

表2-6 腸炎ビブリオおよびtdh陽性腸炎ビブリオの定性および定量分析結果および分離株の血清型

機関 番号	検体種	機関内 検体番号	腸炎ビブリオ 定性分離2(+/-)	tdh定性 PCR2(+/-)	腸炎ビブリオ 菌数(MPN/10g)	tdh陽性菌数 (MPN/10g)	分離菌株の血清型情報
6	アサリ	A1	+	-	<3	NT	-
		A2	+	-	>10	NT	-
		A3	+	-	>10	NT	-
		A4	+	-	>10	NT	O3:K6(tdh-)
		A5	+	-	>1000	NT	O3:K6(tdh-)
		A6	+	-	>1000	NT	O3:K6(tdh-)
		A7	+	-	>10	NT	O3:K6(tdh-)
		A8	+	-	>1000	NT	O3:K6(tdh-)
		A9	+	-	>100	NT	O3:K6(tdh-)
		A10	+	+	>1000	<3	O3:K6(tdh+,-)
		A11	+	-	>100	NT	O3:K6(tdh-)
		A12	+	+	>100	<3	-
		A13	+	+	>10	<3	O3:K6(tdh-)
		A14	+	-	>10	NT	-
		A15	+	-	<3	NT	-
		A16	+	+	>10	<3	O3:K6(tdh+)
		A17	+	-	<3	NT	-
		A18	+	+	>100	<3	O3:K6(tdh-)
		A19	+	-	<3	NT	-
		A20	+	-	<3	NT	-
		A21	+	-	3-10	NT	-
		A22	+	-	<3	NT	-
	アジ	B1	+	-	>100	NT	O3:K6(tdh-)
		B2	-	-	<3	NT	-
		B3	+	-	<3	NT	-
		B4	+	-	>10	NT	-
		B5	+	-	>10	NT	-
		B6	+	-	<3	NT	-
		B7	+	-	<3	NT	-
		B8	+	-	>10	NT	-
		B9	+	-	<3	NT	-
		B10	+	-	<3	NT	-
		B11	+	+	3-10	<3	-
		B12	+	-	>1000	NT	-
		B13	+	-	>100	NT	-
		B14	+	-	>10	NT	-
		B15	+	-	>1000	NT	O3:K6(tdh-)
		B16	+	-	>10	NT	O3:K6(tdh-)
		B17	+	-	3-10	NT	-
		B18	+	-	3-10	NT	-
		B19	+	-	>10	NT	-
		B20	+	-	3-10	NT	-
		B21	-	-	<3	NT	-
		B22	+	-	<3	NT	-

