

表2. 市販貝類からの月別Vv検出状況

採取月	検体数	陽性件数(率)											
		6	7	8	9	10	11						
アサリ	26	2/4	7/12	2/5	2/4	1/1		14(53.8)					
かき	11	0/1				4/6	0/4	4(36.4)					
その他	2	0/2						0					
合計	39	2/7	7/12	2/5	2/4	5/7	0/4	18	10(38.5%)				
									8(61.5%)				
								46.2	28.6	58.3	40.0	50.0	71.4
									陽性率(%)				

表3. Vv菌株の生化学的性状および血清型別

菌株番号	41-3	41-4	102-5	102-6	145-2	145-3	169-3	205-1	205-3	214-1	218-2	227-1	229-1
由来	貝(関上)	貝(関上)	アサリ(名籠)	アサリ(名籠)	アサリ(名籠)	アサリ(名籠)	アサリ(福島県産)	かに(関上)	かに(関上)	海水浴場(野蒜)	海水浴場(野蒜)	海水浴場(野蒜)	海水浴場(野蒜)
検体採取日	6/7	6/7	6/23	6/23	7/6	7/6	7/12	7/12	7/12	7/13	7/13	7/13	7/13
mCPCIにおける発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CVIにおける発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSI	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A
LIM:													
リシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
インドール	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
運動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
食塩耐塩性試験													
0%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3%NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
セロビオース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PCRvwh	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
血清型	01	14	04	04	14	14	14	03	03	01	UT	04	03

菌株番号	252-1	254-1	271-1	271-3	281-2	282-2	331-2	331-3	362-4	391-3	401-2	425-4	447-1
由来	アサリ(福島県産)	アサリ(福島県産)	海水浴場(野蒜)	海水浴場(野蒜)	かに(関上)	かに(関上)	海水浴場(野蒜)	海水浴場(野蒜)	アサリ(三河湾産)	かに(関上)	アサリ(千葉県産)	アサリ(愛知県産)	海水浴場(野蒜)
検体採取日	7/26	7/26	7/28	7/28	8/9	8/9	8/25	8/25	8/31	9/6	9/29	9/29	9/29
mCPCIにおける発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CVIにおける発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSI	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A
LIM:													
リシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
インドール	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
運動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
食塩耐塩性試験													
0%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3%NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
セロビオース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PCRvwh	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
血清型	04	04	08	UT	01	08	01	01	14	03	06	06	16

表4. アサリからのVvの検出状況(7~9月)

実施年度	<0.3	0.3~	10~	100~(MPN/g)	計	陽性率(%)
計	14	5	1		6/20	30
	7	5	1	2	8/15	53.3
13年度	2	2			2/4	50
	2				0/2	
15年度	7	1			1/8	12.5
16年度	5	2	1		3/8	37.5
	5	5	1	2	8/13	61.5
総計					14/35	40.0

