で 10^1 個/g、他の3件で 10^{-1} 個/g と極めて少ない菌量であった。Vv が検出された時の海水温は20℃を越していた。アジなどのように沖合で漁獲される魚種の Vp 汚染は漁港で施設や魚類の洗浄水として使用される海水の Vp 汚染に起因していると指摘されている。今回調査したアジは Vp や Vv が分布していない沖合で漁獲されたものであり、Vv 汚染も Vp 汚染と同様に漁港での二次汚染によるものと推察された。また、サザエとカキからも少量の菌が検出されたが、その検出率はサザエで40%、カキで33%と高いものであった。これらの貝類は Vv が分布する沿岸で漁獲または養殖されたものであり生息環境で Vv に汚染していたものと推察されるが、一部の菌は漁港や市場などのイケスや洗浄水により二次汚染したとも考えられる。しかし、これらの点については今回の調査では明らかにできなかった。

ビブリオ属の菌の多くは環境温度が低下すると「生きているけれども培養できない状態」(Viable but nonculturable, VNC)に陥り、その生菌数は急速に減少することが報告されている。ビブリオ属の低温に対する感受性は種により異なり、水温が20℃以下になると Vv が、15℃以下になると Vp が徐々に VNC へ移行する。また、10℃以下の環境でも Vp は Vv より長期間生残する。今回の調査で Vv に比較し低温でも長期間生残する Vp の汚染率はアジ44%、サザエ70%、カキ100%であったが、Vv ではそれぞれ17%、40%、33%と Vp の汚染率の1/2~1/3で、汚染菌数は Vv が Vp よりも1~2オーダー少なかった。これらの魚介類は生産から購入までの数日間冷蔵保存されていたものであり、今回の成績は漁獲または収穫時の貝類における Vv および Vp の汚染菌数を反映したのではなく、その数は検査結果よりも多かったものと推察される。われわれのこれまでの環境調査では海水温が20℃を越す6月から10月の

沿岸ではVvおよびVpの生菌数は 10^2 個/mlまで増加しており、そこに生息する魚介類はほぼ同数のVvとVpに汚染されるものと推察される。このことから小売店等で冷蔵販売されている魚介類を汚染するVvはVpよりも速やかに減数しているものと推察されるが、これらの現象は漁獲または収穫時の貝類における汚染実態との比較や冷蔵保存実験によって実証する必要がある。

調査1においてVvは魚類よりも貝類に高率に保菌されていることを明らかにし、魚類よりも貝類を調査することにより沿岸でのVvの分布や生態をより確実に把握できることが示唆された。調査1で対象貝類としてアサリが指定されていたが、日本海側の山陰海岸は岩礁地帯が多くまた潮の干満の差も少ないためアサリの生息地がほとんどなく、代替貝類として岩礁地帯に生息し食用にも供されるニナガイなどの巻貝や港湾の堤防やテトラポット等に生息するカキやムラサキイガイなどの二枚貝が使用できるかを検討した。島根県沿岸の河川の河口付近または港湾の30地点において貝類の採集を試み、2地点を除いた調査地点でニナガイとカサガイ、スガイ等の巻貝およびカキやムラサキイガイ等の二枚貝のうちいずれかの貝を採集し、VvとVpの汚染調査に供することができた。最確数法による定量検査の結果、検査した貝の96%から 10^{-1} ~ 10^4 個/gのVvまたはVpが検出され、巻貝からはVvが64%とVpが92%、二枚貝ではVvが81%とVpが100%から検出され、これらの貝類を採集し調査することにより、VvとVpの沿岸における分布状況を容易に把握できることが示唆された。これらの野生の貝類におけるVvとVpの生態を解析することにより、食用に供されるサザエ、アワビ、ニナガイ等の巻貝やカキ、ムールガイ(ムラサキイガイ)、アサリ等の二枚貝におけるVvとVpの生態の解析に役立てることができるであろう。