表2-7 腸炎ビブリオおよびtdh陽性腸炎ビブリオの定性および定量分析結果および分離株の血清型

機関 番号	検体種	機関内 検体番号	腸炎ビブリオ 定性分離2(+/-)	tdh定性 PCR2(+/-)	腸炎ビブリオ 菌数(MPN/10g)	tdh陽性菌数 (MPN/10g)	分離菌株の血清型情報
7	アサリ	A1	+	-	>10	NT	O3:K37, O4:K42
		A2	+	-	3-10	NT	O3:K6, OUT:K6
		A3	+	+	>10	<3	O3:K6, OUT:K22, O3:KUT
		A4	+	-	3-10	NT	O11:KUT, OUT:KUT
		A5	+	-	3-10	NT	O11:K31, OUT:K31
		A6	+	-	>10	NT	O11:K32, O3:K6
		A7	+	-	3-10	NT	O3:K5
		A8	+	-	>10	NT	O4:K12, O4:K34, OUT:K6, O3:K6
		A9	+	+	>100	<3	OUT:K6, OUT:K29, O1:K29
		A10	+	-	>100	NT	OUT:K34, O2:K6
		A11	+	-	>10	NT	O2:K64, OUT:K1
		A12	+	-	>10	NT	OUT:K28, O10:KUT
		A13	+	-	>10	NT	OUT:K25, O11:K25, O2:KUT, O3:KUT, OUT:K56, OUT:K9
		A14	+	-	>10	NT	O2:KUT, OUT:K56, OUT:K6
		A15	+	-	3-10	NT	O4:KUT, O3:KUT, OUT:KUT, O11:KUT
		A16	+	-	>100	NT	O2:K28, O4:K28, OUT:K28, O3:K6
		A17	+	-	>10	NT	OUT:K20, OUT:KUT, OUT:K39
		A18	+	-	>10	NT	OUT:K9
		A19	+	-	3-10	NT	O5:KUT, O2:KUT, OUT:KUT
		A20	+	-	3-10	NT	O6:KUT, O11:KUT, O2:K49
	アジ	B1	+	-	>10	NT	O3:KUT, O2:K28
		B2	+	-	>10	NT	O11:K28, O11:KUT
		B3	+	-	3-10	NT	OUT:KUT
		B4	+	-	3-10	NT	OUT:KUT
		B5	+	-	3-10	NT	O3:K6
		B6	+	-	>10	NT	O11:K28
		B7	+	-	>100	NT	OUT:K3, OUT:K10
		B8	+	-	3-10	NT	OUT:K9
		B9	+	-	3-10	NT	OUT:K28
		B10	+	-	>10	NT	OUT:K6
		B11	+	-	3-10	NT	O3:K58, O5:K1
		B12	+	-	3-10	NT	OUT:KUT
		B13	+	-	3-10	NT	OUT:K1, OUT:K6
		B14	+	-	3-10	NT	O5:KUT, O3:K1, OUT:K1, O3:K6
		B15	-	-	<3	NT	-
		B16	-	-	<3	NT	-
		B17	+	-	3-10	NT	OUT:KUT
		B18	+	-	>100	NT	OUT:K12, OUT:K24
		B19	+	-	3-10	NT	O2:K12, OUT:K12
		B20	-	-	<3	NT	-

表2-8 腸炎ビブリオおよびtdh陽性腸炎ビブリオの定性および定量分析結果および分離株の血清型

機関 番号	検体種	機関内 検体番号	腸炎ビブリオ 定性分離2(+/-)	tdh定性 PCR2(+/-)	腸炎ビブリオ 菌数(MPN/10g)	tdh陽性菌数 (MPN/10g)	分離菌株の血清型情報
8	アサリ	2	+	-	>1000	NT	O3:K6 O5:K20
		3	+	-	>1000	NT	O3:K6 O2:K28 O4:K49
		36	+	-	>1000	NT	O3:K6 O3:K37 ONT:K28 ONT:K30
		37	+	-	>10	NT	O3:K6 O3:K20 O4:K13 O4:K34
		38	+	-	>100	NT	O3:K6 O2:K28 O3:K45 O11:K22 O11:K49 ONT:K28
		49	+	-	>1000	NT	O3:K6 O3:K5 O3:K7 O4:K34
		50	+	-	>1000	NT	O3:K6 O3:K45 O4:K12 O8:K20
		51	+	-	>100	NT	KUT
		58	+	-	3-10	NT	O4:KUT O1:KUT
		62	+	-	>100	NT	O3:K6 O2:K28 O3:K31 O3:K45
		72	+	-	>100	NT	O2:K28 O4:K68
		73	+	-	>100	NT	O3:K6 O2:K28 O4:K68
		90	+	-	>10	NT	O3:K6 O1:K29 O2:KUT O3:K20 O8:K41
		91	+	-	>10	NT	O11:K70 ONT:K70
		92	+	-	3-10	NT	O3:K48 O11:K70 ONT:K70
		93	+	-	>1000	NT	O3:K30 O4:K12 O4:K49
		94	+	-	>1000	NT	O3:K6 O1:K33
		95	+	-	>1000	NT	O9:K1 OUT:K39
		96	+	-	>1000	NT	O1:K32 O11:K22 OUT:K28
		97	+	-	>100	NT	O4:K12 O5:K30 O9:K1 OUT:K55
	アジ	1	+	-	3-10	NT	O4:K34
		34	+	-	>10	NT	O3:K6 O1:K29 O2:K28 O4:K42
		35	+	-	>10	NT	O2:K28 O3:K31 O3:K37 O3:K45 O4:K9 O4:K68 O5:K30 ONT:K28
		46	+	-	>100	NT	O2:K28 O3:K20 ONT:K28
		47	+	-	>100	NT	O2:K22 O4:K12 O8:K43
		48	+	-	>100	NT	O2:K28 O4:K49 ONT:K28
		56	+	-	>10	NT	KUT
		57	+	-	>10	NT	O4:K64
		63	+	-	>100	NT	O4:K12
		64	+	-	<3	NT	KUT
		74	+	-	<3	NT	O2:K3
		75	+	-	ND	NT	-
		76	+	-	<3	NT	KUT
		77	+	-	<3	NT	O6:K22
		78	+	-	3-10	NT	O3:K6
		79	+	-	3-10	NT	KUT
		86	+	-	>10	NT	O2:K28 O4:K63
		87	+	-	<3	NT	O2:K28
		88	+	-	>1000	NT	O1:K41
		89	+	-	3-10	NT	O4:KUT O5:KUT