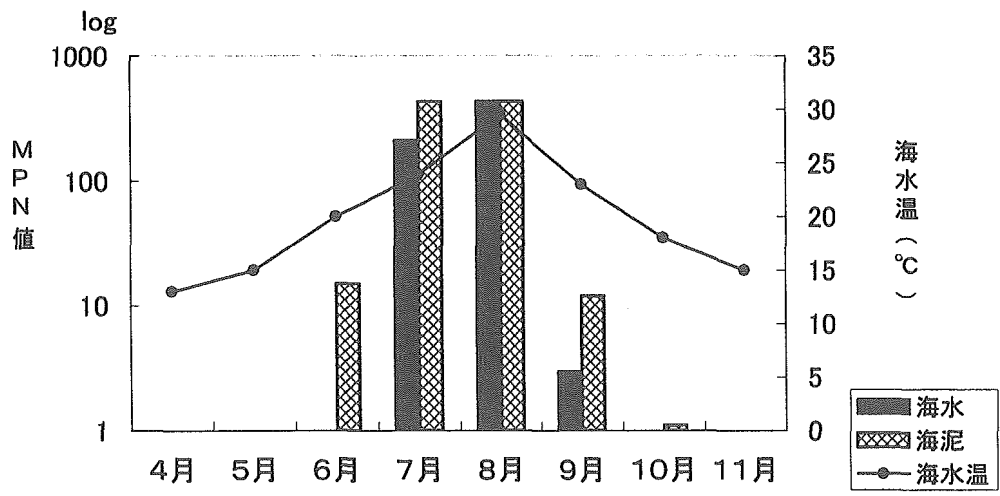


図1. 定点での海水・海泥におけるVvの検出状況

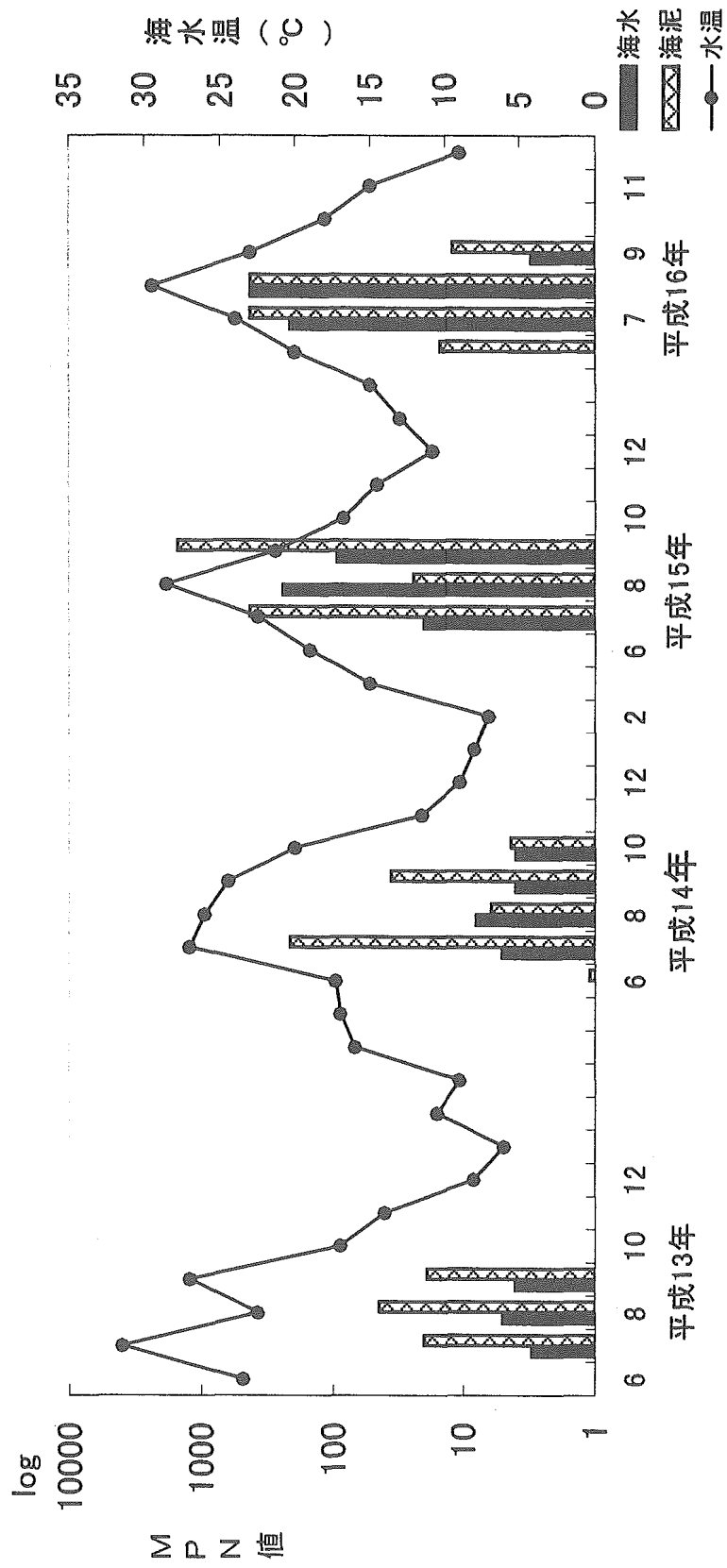


図2. 定点での海水・海泥における4年間のVv検出状況

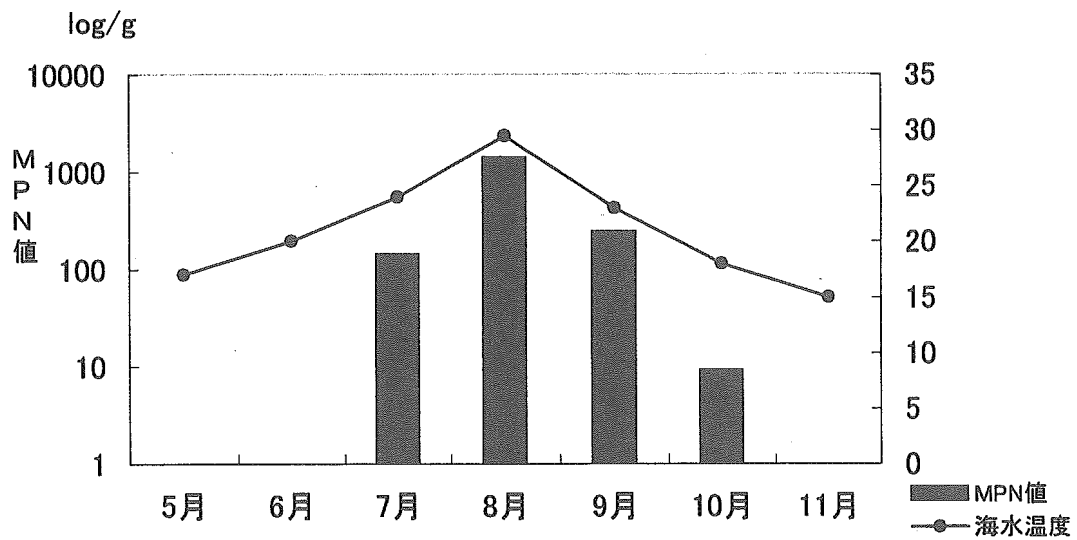


図3. 貝・イソガニからの月別Vv検出状況

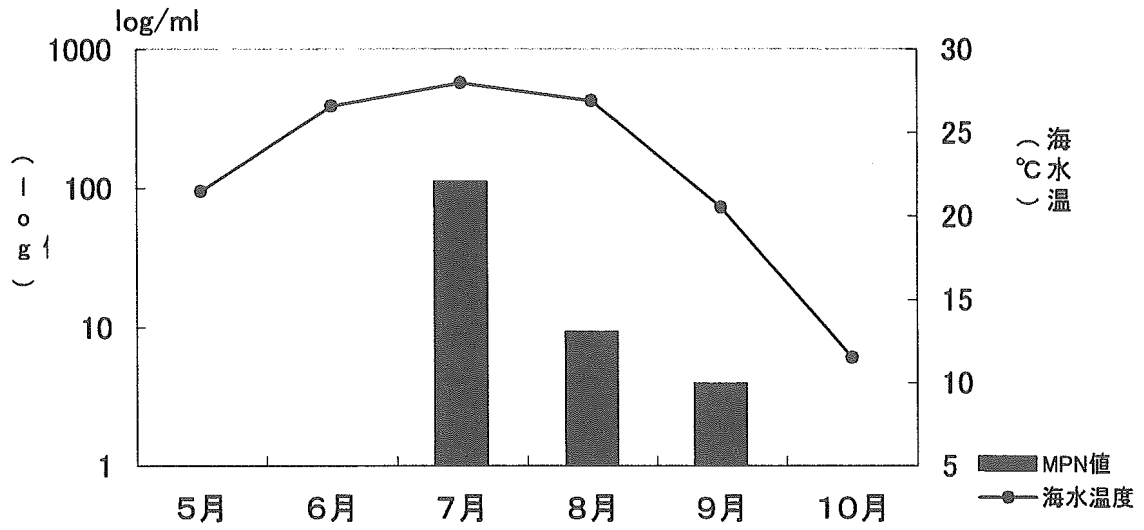


図4. 海水浴場の月別Vv検出状況

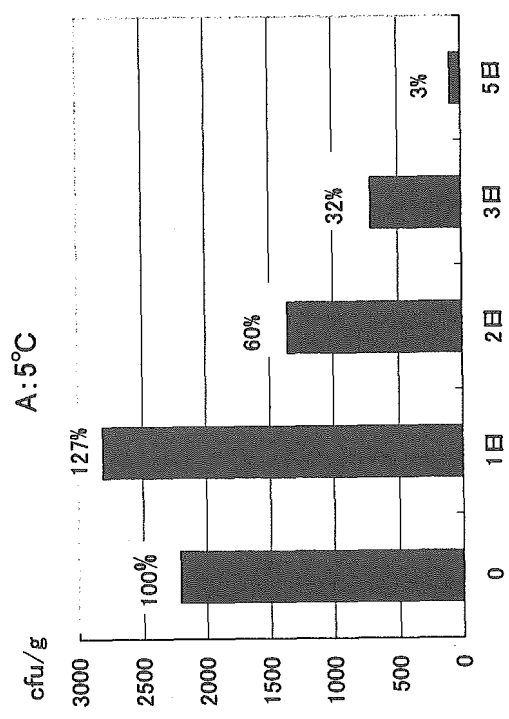
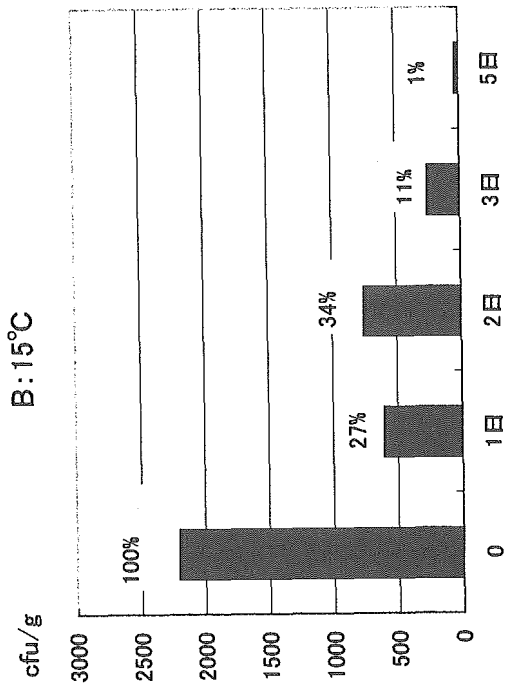


図5. Vv汚染アサリからのVv消長

表1. 市販貝類からのVv検出状況

検体 番号	採材日	食品名	漁獲地	MPN値	Vv分離