今回の調査では30地点において貝の種類と水温、塩分濃度を調査し、これらの環境因子とVvおよびVpの検出率ならびに検出菌数との関係について検討した。調査はVvとVpが旺盛に増殖する6月と7月に行ったため、海水温は $19\sim 32^{\circ}\text{C}$ 、平均 24.7°C であり、海水温の変動によるVvおよびVpの消長に関する知見は得られなかったが、貝からは最高で 10^4 個/g検出され、水温の高い水域の貝から多くの菌数が検出される傾向が示された。調査地点は大型河川の河口付近と中小河川が流入する漁港、さらに川が流入していない島根半島の漁港や隠岐島・島前地区の浦郷湾などと様々で、海水の塩分濃度は $0.24\sim 33.4\%$ で平均 15.4% であり、貝におけるVv及びVpの保菌率や保菌量に与える影響を検討することができた。ニナガイとカサガイは河口付近から川の流入がなく塩分濃度が高い沿岸までの広範な地域に生息しているため、塩分濃度がビブリオ属の貝類における保菌に及ぼす影響を検討するのに適した種類であると考えられた。Vvは塩分濃度が $5\sim 25\%$ の海岸で採集されたニナガイやカサガイのほとんどから検出されたが、この塩分濃度よりも低い河口付近とより高い沿岸で採集されたニナガイとカサガイからはVvが検出されないことが多かった。カキやムラサキイガイでも塩分濃度が 29% 以上の島根半島や隠岐島・浦郷湾で採取されたものからはVvは検出されなかった。いっぽう、Vpは塩分濃度が極端に低い河口付近を除いたほとんどの沿岸で採集された貝から検出され、このことはVpがVvに比較し塩分濃度がより低い海域からより高い海域にわたり広

範囲に分布できることを示している。また、塩分濃度5～25‰の沿岸に生息する貝類からは両菌種がほぼ同数検出された。このような海域で漁獲または収穫さ

れたサザエやカキなどはほぼ同数の両菌種に汚染されているものと推察される。市販されている貝類のほとんどは沿岸で捕獲または養殖されているものと考えられ、これらの貝類が V_p に汚染されておれば V_v にも汚染されている可能性が高いと推察されるが、25‰を越す高塩分濃度では V_v が検出されないこともあり、V_p を V_v の汚染指標菌としてすべての事例に採用することはできないものと考えられる。

表1. 魚介類からの*V.vulnificus*の月別検出状況

漁獲地	入手先	魚種	検 体 数	陽性	陽性検体数/検体数(検体購入年月)											
					2001年						2002年					
					6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月		
宍道湖	内水面水産 試験場	コノシロ	2	2		2/2										
		ボラ	1	1		1/1										
		フナ	1	1		1/1										
	小売店	フナ	4	0									3		1	
	小売店	スズキ	3	0					1	2						
島根半島沿岸	小売店	サザエ	10	4	3/3				3	1/2	2					
隠岐島	小売店	カキ	6	2		2/3	3									
浜田漁港沖		ハマグリ	3											3		
島根半島沖	小売店	アジ	23	4	2	2	1/2	2/3	1/2	2	3	2	2	3		
		イワシ	2												2	
		カレイ	2										1	1		
	小売店	ハマチ	2	0					1			1				
	漁港	シイラ	1	0				1								
	漁港	サバ	2	0				2								
	漁港	カツオ	3	0							3					
合計			65	14	3/5	6/9	1/5	2/9	2/6	6	6	6	7	6		

表3. 魚介類からの *V. vulnificus* と腸炎ビブリオの検出状況

魚種	検体数	陽性検体数 (%)		
		合計	<i>V. vulnificus</i>	腸炎ビブリオ
コノシロ	2	2 (100)	2 (100)	(0)
ボラ	1	1 (100)	1 (100)	(0)
フナ	5	1 (20)	1 (20)	(0)
スズキ	3	1 (33.3)	(0)	1 (33.3)
サザエ	10	7 (70)	4 (40)	7 (70)
カキ	6	6 (100)	2 (33.3)	6 (100)
ハマグリ	3	0 (0)	(0)	(0)
アジ	23	11 (47.8)	4 (17.4)	10 (43.5)
イワシ	2	0 (0)	(0)	(0)
カレイ	2	0 (0)	(0)	(0)
シイラ	1	1 (100)	(0)	1 (100)
サバ	2	2 (100)	(0)	2 (100)
ハマチ	2	1 (50)	(0)	1 (50)
カツオ	3	1 (33.3)	(0)	1 (33.3)
合計	65	34 (52.3)	14 (21.5)	29 (44.6)