表2-9 腸炎ビブリオおよびtdh陽性腸炎ビブリオの定性および定量分析結果および分離株の血清型

機関 番号	検体種	機関内 検体番号	腸炎ビブリオ 定性分離2(+/-)	tdh定性 PCR2(+/-)	腸炎ビブリオ 菌数(MPN/10g)	tdh陽性菌数 (MPN/10g)	分離菌株の血清型情報
9	アサリ	A1	+	-	>1000	NT	
		A2	+	-	>1000	NT	
		A3	+	-	>1000	NT	
		A4	+	-	>1000	NT	
		A5	+	+	>1000	<3	
		A6	+	-	>100	NT	
		A7	+	-	>100	NT	
		A8	+	+	>1000	>10	O10:K52, O5:K17
		A9	+	-	>1000	NT	
		A10	+	+	>100	<3	
		A11	+	-	>1000	NT	
		A12	+	-	>1000	NT	
		A13	+	-	>100	NT	
		A14	+	-	>10	NT	
		A15	+	-	3-10	NT	
		A16	-	-	<3	NT	
		A17	+	-	3-10	NT	
		A18	+	-	>10	NT	
		A19	+	-	3-10	NT	
アジ	B1	B1	-	-	<3	NT	
		B2	+	-	3-10	NT	
		B3	-	-	<3	NT	
		B4	+	-	>100	NT	
		B5	+	-	>1000	NT	
		B6	+	-	>1000	NT	
		B7	+	-	>1000	NT	
		B8	+	-	>1000	NT	
		B9	+	-	>1000	NT	
		B10	+	-	3-10	NT	
		B11	+	-	3-10	NT	
		B12	+	-	>10	NT	
		B13	+	-	>100	NT	
		B14	+	-	>10	NT	
		B15	+	-	>10	NT	
		B16	+	-	>10	NT	
		B17	+	-	>100	NT	
		B18	+	-	>1000	NT	
		B19	+	-	>10	NT	
		B20	+	-	>1000	NT	
		B21	+	-	>1000	NT	
		B22	+	-	>1000	NT	
		B23	+	-	>10	NT	