1	6/16	アサリ	県内	<0.3	×
2	6/16	ツブ	県内	<0.3	×
3	6/16	かき	県内	<0.3	×
4	6/16	ホッキ	県内	<0.3	×
5	6/16	アサリ	県内	0.36	×
6	6/23	アサリ	県内	0.36	○
7	6/23	アサリ	県内	<0.3	×
8	7/6	アサリ	県内	<0.3	×
9	7/6	アサリ	県内	<0.3	×
10	7/6	アサリ	県内	24	○
11	7/6	アサリ	県内	<0.3	×
12	7/12	アサリ	福島県	12	○
13	7/12	アサリ	愛知県	0.36	×
14	7/12	アサリ	県内	2.3	×
15	7/12	アサリ	県内	<0.3	×
16	7/26	アサリ	愛知県	<0.3	×
17	7/26	アサリ	愛知県	2.3	×
18	7/26	アサリ	福島県	>140	○
19	7/26	アサリ	愛知県	0.36	×
20	8/31	アサリ	愛知県	<0.3	×
21	8/31	アサリ	愛知県	<0.3	×
22	8/31	アサリ	愛知県	9.1	○
23	8/31	アサリ	県内	<0.3	×
24	8/31	アサリ	県内	0.36	×
25	9/29	アサリ	千葉県	9.1	○
26	9/29	アサリ	愛知県	<0.3	×
27	9/29	アサリ	愛知県	150	○
28	9/29	アサリ	北海道	<0.3	×
29	10/12	かき	県内	<0.3	×
30	10/12	かき	県内	<0.3	×
31	10/12	かき	県内	9.1	×
32	10/18	アサリ	県内	0.23	×
33	10/18	かき	県内	43	×
34	10/18	かき	県内	93	×
35	10/18	かき	県内	15	×
36	11/8	かき	県内	<0.3	×
37	11/10	かき	県内	<0.3	×
38	11/17	かき	県内	<0.3	×
39	11/17	かき	県内	<0.3	×