表4. 島根県沿岸の河川の河口付近での貝類のビブリオ汚染調査

		調査地点	塩分濃度‰	水温	平均MPN (log10)/g	
					V.v	V.p
益田	A	沖田川	13.7	25.0	1.4	4.4
	B	津田川	6.0	27.6	2.6	1.2
	C	益田川	3.8	27.5	未採集せず	未採集せず
	D	高津川	3.9	24.5	未採集せず	未採集せず
浜田	E	岡見川	25.2	31.0	3.7	4.0
	F	三隅川	3.6	27.0	3.2	3.2
	G	周布川	17.4	26.5	1.9	4.0
	H	浜田川	28.3	28.5	4.0	3.5
県央	I	江の川	11.4	—	2.4	1.7
	J	湯里川	2.5	22.5	0.1	-0.5
	K	潮川	17.7	25.8	0.0	1.7
	L	静間川	15.4	25.0	-0.7	1.5
出雲	M	羽根川	4.3	26.0	0.3	1.7
	N	田儀川	8.7	23.5	3.5	4.0
	O	差海川	12.3	26.8	3.6	3.1
	P	神戸川	0.5	26.5	3.7	陰性
松江	Q	堀川	2.4	24.5	3.9	2.7
	R	鷺浦漁港	10.5	22.5	0.8	1.0
	S	十六島漁港	15.1	22.8	1.5	1.9
	T	塩津漁港	15.9	22.0	0.0	1.5
	U	三津漁港	17.6	22.4	陰性	0.8
	V	揖屋谷川	22.7	23.6	1.8	1.6
	W	七類漁港	27.4	22.7	0.0	1.4
	X	笠浦漁港	29.9	23.5	-0.4	0.1
	Y	千酌路川	25.7	23.8	陰性	陰性
	Z	森田川	21.7	23.1	-0.5	0.1
隠岐	ZA	佐陀川	31.7	24.3	1.4	1.5
	ZB	諏訪湾	29.8	22.5	0.3	3.0
	ZC	浦郷湾	17.6	21.5	陰性	1.8
	ZD	八尾川	18.6	23.0	3.0	2.3

表5. 島根県の日本海沿岸へ流出する河川の河口付近で採集した貝類

貝の種類	合計	保健所管内					
		益田	浜田	県央	出雲	松江	隠岐
巻貝							
ニナガイ	28	1	3	6	9	6	3
カサガイ	17		5	8		3	1
スガイ	6				1	1	4
イシマキガイ	1				1		
マキガイ	1						1
二枚貝							
カキ	10				6	2	2
ムラサキイガイ	11	2			2	7	
合計	74	3	8	14	19	19	11

表6. 貝類からの *V. vulnificus* の検出率と汚染菌数

貝の種類	検 体 数	合 計	陽 性 率	陽性検体数					
				MPN (log10)/1g					
				-1	0	1	2	3	4
巻貝	ニナガイ	28	16 (57)	2	4	4	2	1	3
	カサガイ	17	10 (59)		5	1	1	2	1
	スガイ	6	5 (83)		1	1	1	1	1
	イシマキガイ	1	1 (100)					1	
	マキガイ	1	0 (0)						
	小計	53	32 (60)	2	10	6	4	5	5
二枚貝	カキ	10	8 (80)		2	2	2	1	1
	ムラサキイガイ	11	9 (82)	1	2	1	2		3
	小計	21	17 (81)	1	4	3	4	1	4
合計		74	49 (66)	3	14	9	8	6	9

表7. 貝類からの *V. vulnificus* と腸炎ビブリオの検出状況

	魚種	検体数	陽性検体数 (%)		
			合計	<i>V. vulnificus</i>	腸炎ビブリオ
巻貝	ニナガイ	28	27 (96)	16 (59)	25 (93)
	カサガイ	17	15 (88)	10 (67)	14 (93)
	スガイ	6	6 (100)	5 (83)	6 (100)
	イシマキガイ	1	1 (100)	1 (100)	0 (0)
	マキガイ	1	1 (100)	(0)	1 (100)
	小計	53	50 (94)	32 (64)	46 (92)
二枚貝	カキ	10	10 (100)	8 (80)	10 (100)
	ムラサキイガイ	11	11 (100)	9 (82)	11 (100)
	小計	21	21 (100)	17 (81)	21 (100)
	合計	74	71 (96)	49 (69)	67 (94)

