

表3 大江湖のV.v調査

	MPN(/100ml)	水温(°C)	塩分濃度(‰)
5月	7	21	0.7
6月	4	27.5	0.9
7月	150	30	1.7
8月	4300	32	1.8
9月	150	31	1
10月	230	24.5	1.1
11月	240	12	0.8
12月	<3	15.5	1.1

図5 大江湖のV.v調査

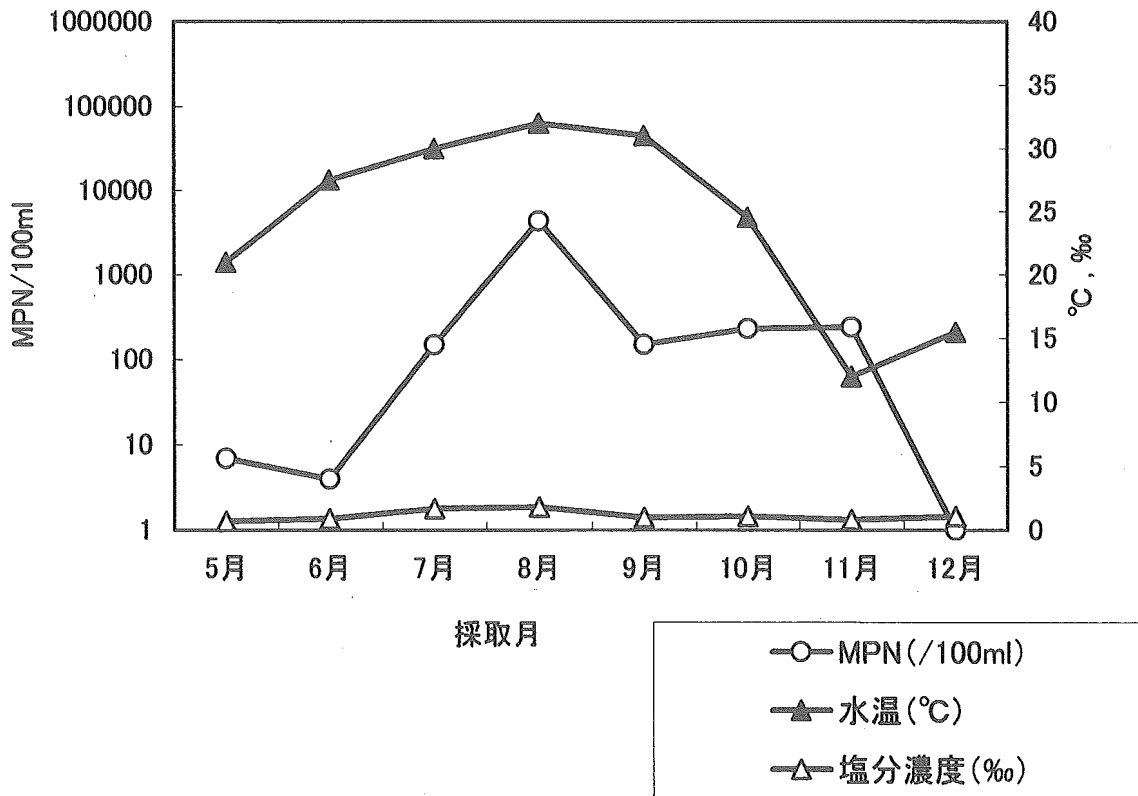


表4 鏡のV.v調査

	MPN(/100ml)		水温(°C)	塩分濃度(‰)
	海水	海泥		
5月	120	2300	20.5	16.4
6月	150	23000	26	29.4
7月	60	23000	32	29.1
8月	150	29000	35	27.9
9月	1500	930000	32	30.6
10月	150	93000	24.5	28.8
11月	240	1500	11.5	5
12月	<3	4600	18	25.5

図6 鏡のV.v調査

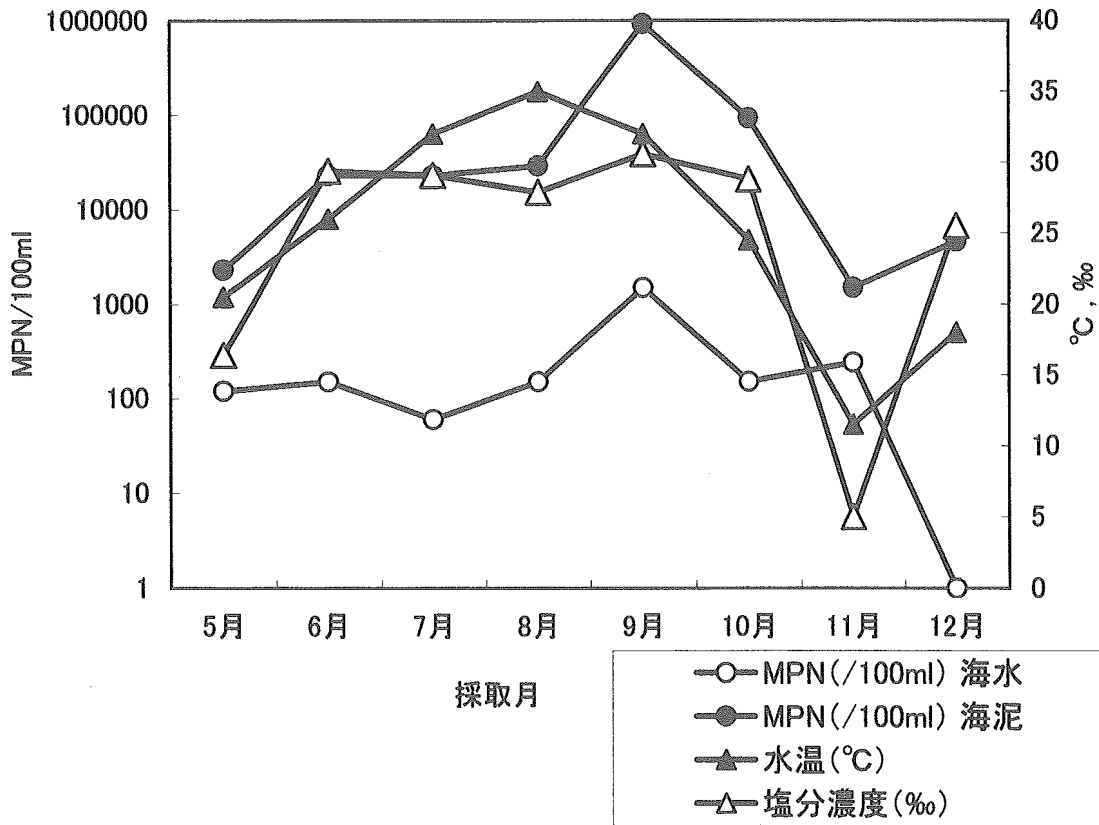


表5 太田尾のV.v調査

	MPN(/100ml)		水温(°C)	塩分濃度(‰)
	海水	海泥		
5月	<3	700	19.5	32.7
6月	<3	<3	29	33.2
7月	3	<3	28	34.7
8月	3	750	29.5	36.5
9月	16	4300	27	31.7
10月	<3	40	22.4	32.3
11月	<3	<3	19	32.7
12月	<3	<3	17	30.9

