

値(AV)をTable 1に示した。

V. vulnificus は、7月から12月の海水の51.6% (31/60)、カキの75% (9/12)および泥の94.4% (17/18)から検出された。

海水から検出された *V. vulnificus* の菌数は、検出下限値 (<3 MPN/100 ml) 以下を除き、最も少ない検体はB (三保海水浴場)とD (折戸4丁目海岸)の3 MPN/100 mlで、最も多い検体はG (巴川上流)の280 MPN/100 mlであった (Table 1)。 *V. vulnificus* は、8月が7ヵ所、10月が8ヵ所、11月が6ヵ所から検出され、12月は4ヵ所、7月および9月が3ヵ所から検出された。採取場所別では、J (庵原川河口) 5回、B (三保海水浴場)、F (巴川河口) およびI (島崎町149番地海岸) から各4回検出された。またA (真崎海水浴場)、C (三保3797番地海岸)、D (折戸4丁目海岸) およびH (港町1丁目海岸) から各3回、G (巴川上流) から2回検出された。一方、湾外のE (折戸3丁目海岸) の海水からは検出されなかった。

カキから検出された *V. vulnificus* の菌数は、最も多い検体ではH (港町1丁目海岸) およびD (折戸4丁目海岸) の150 MPN/100 gであったが、検出下限値以下の検体もあった (Table 1)。

泥から検出された *V. vulnificus* の菌数は、最も多い検体は8月のG (巴川上流) 600 MPN/100 gであったが、10月のH (港町1丁目海岸) の検体においては、検出下限値以下 (<30 MPN/100 g) であった (Table 1)。

2. 検体採取時の海水の水温、塩分濃度およびpH

海水温、塩分濃度およびpHは、変動を見るために調査月のデータ、標準偏差値および平均値をTable 1に示した。7月から10月までの20°C以下の海水温は、7月のA (真崎海水浴場) の15.1°Cで、ほかは20°Cを超えており、F (巴川河口) では9月に30.8°Cに達した。11月以降はすべての場所において20°C以下で推移した。

海水温が最も変動した場所は、F (巴川河口) で21.7 ± 6.8°Cであり、次いでC (三保3797番地海岸) 20.6 ± 5.8°C、D (折戸4丁目海岸) の順であった。全採取場所では、月別に3.6°Cから6.8°Cの変動幅が見られた。

塩分濃度に大きな変動を示した検体採取場所は、J (庵原川河口) 2.0 ± 0.6%で、次いでC (三保3797番地海岸) 2.3 ± 0.5%、G (巴川上流) 1.0 ± 0.4%であった。その他の採取場所では、0.1%から0.3%の変動幅で推移した。

検体採取場所のpHは、G (巴川上流) のpH 8.1 ± 0.4からJ (庵原河口) の9.1 ± 0.1の範囲に推移した。全採取場所の月別最低値は12月のG (巴川上流) のpH 7.5で、それ以外の場所は、pH 8.1~9.2の間で変動した。

考 察

V. vulnificus の全国的な分布については、限局的な環境中の調査報告があり、これらの報告では、本菌が汽水

域などの塩分濃度が低い海水に多く存在すること⁶⁾、水温が20°C以上になると旺盛に増殖すること^{1,6)}、貝類や泥で多く検出されること^{1,6)}、および九州地方で汚染が高いことが報告されている^{5,6)}。

清水港湾には、巴川、庵原川、その他の小河川等が注ぎ込んでおり、これらの河川が存在により海水の塩分濃度が低下している。また清水港湾は深く切れ込んだ形状であるために外海からの海水が流入する度合いが少ないため外洋の海水温の影響による冷却効果が少ないことから外気温の影響を受け海水温が上昇しやすい。したがって、清水港湾内には、*V. vulnificus* の生存に好適な環境が存在すると考えられる。