平成16年度厚生労働科学研究費補助（新興再興感染症研究事業）
ビブリオ・バルネフィクスによる重篤な経口感染症に関する研究

分担研究報告書

ヒト・魚介類および環境などにおける *Vibrio vulnificus* の汚染実態調査

小川正之、岡田京子、須藤始代、小嶋由香、
本間幸子、赤木英則（川崎市衛生研究所）
田村和満（国立感染症研究所）

（目的）

Vibrio vulnificus は、海水や汽水域に生息し、慢性肝炎や肝硬変などの基礎疾患のある易感染性宿主が本菌に汚染された魚介類などの生食あるいは汚染された海水が創傷部から侵入することにより感染し、重篤な敗血症などの感染症を引き起こすことが知られている。*Vibrio vulnificus* 感染症を予防するために、魚介類や環境における実態を把握することは重要と考える。昨年引き続き河川水や港湾海水などの環境、生鮮魚介類やすし種などの市販流通食品中における *Vibrio vulnificus* の汚染状況を調査するとともに、本市内の開業医院を訪れた散発下痢症患者および食中毒由来検体からの検出を試み、*Vibrio vulnificus* 汚染の実態を調査した。

（材料）

生鮮魚介類、市販食品類など ; 平成16年5月から10月に当所に搬入されたスーパー、小売店など市内流通の生鮮魚介類、飲食店などのすし種および川崎港にて採取した魚類など計144検体であり、その内訳は貝類35検体、貝類以外のサシミやすし種などの食品109検体の合計144検体。

海水および河川水 ; 平成16年4月から10月の5月は除いた毎月一回の多摩川・鶴見川および川崎港の同一定点より、採取した海水6検体および河川水（汽水）18検体の合計24検体。

散発下痢症患者、
食中毒調査関係； 平成16年4月から10月に市内の開業医院を受診した散
発下痢症患者便429検体、市内発生および他都市関連調
査の食中毒由来検体237検体（便102件、食品81件、
拭取その他54件）の合計666検体を検査材料とした。

（検査方法）

1. 食品および拭取など

図に示した様に検体25gにアルカリペプトン水225mlを加え、
18-20時間前培養後、直接TCBS培地、PMT培地に塗抹すると
ともにセロビオース・コリスチン加ペプトン水（CCPbroth）、アルカリペ
プトン水10mlに0.5-1ml接種し、5-8時間、2次増菌後同様に
TCBS培地、PMT培地、クロモアガービブリオ培地に塗抹後分離培養
を行い同定した。また拭取については10倍試料液1mlをアルカリペ
プトン水10mlにて前培養後上記と同様に行った。

2. 海水および河川水

検水500mlを二倍濃度アルカリペプトン水500mlに加え、18-
20時間前培養し、その後、食品と同様にCCP broth、アルカリペ
プトン水による2次増菌を行いTCBS培地、PMT培地、クロモア
ガービブリオ培地に塗抹培養後、分離同定した。

3. 便

散発下痢症患者および食中毒患者便については、キャリブレアー培地に採
取した下痢便をペプトン水1mlに搾りだし、腸内細菌検索用培地に塗抹、
増菌するとともにビブリオ属菌検索には、TCBS培地、PMT培地に直接
塗抹と同時に、アルカリペプトン水、CCP broth にて16-18時間増
菌後、TCBS培地、PMT培地、クロモアガービブリオ培地に塗抹し分離
同定を行った。下痢原性病原菌は常法に従って分離同定した。

4. 血清型別

当所で分離した *Vibrio vulnificus* の血清型別は国立感染症研究所に依
頼した。

(結果)

1. 食品からの検出状況

食品からの検出状況を表1に示した。

4月から10月の間に、貝類35検体、貝類以外の生鮮魚類やサシミ、すし種109検体、計144検体について調査した。

貝類は7月のみ実施し、*Vibrio vulnificus*が1検体(2.8%)分離され、生食用貝類のサシミとして販売されていたアオヤギからであった。また同時に、*Vibrio parahaemolyticus*が13検体(37.1%)から分離された。一方、貝類以外の生鮮食品109検体について、4検体(3.7%)から*Vibrio vulnificus*が分離され、うち3検体は川崎港にて採取した、「ひいらぎ」、「あなご」、「すずき」で、9月の1検体はインドネシア産のバナメイ海老(冷凍解凍品)であった。また同時に、*Vibrio parahaemolyticus*は17検体(15.6%)から分離された。それぞれ2菌種の汚染菌量は100CFU/g以下であった。

2. 河川水などからの検出状況

環境からの検出状況を表2に示した。4月、および6月から10月まで毎月1回4定点より採水した。

海水および河川水24検体からは*Vibrio vulnificus* 8件(33.3%)
Vibrio parahaemolyticus 18件(75.0%)検出された。*Vibrio vulnificus*は6月から8月までの採水時の水温が23~28℃の状態では夏季の期間のみ検出され、また*Vibrio parahaemolyticus*は調査した4月から9月の水温が17~28℃の状況下で検出されていた。