図7 太田尾のV.v調査

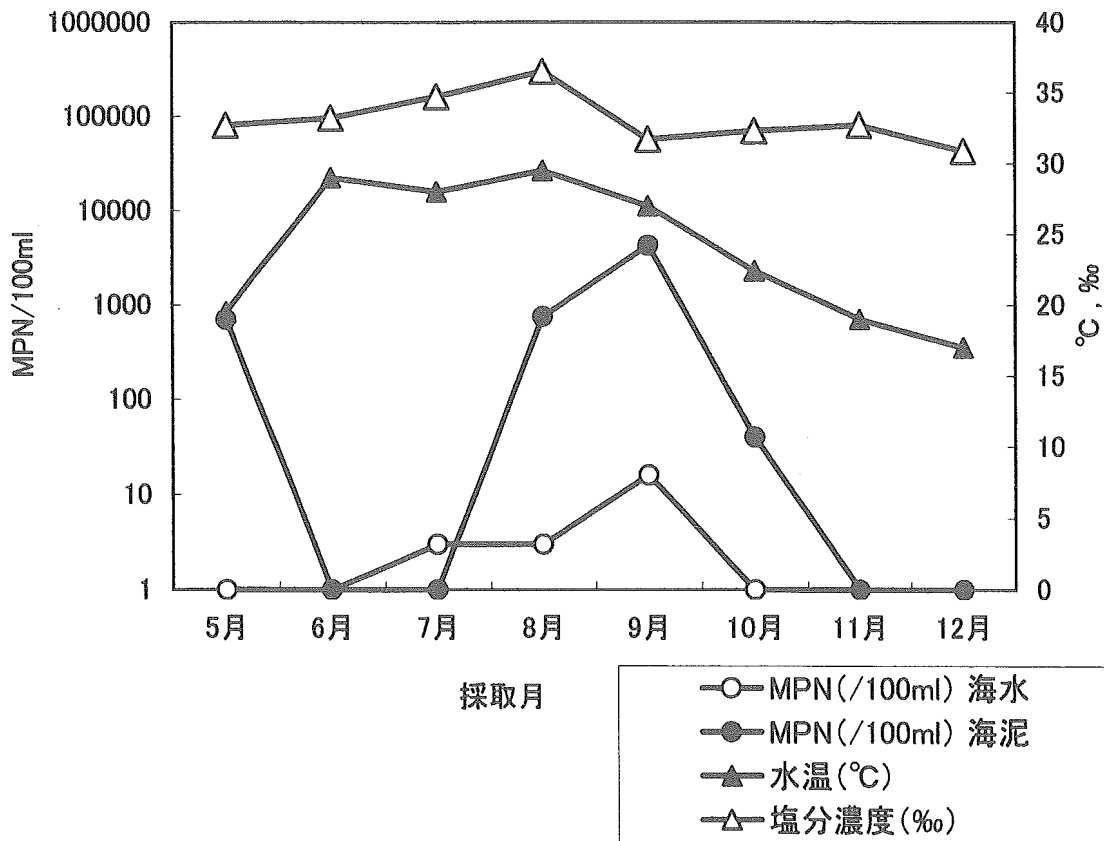


表6 有明のV.v調査

	MPN(/100ml)		水温(°C)	塩分濃度(‰)
	海水	海泥		
5月	<3	<3	19.5	33.5
6月	<3	<3	29	34.1
7月	<3	<3	28	35.2
8月	3	30	29.5	35.9
9月	<3	<3	27	33.3
10月	<3	40	22.4	32.3
11月	<3	<3	19	32.7
12月	<3	<3	17	29