今回の調査ではE (折戸3丁目海岸)を除き、夏期を中心に清水港湾内全体から *V. vulnificus* が検出されており、港湾の本菌による汚染が明らかにされた。また、汚染菌量が多い地域では塩分濃度は総じて低い傾向にあることが示され、D (折戸4丁目海岸: 塩分濃度 2.4 ± 0.3%) のカキと泥、F (巴川河口: 塩分濃度 2.0 ± 0.2%)、G (巴川上流: 1.0 ± 0.3%) の海水と泥においては菌数が100 MPN/100 ml (g) を超える月も見られた。しかし、塩分濃度と菌数の増減についての直接的な関連性を示すデータは得られなかった。一方、E (折戸3丁目海岸) では、いずれの検体からも菌が検出されなかった。その原因としてE (折戸3丁目海岸) は、常に新鮮な外洋海流の影響を受けて有機物、プランクトンの死骸等が海底に蓄積されず、菌の増殖に適した場ではないこと、ならびに菌が増殖しても、その場に停滞することなく拡散されることなどが考えられる。

V. vulnificus の清水港湾内における分布は、検体によって異なる傾向を示した。すなわち海水から検出された月別の検出頻度は、J (庵原川河口)、B (三保海水浴場)、F (巴川河口) およびI (島崎町149番地海岸) の順で多かった。カキは、H (港町1丁目海岸) よりもD (折戸4丁目海岸) で菌数が多い傾向を示した。泥は、汽水域のG (巴川上流)、D (折戸4丁目海岸) およびH (港町1丁目海岸)、の順に菌の検出検体数および平均検出菌量が多かった。

汽水域において *V. vulnificus* が多く検出される傾向は、宮坂らの報告⁶⁾と一致した。

V. vulnificus の検体別の汚染菌数は、海水で10 MPN/100 mlに満たないことが多かった。カキでは30~150 MPN/100 g、泥は100 MPN/100 gを超えるものが多かった。

清水港湾における *V. vulnificus* の検出率は、泥から94.4%、カキから75.0%および海水から51.6%であった。このことから清水港湾内の海水における *V. vulnificus* は、Knekoら^{13,14)}が報告した腸炎ビブリオの生態と同様に海水よりも泥・カキで多く検出された。海水、カキおよび泥の検出率に差が見られる原因としては、海水では増殖の場となるプランクトンが拡散される

Table 1. The number of *V. vulnificus* in seawater, oyster and sea mud, and environmental data in the sampling area