3. 食中毒調査検体からの検出状況

食中毒調査由来検体からの病原菌検出状況は表3に示した。

4月から10月までに食中毒調査依頼として、便102検体、食品81検体、拭取およびその他54検体、計237検体の搬入があった。便102検体中*Campylobacter jejuni*が4検体、*Escherchia coli*(EPEC)が1検体、*Vibrio parahaemolyticus*が7検体から検出された。しかしながら、*Vibrio vulnificus*は便、食品、拭取のいずれの検体でも検出されなかった。

4. 下痢症患者からの検出状況

散発下痢症患者からの病原菌検出状況を表4に示した。

4月から10月までに散発下痢症患者便429検体を調査した。

検出率の高い順に、*Campylobacter jejuni* 63件(14.7%)、*Salmonella* 18件(4.2%)、*Escherchia coli* 6件(1.4%)、*Vibrio parahaemolyticus*

6件(1.4%)、*Aeromonas* sp 1件(0.2%)などの下痢原性病原菌が検出された。散発下痢症患者においても食中毒調査由来検体同様に、いずれの検体からも *Vibrio vulnificus* は検出されなかった。

5. *Vibrio vulnificus* の検出状況と血清型

食品および環境から分離した *Vibrio vulnificus* の検出状況と血清型を表5に示した。

食品からは、6月に川崎港で採取した「ひいらぎ」、「あなご」、「すずき」からのO3が3件、7月のアオヤギからのO1が1件、9月のバナメイ海老からのOUT1件、計5株分離された。

環境からは延べ8カ所から分離され、すべて汽水域からの分離であった。多摩川大師橋下流では、6月にO4、7月、8月にO3、多摩川六郷橋下流では、6月、7月ともにO14、鶴見川末吉橋下流では、6月、7月はO4、8月はO6がそれぞれ1株ずつ分離された。

(考察)

我々は昨年から *Vibrio vulnificus* の食品および環境の汚染実態調査を実施している。しかし、15年度は調査期間中の気温の低下などの気象条件の影響からか市販流通生鮮魚介類や環境から *Vibrio vulnificus* を検出することはできなかった。本年度も昨年と同様な検査方法で実施したが、我々が14・15年度本研究班で取り入れた Cellobiose-Bile salt agar の選択性に十分な成果を得ることができなかったため、本年度はこれに変わってクロモアガービブリオを取り入れた。全てがこの培地からの検出ではないが、同時に併用したTCBS培地やPMT培地などで食品5検体、河川水8検体から *Vibrio vulnificus* が検出され、CCPbrothの増菌効果は確認された。

食品では市販生鮮食品のアオヤギとインドネシア産ではあるが冷凍解凍のバナメイ海老からの検出であり、特にアオヤギは生食用としてスーパーで市販されているものであり、一般消費者などの不特定多数の人々が購入する生鮮魚介類における *Vibrio vulnificus* で汚染された食品の流通は、免疫力が低下したり、慢性肝炎や肝硬変などの基礎疾患のある易感染性宿主が直接摂取する機会も多く、また、冷凍解凍であるエビ類などは調理時の二次汚染による感染機会の拡大も危惧され、改めて生鮮食品の取り扱いについては消費者への注意を喚起する必要がある。

環境からは6月から8月まで分離されており、気温、水温の影響が考えられる。8月は採水日当日の気温が低かったものの、水温は4月、9月に較べ

明らかに高温であった。また、港湾からの海水も採取し、同様に調査をしているが *Vibrio vulnificus* は検出されず、上流にさかのぼった汽水域からは高率に分離され、本研究班の調査結果と同様であった。

また、海水から *Vibrio vulnificus* は検出されなかったが、6月に検出された3件の *Vibrio vulnificus* は同じ川崎港港湾内で採取した「ひいらぎ」、「あなご」、「すずき」からのものであり、港湾底質への本菌による汚染が示唆された。