図8 有明のV.v調査

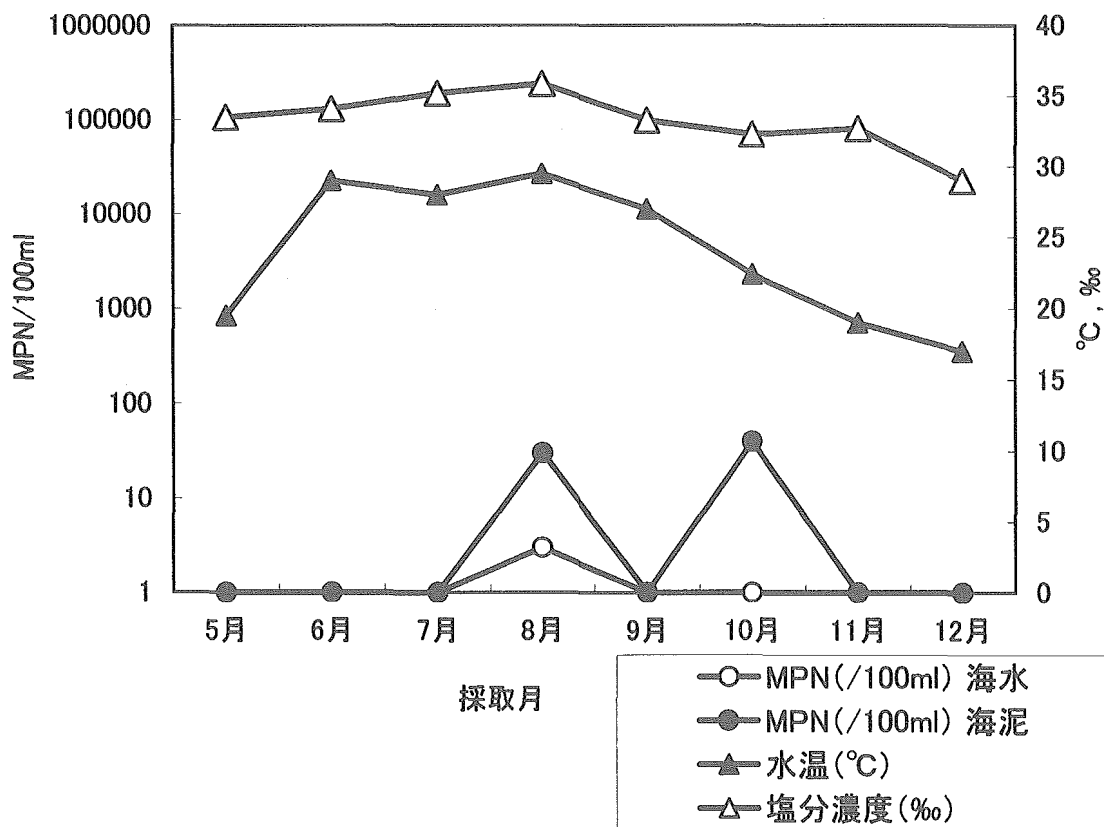


表7 田浦のV.v調査

	MPN(/100ml)		水温(°C)	塩分濃度(‰)
	海水	海泥		
5月	<3	<3	19.5	23.2
6月	<3	40	25.5	33.4
7月	<3	60	25	33.5
8月	<3	<3	29	35.6
9月	3	430	28	31.7
10月	6	230	26	32.6
11月	<3	40	20	32.4
12月	<3	40	17	33.1

図9 田浦のV.v調査

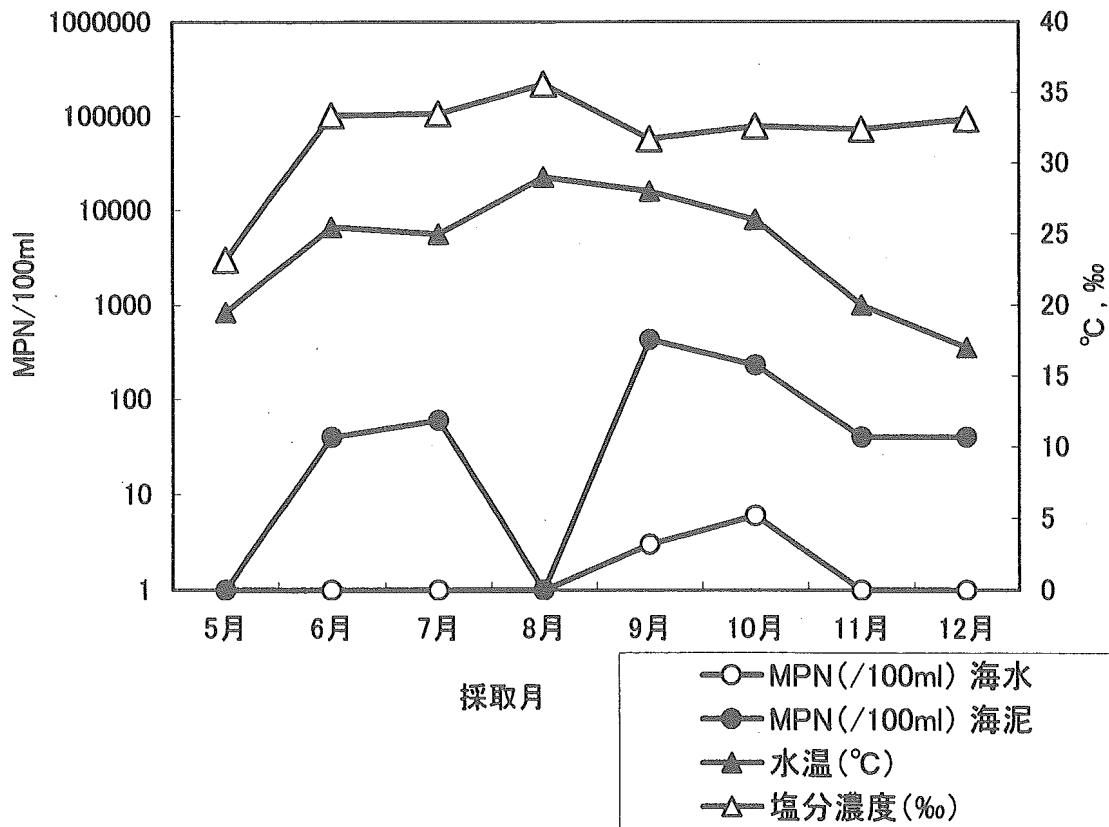


表8 海水浴場調査

地点名	水温(°C)	塩分濃度(‰)	MPN(V.v)
岱明	31	34.1	2300
砂月	25.5	37.3	<3
茂串	28.5	37.8	<3
黒島	27.5	36.5	<3
えびすビーチ	27	37.2	<3
樋合	28	34.8	<3
西目	28.3	34.7	3
松島	28	34.4	3
小島	28.5	34.1	<3
二間戸	28	34.4	<3
高戸	28	35	<3
白鶴ヶ浜	29.5	36	<3
富岡	29.5	36.2	<3
若宮(五和)	31	35.5	<3
若宮(三角)	29	35.3	<3
太田尾	27.5	36.5	<3
赤瀬	27.8	35.9	3
有明	29.5	35.9	3
本渡	28	37	<3
白涛	27	35.8	<3
弓ヶ浜	27	36.4	<3
唐船ヶ浜	27	36.4	<3
田浦	29	35.6	<3
マリンパーク	29	35	<3
鶴ヶ浜	29	35.4	<3
湯ノ尻	31	35	<3