表8. 海水の塩分濃度と貝からの *V. vulnificus* 及び腸炎ビブリオの分離の関係

貝の種	検出状況	<i>V. vulnificus</i> の検出								腸炎ビブリオの検出							
		塩分濃度 ‰								塩分濃度 ‰							
		合計	<5	5-9.9	10-14.9	15-19.9	20-24.9	25-29.9	≥30	合計	<5	5-9.9	10-14.9	15-19.9	20-24.9	25-29.9	≥30
ニナガイ	+	16	3	1	5	1	1	2	3	25	3		7	1	1	6	7
	-	12	2		2			4	4	3	2	1					
カサガイ	+	10	2	1	3	1		2	1	14	4	1	3	1	1	2	2
	-	7	3				2		2	3	1				1		1
スガイ	+	5		1	2			2		6	1	1	2			2	
	-	1	1							0							
カキ	+	8	1	1	1	3		2		10	2	1	1	3		2	1
	-	2	1						1	0							
ムラサキイガイ	+	9	3		1	1		3	1	11	3		1	1		4	2
	-	2						1	1	0							
イシマキガイ	+	1	1							0							
	-	0								1	1						
巻貝	+	0								1							1
	-	1						1	0	0							
合計	+	49	10	4	12	6	1	11	5	67	13	3	14	6	2	16	13
	-	25	7	0	2	0	2	5	9	7	4	1	0	0	1	0	1

表9. 貝の捕獲地域によるV. vulnificus保菌状況

保健所管内	貝の種類	検体数	合計	陽性率 (%)	陽性検体数						
					MPN (log10) /1g						
					-1	0	1	2	3	4	
益田	ニナガイ	1	1	(100)			1				
	ムラサキイガイ	2	2	(100)				2			
	合計	3	3	(100)	0	0	1	2	0	0	
浜田	ニナガイ	3	3	(100)				1	1	1	
	カサガイ	5	5	(100)			1	1	2	1	
	合計	8	8	(100)	0	0	1	2	3	2	
県央	ニナガイ	6	4	(67)	1	3					
	カサガイ	8	4	(50)		4					
	合計	14	8	(57)	1	7	0	0	0	0	
出雲	ニナガイ	9	5	(56)		1	2				2
	スガイ	1	1	(100)							1
	カキ	6	6	(100)			2	2	1	1	
	ムラサキイガイ	2	2	(100)							2
	イシマキガイ	1	1	(100)						1	
	合計	19	15	(79)	0	1	4	2	2	2	6
	松江	ニナガイ	6	2	(33)			1	1		
カサガイ	3	1	(33)		1						
スガイ	1	1	(100)		1						
カキ	2	2	(100)		2						
ムラサキイガイ	7	5	(71)	1	2	1				1	
合計	19	11	(58)	1	6	2	1	0	1		
隠岐	ニナガイ	3	1	(33)	1						
	カサガイ	1	0	(0)							
	スガイ	4	3	(75)			1	1	1		
	カキ	2	0	(0)							
	巻き貝	1	0	(0)							
	合計	11	4	(36)	1	0	1	1	1	1	0
	合計	74	49	(66)	5	28	17	15	11	18	