今回の調査ではすべて *Vibrio vulnificus* の検出を試みるとともに *Vibrio parahaemolyticus* の検出も同時に行なった。*Vibrio vulnificus* が分離された検体からは7月の末吉橋下流以外の地点から *Vibrio parahaemolyticus* も同時に検出され、貝類、貝類以外の鮮魚類食品、海水および河川水すべてから *Vibrio vulnificus* の検出率を上回っており、高濃度、広範囲に分布していることがうかがえた。これらの2菌種の細菌は同じ環境に生息しているものと考えられるが、魚類などへの取り込みや都市部における海水や汽水域での生息量や増殖態度に違いがあり、そこに生息する魚類における汚染率の違いがあるものと考えられる。また今回の採水地点は海浜ではなく直接人が入り込む事はほとんどできない地点なので創傷感染の危険性は極めて少ないが、今後人工海浜など都市部における自然回帰が急速に進むことが予想され、不特定多数の人の利用もあり、注意を喚起しなければならない。

昨年に引き続き下痢症患者や食中毒調査依頼、健康者計1,749検体の便について、下痢原性病原菌検索に *Vibrio vulnificus* 調査を実施したが、いずれからも検出されなかった。このことから *Vibrio vulnificus* による下痢症や食中毒の発生はあったとしても我が国では非常に稀な事例であることが示唆され、また、*Vibrio parahaemolyticus* 同様健康者における保菌も認められず、*Vibrio vulnificus* 感染は下痢原性よりはむしろ軟組織などの侵入性が示唆され、慢性疾患や肝硬変などの基礎疾患のある易感染性宿主や創傷感染などから重篤な敗血症へと進展するものと考えられる。

3年間の調査において、本市における市販流通生鮮魚介類やサシミなどの加工品の *Vibrio vulnificus* の汚染率は極めて低いと考えられるが生食用アオヤギから検出されていることや今後ますます増加すると思われる開発途上国からの輸入生鮮魚介類や冷凍食品の流通を考えると今後も継続して監視を続けていく必要がある。