图10 海水浴場調査

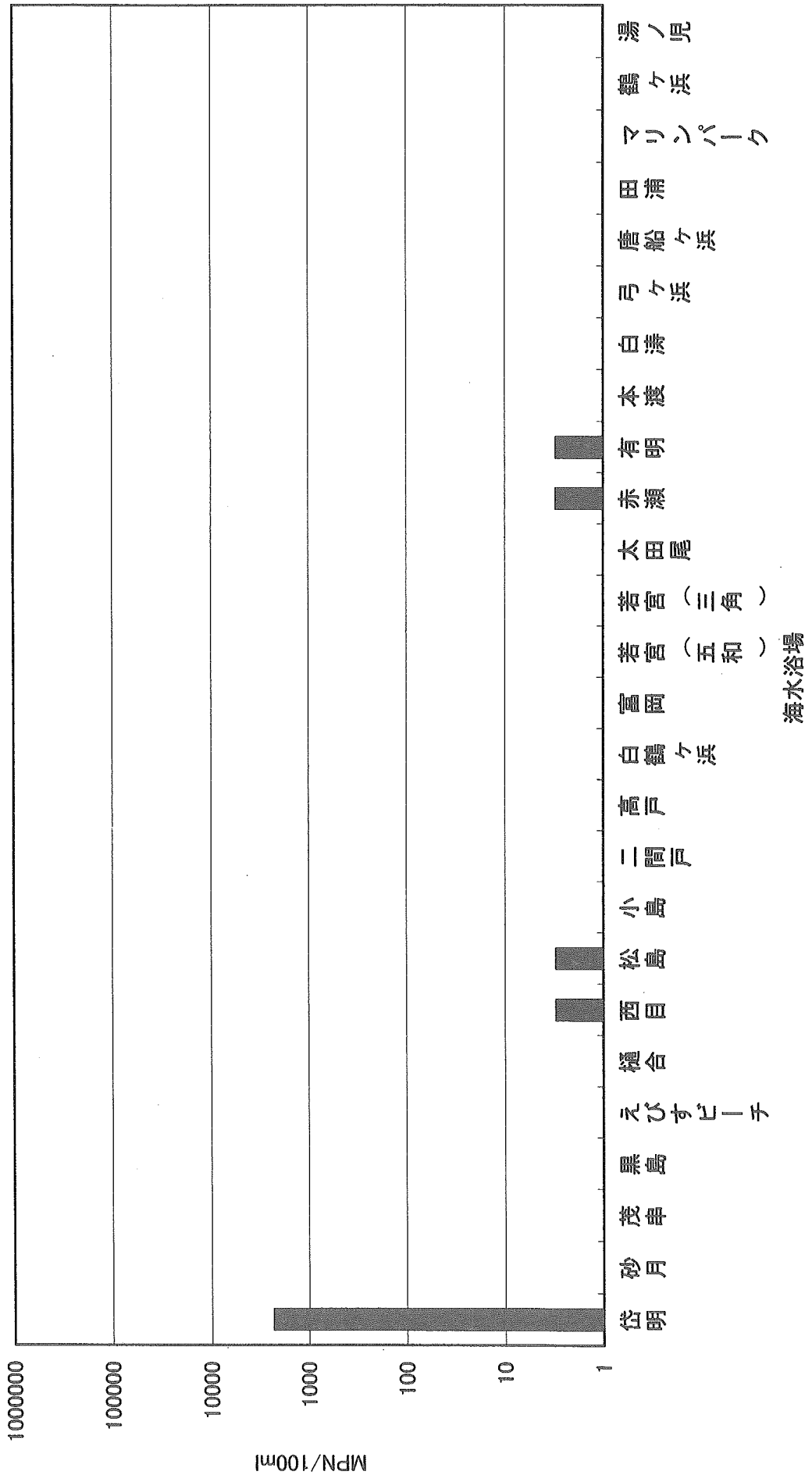


表9 海水浴場調査 2003～2004年

地点名	2004年度			2003年度		
	MPN(V.v)	降雨量※	塩分濃度(‰)	MPN(V.v)	降雨量※	塩分濃度(‰)
岱明	2300	0	34.1	23000	180	19.6
砂月	<3	0	37.3	<3	30	33.7
茂串	<3	0	37.8	<3	30	33.5
黒島	<3	0	36.5	<3	35	31.8
えびすビーチ	<3	0	37.2	7	174	30
樋合	<3	24	34.8	<3	208	26.1
西目	3	24	34.7	4	208	26.1
松島	3	24	34.4	4	208	25.3
小島	<3	4	34.1	4	205	21.4
二間戸	<3	4	34.4	3800	205	22.1
高戸	<3	4	35	<3	205	24
白鶴ヶ浜	<3	6	36	<3	129	33
富岡	<3	6	36.2	<3	30	32.7
若宮(五和)	<3	6	35.5	<3	174	30.8
若宮(三角)	<3	6	35.3	93	128	25.6
太田尾	<3	6	36.5	430	128	24.1
赤瀬	3	6	35.9	230	128	26.8
有明	3	34	35.9	<3	278	32.7
本渡	<3	4	37	<3	174	31.3
白濤	<3	70	35.8	36	44	31.9
弓ヶ浜	<3	70	36.4	6	44	31.3
唐船ヶ浜	<3	70	36.4	<3	44	31.7
田浦	<3	30	35.6	21	251	30.3
マリンパーク	<3	0	35	-	-	-
鶴ヶ浜	<3	0	35.4	9	251	31.6
湯ノ見	<3	2	35	23	204	31.6

※採水日以前1週間の総雨量を示す





図11 2004年患者発生地域及び主な河川

平成16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* の検出法の検討及び魚介類や環境中の汚染度の検討

島根県における市販アサリおよび海水浴場における *V. vulnificus* 汚染調査

研究協力者: 福島 博 (島根県保健環境科学研究所 感染症疫学科)

## 1. 要旨

経口及び創傷感染により重篤な敗血症を引き起こす *Vibrio vulnificus* の島根県で市販されているアサリと有頭エビにおける汚染状況ならびに大規模海水浴場における分布状況を調査した。魚介類からの分離率は試料を 30°C に3時間放置した後、2%食塩加 Buffered Peptone Water により前増菌することにより向上した。*V. vulnificus* は市販アサリ 39 検体中 34 検体 (87.2%)、有頭エビ10検体中5検体 (50%)、海水浴場の海水 30 検体中 14 検体 (46.7%) から分離された。市販アサリ由来株は血清型 O1 と O3、O4、O5、O6、O8、O9、O12、O14、O16、型別不能および rough 型、有頭エビ由来株は血清型 O3 と O4、海水由来株は血清型 O1 と O4、O6、O12、型別不能に型別された。平成16年8月に島根県の山間部で刺身の摂取によると思われる血清型 O12 による感染症が発生したが、その感染源・感染経路は明らかに出来なかった。