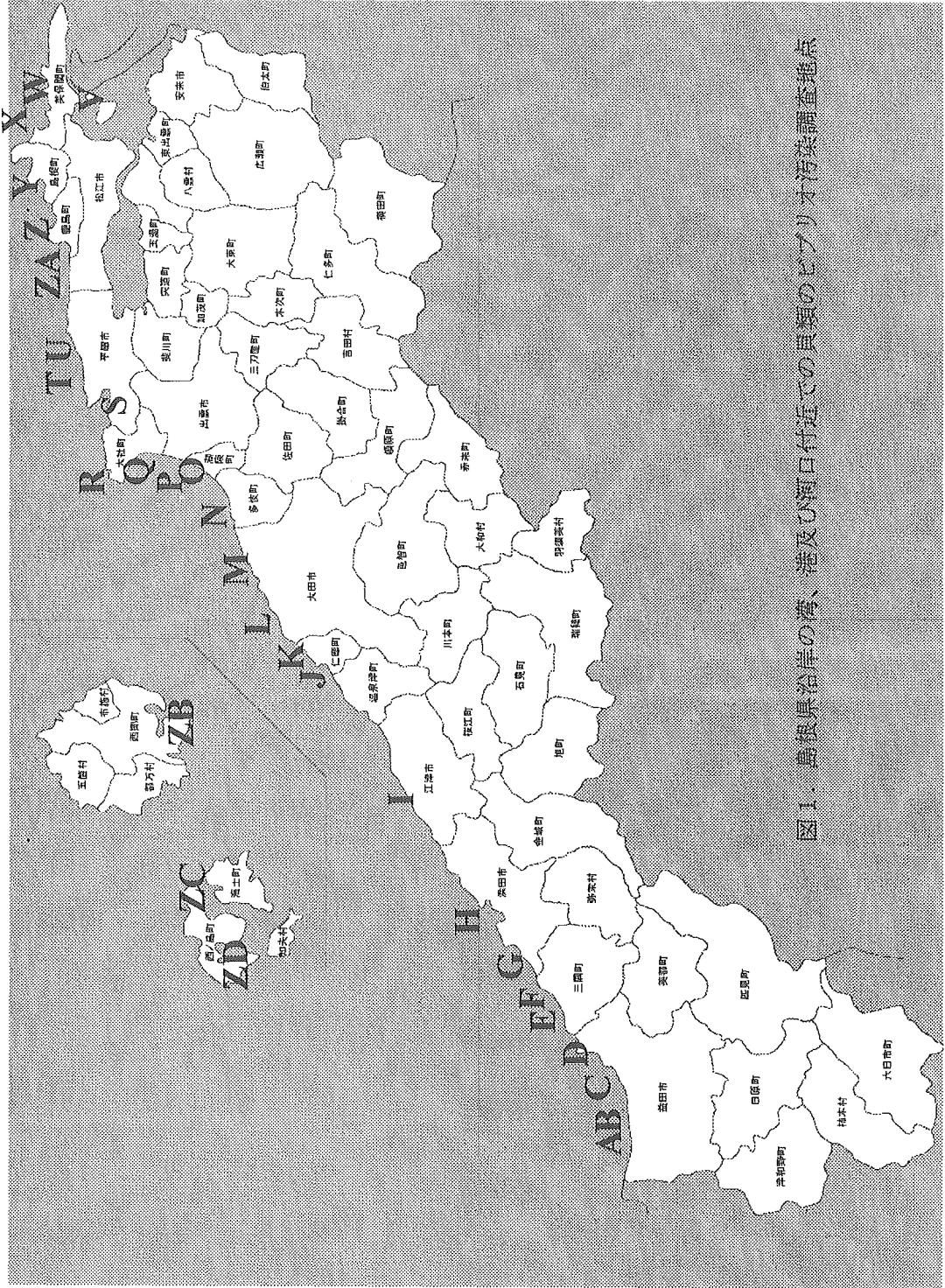


図1. 鳥根県沿岸の湾、港及び河口付近での異種のヒブリアオ汚染調査地点

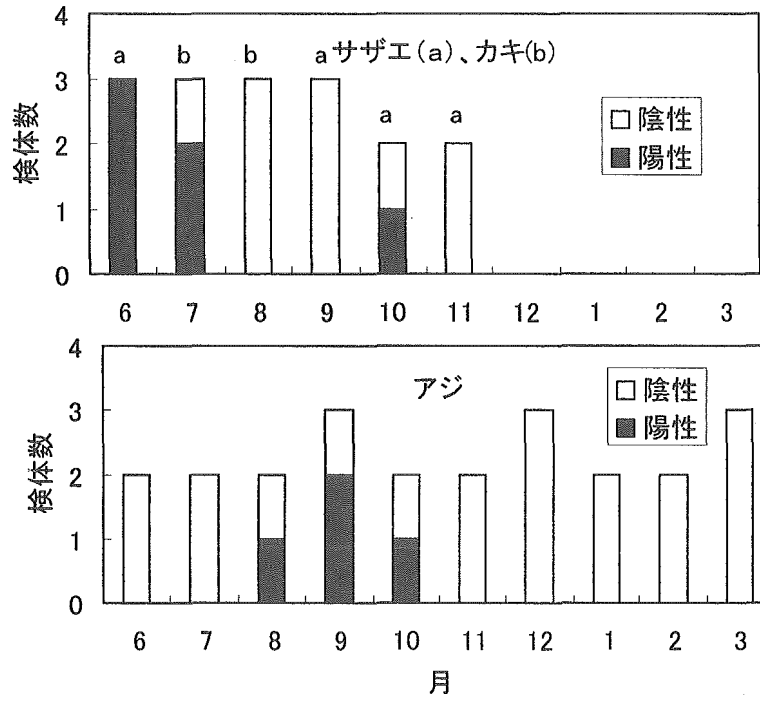


図2. 魚介類からの Vv の月別検出状況