Sampling area	Parameter	Month in 2006						SD (AV)
		Jul.	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	
A (Masaki beach for sea bathing)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	16	<3	6.1	<3	<3	(5.2)
	Temperature of seawater (°C)	15.1	20.5	27.7	23	18.8	15.4	20.1±4.8
	Salinity of seawater (%)	3	2.9	2.7	2.8	2.7	2.7	2.8±0.1
	pH of seawater	8.7	9.1	8.9	8.5	8.1	8.7	8.7±0.3
B (Miho beach for sea bathing)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	3	120	6.2	<3	6.1	<3	(25.6)
	Temperature of seawater (°C)	24	23.1	27	23.2	16.8	15.7	21.6±4.4
	Salinity of seawater (%)	2.8	2.5	2.9	2.8	2.6	2.6	2.7±0.2
	pH of sea water	8.8	9.1	8.8	8.7	8.4	8.9	8.8±0.2
C (The coast of 3797 Miho)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	<3	<3	4	9.1	9.1	(5.1)
	Temperature of seawater (°C)	23.5	22.5	27.6	22.8	12.7	14.2	20.6±5.8
	Salinity of seawater (%)	2.7	1.6	2.7	2.7	1.8	2.5	2.3±0.5
	pH of seawater	8.5	8.8	8.6	8.3	8.1	8.6	8.5±0.3
D (The coast of Orido 4 chome)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	14	<3	3	3	<3	(3.3)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in oyster (MPN/100 g)	30	92	93	150	91	<30	(76.0)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in sea mud (MPN/100 g)	270	91	150	420	40	30	(166.8)
	Temperature of seawater (°C)	25.5	23.5	28.2	22.7	16.3	14.1	21.7±5.4
	Salinity of seawater (%)	2	2.1	2.9	2.2	2.4	2.5	2.4±0.3
	pH of seawater	8.6	9.1	9.1	9.1	8.1	8.6	8.8±0.4
E (The coast in Orido 3 chome)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	(<3)
	Temperature of seawater (°C)	22.2	22.4	26.9	22.8	19.4	16.3	21.7±3.6
	Salinity of seawater (%)	2.8	2.8	3	2.9	2.9	3	2.9±0.1
	pH of seawater	8.7	9	8.7	8.8	8.6	8.9	8.8±0.2
F (The estuary of Tomoe river)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	6.1	4	<3	140	7	<3	(26.2)
	Temperature of seawater (°C)	24.2	23.4	30.8	24.2	14.1	13.2	21.7±6.8
	Salinity of seawater (%)	1.7	2.1	2.5	1.9	1.9	1.6	2.0±0.3
	pH of seawater	8.3	9.1	9	8.4	8.3	8.5	8.6±0.4
G (Upper stream of Tomoe river)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	<3	<3	30	280	<3	(51.7)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in sea mud (MPN/100 g)	91	600	300	160	110	60	(220.1)
	Temperature of seawater (°C)	24.7	23	28.9	22.5	17.2	13.5	21.6±5.4
	Salinity of seawater (%)	1	0.5	1	0.7	1.8	0.9	1.0±0.4
H (The coast of Minato-cho 1 chome)	pH of seawater	8.1	8.1	8.8	7.9	8.4	7.5	8.1±0.4
	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	7.3	7	60	<3	<3	(12.4)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in oyster (MPN/100 g)	30	36	<30	150	<30	40	(42.7)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in sea mud (MPN/100 g)	61	61	150	<30	40	30	(57.0)
I (The coast of 149 Shimazaki-cho)	Temperature of seawater (°C)	25.2	24	29.6	24	19.5	13.8	22.7±5.4
	Salinity of seawater (%)	2.6	2.4	2.6	2.9	2.9	2.6	2.7±0.2
	pH of seawater	8.5	8.9	8.7	8.7	9	8.9	8.8±0.2
	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	20	<3	2.1	4	6	(5.4)
J (The estuary of Ihara river)	Temperature of seawater (°C)	24.7	23.7	28.3	23.7	20	14.8	22.5±4.6
	Salinity of seawater (%)	2.9	2.5	2.9	2.9	3	2.8	2.8±0.2
	pH of seawater	9.1	9	8.9	8.6	8.8	8.7	8.9±0.2
	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	9.2	9.1	3.6	7.3	<3	6	(5.9)
	Temperature of seawater (°C)	24.7	23.3	27.8	23.8	19	15.5	22.4±4.4
	Salinity of seawater (%)	1.2	2.5	2.2	1.2	2.3	2.8	2.0±0.6
	pH of seawater	9.1	9.1	8.9	9	9.2	9	9.1±0.1

SD: Standard deviation, AV: Average value of MPN

こと、カキではプランクトンが消化管内に濃縮されること、および泥では菌が付着したプランクトンなどが堆積している量が多いことが考えられる。また、これらの有機物を利用して腸炎ビブリオと同様に泥の中で菌が増殖¹⁵⁾することも考えられる。したがって、今後は有機物が多い海泥、川泥、カキならびに底生動物などを採取し、それらが *V. vulnificus* の増殖の場になることを明らかにする必要があると考えられる。

V. vulnificus の分離培地に用いた CV 培地では、本菌が強く疑われる鮮やかな青色集落として釣菌されたものが 349 株あった。このうち TSI 培地による性状試験および NB 培地による食塩耐性試験で *V. vulnificus* の性状と一致した株は、181 株 (51.8%) みられ、そのうち PCR で *vvh* 遺伝子の保有を確認できたのが 73 株 (40.3%) であった。*V. vulnificus* は、増菌培養の温度や使用する選択分離培地の違いによって、検出率に影響を及ぼすことが工藤らによって報告⁹⁾ されており、今後はこれらの方法を考慮した調査が必要であろう。

今回の調査において、海水温が 26°C 以上あった 9 月の A (真崎海水浴場)、F (巴川河口)、I (島崎町 149 番地海岸) の海水および H (港町 1 丁目海岸) のカキでの菌量が少なかったが、その原因を明らかにすることはできなかった。しかし、静岡地方気象台は、検体採取日を含め、9 月 11 日から 4 日間に渡り、清水地区に毎日降雨があったことを公表しており、それらが影響したのかもしれない。さらに分離培地によっては *V. vulnificus* を疑う集落の釣菌に個人差を生ずる恐れも考えられることから、今後は SDS-polymixin B sucrose agar⁹⁾ や Cellobiose-polymixin B-collistin agar^{8, 11)} など有効性が認められている選択分離培地⁴⁾ を併用し、データのばらつきの原因を検証したいと考えている。