## 2. 目的

平成 14、15年度の市販魚介類における *Vibrio vulnificus* (以下 Vv) の汚染調査により、Vv は魚類よりも貝類から高率に検出されることが明らかにされた(2,4,5)。島根県ではアサリやハマグリなどの二枚貝は漁獲されていないため、島根県沿岸における Vv の分布状況を沿岸部に生息するサザエ、ニナガイ、カサガイ、スガイ、イシマキガイなどの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採集し調査した。島根県沿岸で生食用として漁獲されている貝類は主にサザエとアワビであるが、平成 15 年度の調査で Vv はサザエの 27% から検出され、サザエの多くは Vv が分布していない沿岸域で漁獲されていることが示唆された。これに対し、県外や国外から輸入され市販されているアサリやハマグリの 66% から Vv が検出された。これらの貝類のほとんどは通常加熱処理して食べられるが、調理過程において他の食品を二次汚染し感染源になることも危惧される。そこで、県外や国外で生産されたアサリやエビなどの魚介類における Vv の汚染状況を明らかにすることは、長期低温保存され市販される魚介類が Vv 感染症の感染源としてどのような役割を演じているかを解明する上で極めて重要なことである。魚介類が長期低温保存されることにより、それを汚染

する *Vibrio* 属菌は VNC に陥り、通常の増菌方法では分離されないことが指摘されている。今回は、非選択培地による前増菌と腸炎ビブリオ(6)で報告されている貝をそのまま30°Cに3時間放置し、貝の生体内で自然に増殖させた後、増菌培養することを試みた。

熊本県では海中や海岸での作業中における創傷感染が発生しており、海水浴場などにおける感染も危惧されることから、島根県における主要海水浴場における Vv の分布状況を調査した。また、島根県においてはこれまで Vv 感染症は報告されていなかったが、平成16年8月に県西部の山間地域で Vv 感染症が発生したのでその概要を報告する。

### 3. 材料および方法

#### 3. 1. 検査材料

##### 3. 1. 1. 市販アサリと有頭エビ

2004年5月から10月にかけて毎月一回、松江市内の小売店でアサリ39検体と有頭エビ10検体を購入し試料とした。アサリは殻をむいた全体を、エビはそのままを検体として用いた。それぞれの検体の25gを1検体とし検査に供した。

##### 3. 1. 2. 海水浴場の海水

2004年7月12日から8月3日の間の午前中に、島根県の大規模な9海水浴場の2箇所(1海水浴場では1箇所)から海水1,000mlずつを採水し、保冷剤を入れたクーラーボックスで輸送し、その日のうちに検査に供した。

#### 3. 2. 検査法

##### 3. 2. 1. PCR法による最確数(PCR-MPN)の測定とCFUの測定

検体25gをストマッカー袋に入れ、手で揉みだした後、225mlの2%食塩加 Buffered Peptone Water (BPW, OXIDO)を加え、激しく振り浮遊液を作成した。この浮遊液の10mlずつを3本の試験管に入れ、10段階希釈液1mlずつをBPW 10ml(3本)に加え37°C、6時間増菌培養した。その後、おのおのの増菌液1mlを自家製アルカリ性ペプトン水(Bacto peptone (Difco) 10g, NaCl 10g, pH 8.6, APW) 10mlに入れ、37°C、一昼夜増菌培養した。海水は検体量100ml、10ml、1mlについては10倍量のAPW(3本)に、検体量0.1mlと0.01mlは10mlのAPW(3本)に接種し、37°C、一昼夜増菌培養した。増菌液1ml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。その遠心沈渣を200 $\mu$ lの精製水に浮遊したものを100°C、10分間加熱後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(7)のcytotoxin-hemolysin gene検出プライマー(*VvhA*)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。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。PCR-MPN陽性の試験管数を基に、アサリとエビは

MPN/10g を算出し、MPN/1g で表した。海水は MPN/1,000ml で表した。

Colony forming unit (CFU) は浮遊液 0.1mlをCHROMagar Vibrio (CV) 培地の 2/3 へ塗布し、残りの 1/3 に浮遊液 0.01mlと浮遊液の 100 倍液 0.01mlを 2 箇所ずつにスポットし 37°C一昼夜培養し、CFU/g を算出した。直接培養および増菌培養液を培養したCV培地上の青色のコロニーを釣菌し、TSI 寒天培地、SIM 確認培地、LIM 培地及び 0、3、8、10% 食塩加 Nutrient broth (Difco) に培養し同定を行った。Vv の確認には Hill らのプライマーを用いたPCRを行った。分離菌株の O 血清型別は国立感染症研究所田村和満細菌部室長に依頼した。

### 3. 2. 2. 30°Cに 3 時間放置することによる増菌効果の検討

小売店で購入し、クーラーボックスに入れ実験室に搬入したアサリと有頭エビを 2 分し、一方は直ちに処理し培養に供した。もう一方は 30°Cの恒温器に 3 時間放置した後処理し培養に供することにより、高温放置による増菌効果を比較した。

### 3. 3 患者発生状況

平成16年8月18日に瑞穂町(中国山地にあり、海に面していない)で、すい臓がんの治療のため抗癌剤の投与を受けていた女性(73歳)が 39.0°Cの発熱と右大腿部に直径5cmの紅斑をともない発症し、19日には壊死性筋膜炎と診断され、20 日に右足切除手術を受け、快復した。19 日に血液培養が行われ、20 日に *Vibrio* 属が分離され、27 日に Vv と同定された。分与を受けた患者由来菌株について生化学性状試験と cytotoxin-hemolysin gene 検出プライマーを用いた PCR を行い、血清型別を国立感染症研究所へ依頼した。患者発生にともなう感染源についての聞き取り調査が所管保健所により行われた。

## 4. 結果

### 4. 1. 市販アサリおよび有頭エビの Vv 汚染調査

#### 4. 1. 1. 月別検出状況 (表1、2)

市販アサリ 39 検体を検査し、Vv は 34 検体(87%)から分離された。アサリからの Vv の月別検出状況を表 1 に示す。2004 年5月から 10 月の 6 ヶ月間に検査し、Vv は 6 月から 9 月の温暖な時期に 25 検体全てから分離されたが、気温が低い5月には 50%(4/8 検体)、10 月には 85%(5/6 検体)から検出された。有頭エビは 10 検体を検査し、Vv は5検体(50%)から分離された。有頭エビは 5 月から 8 月に検査し、Vv は 6、7 月の 5 検体全てから検出または分離された。