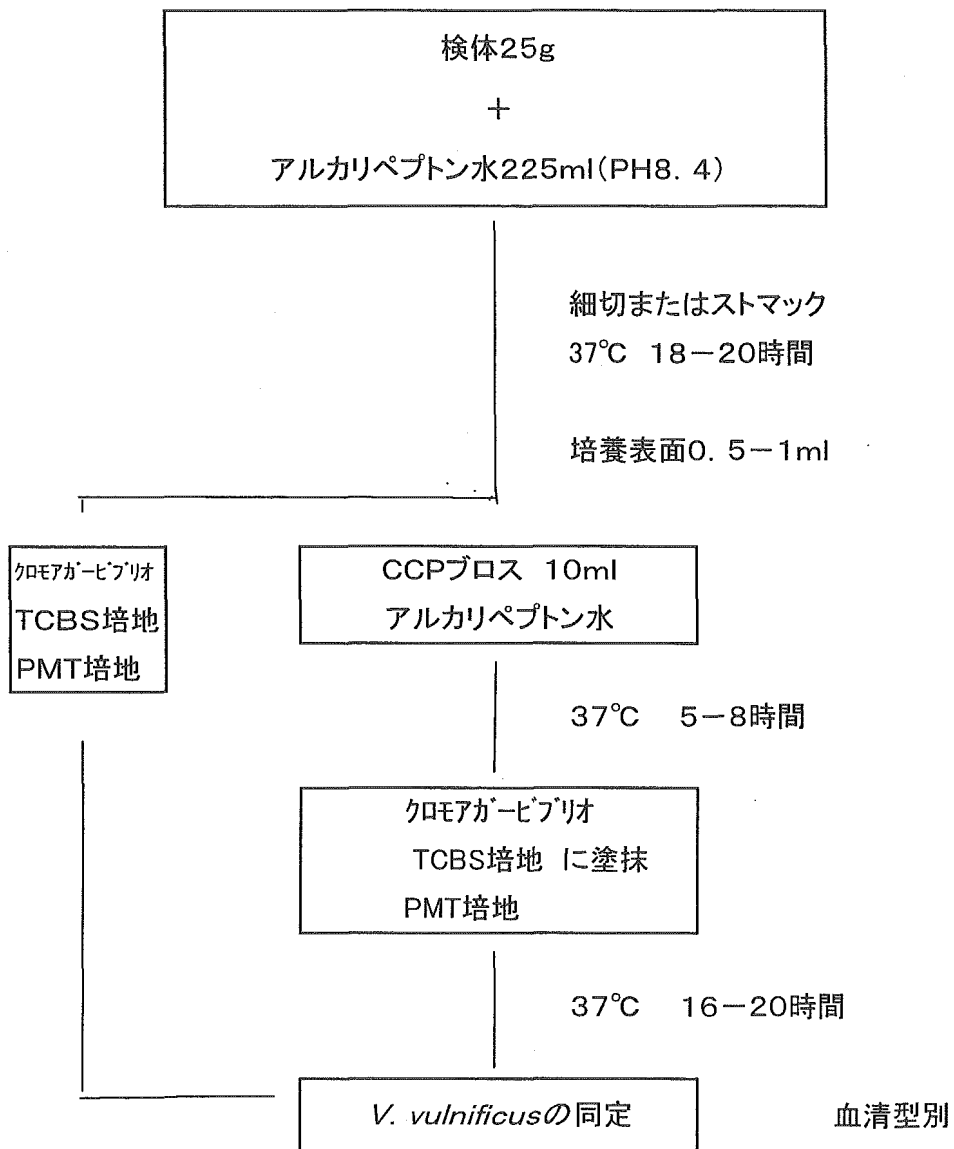


図 *V. vulnificus* の検査法

表1 食品からの検出状況

月	貝類			貝類以外の食品		
	検体数	V.para	V.vul	検体数	V.para	V.vul
4						
5						
6				16	7	3
7	35	13	1	64	8	
8				27	1	
9				2	1	1
10						
計	35	13	1	109	17	4
		37.1%	2.8%		15.6%	3.7%

表2 河川水等からの検出状況

採水月	採水地点	天気	気温(°C)	水温(°C)	V.para	V.vulnifius
4月	市営埠頭	晴れ	20	17	+	-
	大師橋下流			17	+	-
	六郷橋下流			18	+	-
	末吉橋下流			19	-	-
6月	市営埠頭	晴れ	30	28	+	-
	大師橋下流			28	+	+
	六郷橋下流			29	+	+
	末吉橋下流			25	+	+
7月	市営埠頭	晴れ	28	27	+	-
	大師橋下流			26	+	+
	六郷橋下流			26	+	+
	末吉橋下流			28	-	+
8月	市営埠頭	晴れ	23	25	+	-
	大師橋下流			23	+	+
	六郷橋下流			22	+	-
	末吉橋下流			23	+	+
9月	市営埠頭	雨	21	24	+	-
	大師橋下流			22	+	-
	六郷橋下流			21	+	-
	末吉橋下流			22	+	-
10月	市営埠頭	曇り	21	21	-	-
	大師橋下流			17	-	-
	六郷橋下流			17	-	-
	末吉橋下流			20	-	-
計	24検体				18 75.0%	8 33.3%

表3 食中毒依頼検体からの検出状況

月	便		食品		拭取、その他	
	検体数	検出菌	検体数	検出菌	検体数	検出菌
4	33	Cj(2)	6		13	
5	11		3		12	
6	4	E.c(1)	25		0	
7	6	V.p(1)、Cj(2)	5		11	
8	39	V.p(6)	1		0	
9	9		41		18	
10	0		0		0	
計	102	12	81		54	

表4 散発下痢症患者からの病原菌検出状況

月	検体数	検出病原菌					
		V.para	V.vulnificus	Salmonella	E.coli	C.jejuni	Aeromonas
4	52			1	2	7	
5	39				2	5	
6	56			5		8	
7	92	1		4	1	14	
8	78	5		3	1	14	
9	70			1		9	1
10	42			4		6	
計	429	6	0	18	6	63	1
		1.4%		4.2%	1.4%	14.7%	0.2%

表5 *Vibrio vulnificus* の検出状況と血清型

No	検体採取日	検体名	O血清型
1	16.6.11	ひいらぎ	3
2	16.6.11	あなご	3
3	16.6.11	すずき	3
4	16.6.29	多摩川大師橋下流	4
5	16.6.29	多摩川六郷橋下流	14
6	16.6.29	鶴見川末吉橋下流	4
7	16.7.05	あおやぎ	1
8	16.7.26	多摩川大師橋下流	3
9	16.7.26	鶴見川末吉橋下流	4
10	16.7.26	多摩川六郷橋下流	14
11	16.8.30	多摩川大師橋下流	3
12	16.8.30	鶴見川末吉橋下流	6
13	16.9.07	バナメイ海老(インドネシア産)	UT