今回の調査で清水港湾内における *V. vulnificus* の汚染実態が明らかにされた。しかし、調査期間が短かったこと、および海水温が高いにもかかわらず *V. vulnificus* の検出率が低くデータにばらつきが見られたことなど、季節的な変動については解明できなかった。今後は年間を通して降雨と菌数の関係および増菌方法や分離培地を検討し、清水港湾内の *V. vulnificus* の消長を明らかにしたいと考えている。

文 献

- 1) 福島 博: 島根県沿岸における *Vibrio vulnificus* の分布および市販魚介類の *V. vulnificus* 汚染状況. 感染症学雑誌, 80, 220-229 (2006).
- 2) Hill, W. E., Keasler, S. P., Trucksess, M. W., Feng, P., Kaysner, C. A. and Lampel, K. L.: Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contamination oysters. Appl. Environ. Microbiol., 57, 707-711 (1991).
- 3) 小野友道, 井上雄二, 横山真為子, 柴 仁子, 後藤和枝, 河津俊彦, 平野芳久, 南 龍一, 松井珠乃, 小松崎 眞, 大山卓昭, 岡部信彦: 熊本県で発生した *Vibrio vulnificus* 感染症の集積. 病原体検出情報, 22, 9 (2001).
- 4) Kitaura, T., Doke, S., Azuma, I., Imaida, M., Miyano, K., Harada, K. and Yabuuchi, E.: Halo production by sulfatase activity in *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* O1 on a new selective sodium dodecyl sulfate-containing medium: a screening market in environmental surveillance. FEMS Microbiol. Lett., 17, 205-209 (1983).
- 5) 工藤由起子: ビブリオ・バルニフィカスの検査法の検討と汚染実態. 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進研究事業「細菌性食中毒の予防に関する研究」報告書, 105-111 (2006).
- 6) 宮坂次郎, 八尋俊輔, 荒平雄二, 濱洲大輔, 甲木和子, 徳永春樹: 熊本県内の *Vibrio vulnificus* の環境分布と *Vibrio vulnificus* 感染症発生状況 (2001~2004). 熊本県保健環境科学研究所報, 34, 37-43 (2004).
- 7) 大澤 真, 橋 洋正, 有田真知子, 橋本 徹, 石田 直, 本郷敏治, 藤井寛之: *Vibrio vulnificus* による敗血症の 1 部検例. 感染症学雑誌, 76, 63-66 (2002).
- 8) Oliver, J. D., Guthrie, K., Preyer, J., Wright, A., Simson, L. M., Siebeling, R. and Morris, Jr., J. G.: Use of colistin-polymyxin B-cellobiose agar in the isolation of *Vibrio vulnificus* from the environment. Appl. Environ. Microbiol., 58, 737-739 (1992).
- 9) 齋藤紀行, 山田わか, 渡邊 節, 小林妙子, 川野みち, 田村広子, 三品道子, 菅原直子, 佐藤由美, 畠山 敬, 谷津壽郎, 秋山和夫, 川向和雄: 宮城県内の海水及び市販貝類からのビブリオ・バルニフィカスの検出. 宮城県保健環境センター年報, 第 23 号 (2005).
- 10) 篠田純夫: ビブリオ・バルニフィカスについて. 日食雑誌, 17, 155-161 (2000).
- 11) Sun, Y. and Oliver, J. D.: The value of CPC agar for the isolation of *Vibrio vulnificus* from oyster. J. Food Prot., 58, 441-442 (1995).
- 12) 山本茂貴: ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な感染症について. 食品衛生研究, 56, 25-28 (2006).
- 13) Kaneko, T. and Colwell, R. R.: Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J. Bacteriol., 113, 24-34 (1973).
- 14) Kaneko, T. and Colwell, R. R.: Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. Appl. Microbiol., 30, 251-257 (1975).
- 15) Kumazawa, N. H. and Kato, E.: Survival of Kanagawa positive strains of *Vibrio parahaemolyticus* in a brackish-water area. J. Hyg. Camb., 299-307 (1985).

国立保健医療科学院蔵書



10031399