#### 4. 1. 2. 生産地別検出状況 (表2、3)

アサリからの Vv の生産地別検出状況を表3に示した。アサリの実産地別検出率は三重県産 82%(9/11 検体)、熊本県(有明海を含む)産 100%(19/19 検体)、中国産 33%(1/3 検体)、韓国産 83%(5/6 検体)であった。有頭エビではアイルランド、オーストラリア、マダガス

カル、ベトナム、インドから輸入された1検体ずつからVvが検出されたが、アルゼンチンからの甘エビと鳥取産の天然エビからは検出されなかった。

#### 4. 1. 3. 汚染菌数 (表1、2、3)

市販アサリの月別汚染菌数を表1に、生産地別汚染菌数を表3に示す。両表には購入後すぐに検査した菌数と購入後、30℃に3時間放置したアサリにおける菌数を示す。購入後すぐの検査ではVvはアサリ30検体(77%)から分離された。Vvは5月には検出されなかったが、6月には6検体全てから分離され、汚染菌数は平均 $10^{1.2}$  MPN/gであった。汚染菌数は7、8月をピーク(平均 $10^{1.8}$  MPNと $10^{1.9}$  MPN/g)として、9月には平均 $10^{0.8}$  MPN/g、10月には平均 $10^{-0.3}$ MPN/gへと下降した。有頭エビからは7月に購入したベトナム産のブラックタイガーから0.9 MPN/g分離されたが、他の検体からは検出されなかった(表2)。

#### 4. 1. 3. 30℃に3時間放置することによる増菌効果(表1、2、3、図1)

小売店で購入した検体を、30℃の恒温器に3時間放置した後培養することにより、アサリ34検体(87%)と有頭エビ5検体(50%)から検出または分離された。汚染菌数はアサリの22(57%)検体において約10倍、多いものでは500倍に増加したが、残り17検体中11(28%)検体では増菌されず、6(15%)検体では減菌した。特に、5月には新たに8検体中4検体から分離された。

#### 4. 1. 4. 分離菌株の血清型 (表2、4、5、6)

分離菌株の血清型のうち有頭エビについて表2、アサリについて表4に示す。有頭エビ由来株は血清型O3とO4に、アサリ由来株は血清型O1、O3、O4、O5、O6、O8、O9、O12、O14、O16の10血清型と型別不能およびrough型に型別された。O4型が最も多く、次いでO3型、O1型であった。アサリの23検体からは単一血清型が分離されたが、11検体からは2~5種類の血清型が分離された。アサリの生産地別では三重県産は血清型O4が多く、次いで血清型O3とO6、O8、O16、型別不能であった。熊本県産は血清型O16を除く9血清型に型別され、なかでも血清型O3とO4が多かった。中国産は血清型1、韓国産は血清型O1とO3に型別された。表5に購入後直ぐと30℃に3時間放置した後の増菌培養により分離された菌株の血清型を示す。Vvが分離された34検体のうち9検体ずつからは両検査法で分離された。両検査法で分離された15検体のうち8検体では検査法により異なる血清型が分離された。なお、平成15年度に環境及び魚介類から分離された菌株の血清型を表6に示した。

#### 4. 2. 海水浴場におけるVvの分布状況 (表7)

表7に示すように、7月12日から8月3日に島根県の大規模海水浴場9ヶ所で午前中に採水された海水30検体(水温が24.8~30.5℃、塩分濃度が30.7~35.3%)を検査し、Vvは6海水浴場(66.7%)で採水された14検体(46.7%)から検出され、12検体から分離された。PCR-MPNを計測した島根県東部海岸の海水では3~93 MPN/1,000mlであった。分離菌

株の血清型は O1と O4、O6、O12、型別不能に型別され、血清型 O4と O6が多く分布していた。

#### 4. 3. 分離菌株の性状と患者発生にともなう疫学調査（表8）

患者由来株は表7に示す生化学性状を示し、血清型 O12に型別された。感染源についての聞き取り調査の結果は以下のとおりであった。患者は発症 1 週間前から近隣の町の小売店で購入された刺身を毎日のように食べており、汚染食品とその摂食日を特定することはできなかった。小売店の生鮮魚介類は平日には広島市の市場から、休日には島根県浜田市の市場から仕入れられていた。患者はここ数年海に行ったことはない。

### 5. 考 察

Vv は島根県の沿岸にも広く分布し(3)、昨年までの調査により島根県沿岸で採集された貝類の約 70%、刺身として生食されるサザエの 27%から検出された(2,4)。サザエの汚染菌数は多いもので $10^5$ CFU/g もあり、ヒトへの感染源となりうることが示唆された。いっぽう、腸炎ビブリオの汚染指標貝として扱われるアサリは島根県では生産されていないが、熊本県や三重県、韓国、中国で生産されたものが市販されている。平成 15 年 6～11 月の調査では Vv はアサリ 26 検体中 16 検体(62%)から検出され、7、8 月の温暖な時期には 7 検体全てから検出された。アサリは多くの場合、加熱調理されることからヒトへの直接の感染源となる機会は少ないと思われるが、その汚染菌数は多いもので  $10^5$ CFU/g にもなり、アサリや保存水が他の食品や環境への汚染源となる可能性が示唆された。今年度は、市販アサリにおける Vv の汚染状況の詳細な把握と血清型の生産地別分布を調査した。

*Vibrio* 属の分離培養は酵素基質を用い鑑別性に優れた CV 培地の利用により分離率が飛躍的に向上した。しかし、CV 培地に接種する前の増菌培養法では効果的な選択培地またはシステムは開発されていない。今回調査対象とした市販アサリは輸送と小売店で長期間にわたり低温保存されるため、アサリを汚染する Vv は低温により損傷しているものと考えられた。食品中の損傷菌の増菌には選択性の弱い培地による前増菌培養が行われている。今回の調査では、APW による増菌培養の前に、2% NaCl 加 BPW による 6 時間の前増菌培養を採用した。昨年調査では前増菌培養を行わず、APW による増菌培養液を CV 培地で分離培養することにより、市販アサリの 62%から Vv が分離されたが、今回の 2% NaCl 加 BPW による前増菌培養により、Vv は昨年よりも 15%高い 77%から分離された。これは同一検体についての成績ではないが、前増菌培養を行うことにより分離率が向上することが示唆された。

最近、貝における腸炎ビブリオの増菌法として、貝を 30℃に 3 時間放置することにより、貝の体内の自然な状態で腸炎ビブリオの増殖を促す方法が報告された(6)。本研究においても、市販アサリとエビからの Vv の分離培養に本法を採用し、30℃に放置しない方法と比較し

た。検体を 30°C に 3 時間放置することにより、放置しないものに比較し生菌数は平均 10 倍に、多いものでは 500 倍に上昇した。特に、水温が低い 5 月に生産されアサリを 30°C に放置しない場合には Vv は検出されなかったが、30°C に 3 時間放置することにより Vv は 8 検体中 4 検体から分離された。これらのことから、魚介類を 30°C に 3 時間放置することにより、Vv も魚介類の体内の自然な状態で増菌できることが確認された。特に、30°C への放置は低温により損傷した少数菌を増菌するのに効果があることが示された。このことは、魚介類の流通過程における低温保存の重要性を再認識させるものであった。

アサリの Vv による汚染頻度は、昨年と同様に生産地に関係なく温暖な時期に生産、販売されたもので高く、6~9 月には平均  $10^{0.8\sim 1.9}$  MPN/g の Vv が検出された。本研究での熊本県産アサリの Vv 保菌数は平均  $10^{1.5}$  MPN/g であったが、平成 14 年に熊本県の沿岸で海水温が 20°C 以上の温暖な時期に採集されたアサリの Vv 保菌数は平均  $10^{0.9}$  MPN/g であった(8)。これらの成績は異なった検査法によるものであり比較するには困難があるが、海水温が高い時期に生産されたアサリの体内には大量の Vv が保有され、Vv は低温流通過程でもほとんど死滅することなく生残することを示している。

Vv は血清型 O1~O16 に型別されるが、これまでにわが国で Vv 感染症の患者から分離された菌株は血清型 O1、O4、O5、O6、O7 に属し、O4 型が最も多く、半数を占めている。次いで O1 型、O7 型と続く(1)。今回の調査期間中に、これまでわが国では報告されていなかった O12 型が島根県の山間地域で発生した Vv 感染症の患者から初めて分離された。このことは、これまでわが国における患者の発生が確認されていない血清型 O2 と O3 や O8~O16 による感染症も発生する可能性を示唆しており、環境における Vv の分布のより詳細な把握の必要を示唆している。平成 15 年(表 7)と今回の調査で、市販アサリから血清型 O1 と O2、O3、O4、O5、O6、O8、O9、O12、O14、O16 の 11 血清型と型別不能および rough 型、市販輸入エビから血清型 O3 と O4、型別不能、さらに平成 15 年度の島根県沿岸の調査で海水と底泥から血清型 O1 と O2、O3、O4、O5、O6、O8、O12、O16 の 9 血清型と型別不能および rough 型が、本年度の海水浴場での海水の調査で血清型 O1 と O4、O6、O12、型別不能株が分離された。また、平成 13~14 年(1)の調査で島根県沿岸の汽水域には血清型 O1 と O5、O6、O7 が分布していることが確認されている。これらのことは、島根県の沿岸には Vv 感染症の原因となる血清型が広範に分布するとともに、県外や国外からの魚介類の輸入により多くの血清型が持ち込まれていることを示している。また、環境および魚介類は複数の血清型の Vv に汚染されていることが示された。Vv の病原性因子は未だ明らかでなく、これらの菌株の病原性を判定することは難しいが、ハイリスクグループが Vv に汚染した環境に接触または汚染魚介類を摂取した場合には、感染の機会が高いものと推察された。

Vv は汽水域に分布し、ヒトへの感染は主に汽水域に生息する魚介類を生で摂取することによるが、汽水中で創傷部から感染することもある。Vv 感染症は九州地域、東海地域あるい

は関東地域の湾岸部の住民の間で多く発生し、中国地域では瀬戸内海側の山口県、広島県、岡山県で数例ずつ報告されているにすぎない。このように、Vv 感染症は主に Vv に汚染された生の魚介類を摂取することにより起こることから、海水の塩分濃度が低い有明海や駿河湾などの湾岸地域において注意が払われてきた。これまで、島根県においては Vv 感染症の報告はなかったが、山間地域で刺身の摂取によると思われる Vv 感染症が報告された。このことは、Vv 感染症は居住地周辺の汽水域で魚介類が漁獲される地域で発生頻度が高いが、汚染水域で漁獲された汚染魚介類が販売されている地域でも発生することを示唆している。また、Vv はこれまで考えられていたよりも低温で長期間生残することから、これまで発生の報告のない地域においても市販魚介類を介したハイリスクグループへの感染を喚起し、Vv 感染症の予防についての啓発活動が必要である。

#### 引用文献

- 1) 荒川英二、田村和満： *Vibrio vulnificus* の分離法の検討及び魚介類や環境中の汚染度の検討。厚生労働科学研究費補助金、新興・再興感染症研究事業、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、平成14年度総括・分担報告書、131-136 (2003)
- 2) 福島博：島根県における腸炎ビブリオ及びビブリオ・バルニフィカス感染症予防に関する研究 I. 佐陀川における生態調査及び島根県東部で漁獲された魚介類における分布調査。島根県保健環境科学研究所報、44. 73-82. (2003)
- 3) Fukushima, H and Seki R.: Ecology of *Vibrio vulnificus* and *V. parahaemolyticus* in Brackish Environments of the Sada River in Shimane Prefecture, Japan. FEMS Microbiology Ecology, 48. 221-229 (2004)
- 4) 福島博：島根県における腸炎ビブリオ及びビブリオ・バルニフィカス感染症予防に関する研究 II. 島根県沿岸における腸炎ビブリオ及びビブリオ・バルニフィカスの分布調査。島根県保健環境科学研究所報、45. 51-62. (2004)
- 5) 福島博：島根県における腸炎ビブリオ及びビブリオ・バルニフィカス感染症予防に関する研究 III. 島根県沿岸における TDH および TRH 産生性腸炎ビブリオの分布調査。島根県保健環境科学研究所報、45. 63-72. (2004)
- 6) Hara-Kudou Y. et al.: Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 in seafood and the coastal environment in Japan. Appl. Environ. Microbiol. 69. 3883. (2003).
- 7) Hill et al.: Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters. Appl. Environ. Microbiol. 57:707-711



(1991)

- 8) 宮坂次郎ほか：熊本県内の環境及び魚介類中の *Vibrio vulnificus* と *Vibrio parahaemolyticus*. 厚生労働科学研究費補助金、新興・再興感染症研究事業、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、平成14年度総括・分担報告書 85-106 (2003)

表 1 市販アサリからの *V. vulnificus* の月別検出状況

月	検体数	陽性検体	陽性率	購入後、すぐに増菌培養							平均MPN <sup>a</sup>	30°Cに3時間放置後に増菌培養							平均MPN <sup>a</sup>		
				合計	PCR-MPN (Log 10 /1g)							合計	PCR-MPN (Log 10 /1g)								
					-1	0	1	2	3	4			5	-1	0	1	2	3		4	5
5	8	4	50	0							-1.0	4	1	3							-0.3
6	6	6	100	6	1	2	1	1	1		1.2	6	2			2	1		1		2.2
7	6	6	100	6		1	2	2	1		1.8	6			1	4			1		2.4
8	8	8	100	8		1	3	3	1		1.9	8		2	1	1	4				2.3
9	5	5	100	5	2	1	1		1		0.8	5	1	2	1				1		1.1
10	6	5	83	5	5						-0.3	5	3	2							-0.1
合計	39	34	87	30	8	5	7	6	4	0	0	0.8	34	7	9	3	7	5	2	1	1.2

a: 平均MPN (log10/g)

表 2 市販有頭エビからの *V. vulnificus* の分離状況と分離菌株の血清型

生産国	検体数	PCR法による検出				分離菌株の血清型				
		購入後、すぐに増菌培養		30°C、3時間放置後に増菌培養		3	4			
		陽性検体数	生菌数MPN/1g	陽性検体数	生菌数MPN/1g					
アイルランド	2	1			1	0.6	1			
オーストラリア	3	1			1	2.3		1		
マダガスカル	1	1			1	0.4				
ベトナム	1	1		1	0.9		1	>24		
アルゼンチン	1									
インド	1	1				0.4	1			
日本(鳥取県)	1									
合計		10	5	1			5		1	2

a: 生菌数(MPN/1g)

表 3 市販アサリからの *V. vulnificus* の生産地別検出状況

生産地	販売業者の住所	検体数	陽性検体	陽性率	購入後、すぐに増菌培養							30°Cに3時間放置後に増菌培養											
					合計	PCR-MPN (Log 10 /1g)						合計	PCR-MPN (Log 10 /1g)										
						-1	0	1	2	3	4		5	-1	0	1	2	3	4	5			
三重県	広島県	11	9	82	7	2	2	2	1							9	1	5	1	2			
熊本県	熊本県	10	10	100	8	2		1	2	3						10	3	2			2	2	1
有明海	山口県	6	6	100	6	1	2	1	2							6	1	1		3	1		
熊本県	広島県	3	3	100	3	1		1	1							3		1		1	1		
中国	熊本県	1	0	0	0	0										0							
中国	島根県	2	1	50	1	1										1	1						
韓国	熊本県	2	2	100	2				1	1						2				1		1	
韓国	島根県	4	3	75	3	1	1	1								3	1			1	1		
合計		39	34	87	30	8	5	7	6	4	0	0				34	7	9	3	7	5	2	1

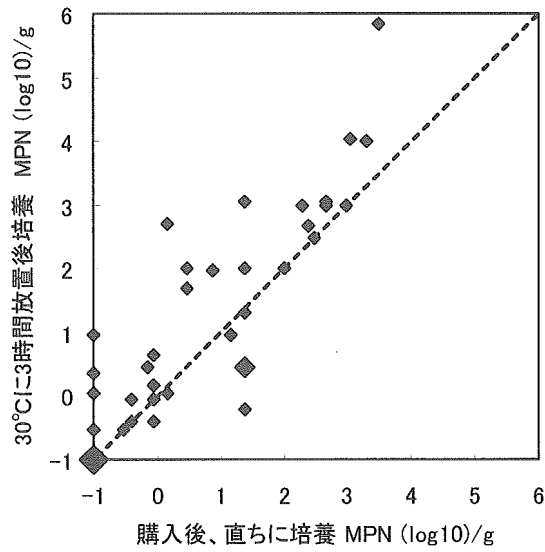


図 1 アサリの30°C、3時間放置による増菌効果

表 4 市販アサリから分離された *V. vulnificus* の血清型

生産地	販売業者の住所	陽性検体数	陽性検体数	分離菌株数													
				合計	血清型												
					1	3	4	5	6	8	9	12	14	16	UT	R	
三重県	広島県	11	9	10		2	4		1	1					1	1	
熊本県	熊本県	10	10	19	1	2	4	1	2	1	1	2				4	1
有明海	山口県	6	6	13	2	3	1	1		1		1	1			2	1
熊本県	広島県	3	3	4	1	1	1			1							
中国	熊本県	1	0	0													
中国	島根県	2	1	1	1												
韓国	熊本県	2	2	2			2										
韓国	島根県	4	3	4	1		1									1	1
合計		39	34	53	6	8	13	2	3	4	1	3	1	1	1	8	3

表 5 市販アサリを30℃、3時間放置した後に増菌培養することによる分離菌株の血清型への影響

陽性検体	生産地	販売者(住所)	分離菌株の血清型		
			購入後、直ちに培養	30℃、3時間放置後に培養	
1	三重県	A(広島県)	4		
2			3	3	
3			4	4	
4			6	6	
5			UT	4	
6				4	
7				3	
8				8	
9					16
10	熊本県	B(熊本県)	1	12	
11				12	
12		C(熊本県)	4	9 UT	
13			6		
14			3	3	
15			3	4 5 UT	
16				4	
17			D(熊本県)	4	8 UT
18		UT			
19	E(熊本県)	6			
20	F(山口県)	3			
21			3	5 14 3 4 UT	
22			1	1	
23			12	1	
24			8	R	
25			3	UT	
26			G(広島県)	3	3
27					1
28					4 8
29				中国産	H(島根県)
30			韓国産		4
31		UT	R		
32			1		
33	E(熊本県)		4	4	
34			4		

UT: 型別不能、R: ラフ型