表2-10 腸炎ビブリオおよびtdh陽性腸炎ビブリオの定性および定量分析結果および分離株の血清型

機関 番号	検体種	機関内 検体番号	腸炎ビブリオ 定性分離2(+/-)	tdh定性 PCR2(+/-)	腸炎ビブリオ 菌数(MPN/10g)	tdh陽性菌数 (MPN/10g)	分離菌株の血清型情報		
10	アサリ	3	+	-	>10	NT			
		4	+	-	3-10	NT			
		7	+	-	>10	NT	O3K6 tdh(-)		
		8	+	-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
		11	+	-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
		12	+	-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
		15	+	-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
		19	+	-	>100	NT	O3K6 tdh(-)		
		23	+	-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
		24	+	-	>100	NT	O3K6 tdh(-)		
		27	+	-	>100	NT	O3K6 tdh(-)		
		28	+	-	>100	NT	O3K6 tdh(-)		
		31	+	-	>10	NT	O3K6 tdh(-)		
		32	+	-	>10	NT			
		35	+	-	>10	NT	O3K6 tdh(-)		
		36	+	-	3-10	NT			
		39	+	-	3-10	NT	O3K6 tdh(-)		
		40	+	-	<3	NT			
			アジ	1	+	-	>10	NT	
				2	+	-	<3	NT	
5	+			-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
6	-			-	<3	NT			
9	+			-	>1000	NT			
10	+			-	>100	NT	O3K6 tdh(-)		
13	+			-	>100	NT			
14	+			-	>10	NT			
17	+			+	>1000	>100	O3K6 tdh(-)		
18	+			-	>1000	NT	O3K6 tdh(-)		
21	+			-	>1000	NT			
22	+			-	>1000	NT			
25	+			-	>100	NT			
26	+			-	>100	NT			
29	+			-	3-10	NT			
30	+			+	>1000	>10	O10KUT tdh(+), O3K6 tdh(-)		
33	+			-	>10	NT			
34	+			-	>10	NT			
37	+			-	>10	NT			
38	+			-	3-10	NT			

表3 検体からの腸炎ビブリオ分離およびtdh陽性腸炎ビブリオの検出

産地	種類	検体数	総腸炎ビブリオ		tdh陽性腸炎ビブリオ	
			分離検体数	tdh陽性検体数	TDH産生株分離検体	
北海道	アサリ	16	11	0	0	
	小計	16	11	0	0	
東北	アサリ	3	3	0	0	
	アジ	25	18	0	0	
	小計	28	21	0	0	
関東	アサリ	6	6	3	0	
	アジ	13	10	1	0	
	小計	19	16	4	0	
中部・近畿	アサリ	102	96	12	1	
	アジ	55	49	2	1	
	小計	157	145	14	2	
中国・四国	アサリ	24	18	0	0	
	アジ	2	2	0	0	
	小計	26	20	0	0	
九州	アサリ	71	70	3	2	
	アジ	87	81	3	2	
	小計	158	151	6	4	
不明	アサリ	2	2	1	0	
	アジ	1	1	0	0	
合計		407	367	25	6	

表4 TDH陽性分離菌株

産地	検体	血清型	分離株数	小計
中部・近畿	アサリ	O3:K6	5	5
	アジ	O10:K52	3	3
九州	アサリ	O3:K6	5	5
	アサリ	O5:K17	1	
		O10:K52	1	2
	アジ	O10:KUT	4	4
	アジ	O4:KUT	1	1
合計				20







研究成果の刊行に関する一覧表

学会要旨

発表者	発表題名	学会名	年月
大塚佳代子, 齋藤志保子, 杉山寛治, 山崎省吾, 八尋俊輔, 大友良光, 田中廣行, 中川 弘, 小沼博隆, 熊谷進, 小西良子, 工藤由起子	腸炎ビブリオ食中毒が減少した日本における本菌の二枚貝等鮮魚貝類汚染状況	第96回日本食品衛生学会学術講演会	平成 20 年 9 月
齋藤志保子, 大塚佳代子, 杉山 寛治, 山崎 省吾, 八尋 俊輔, 大友 良光, 田中廣行, 中川 弘, 小沼 博隆, 熊谷 進, 小西 良子, 工藤由起子	二枚貝等の鮮魚介類における腸炎ビブリオ分離状況と TDH 陽性株の分子疫学的性状について	第29回日本食品微生物学会学術総会	平成 20 年 10 月
山崎省吾, 齋藤志保子, 大塚佳代子, 杉山寛治, 八尋俊輔, 大友良光, 田中廣行, 中川弘, 小沼博隆, 熊谷進, 小西良子, 工藤由起子	わが国における鮮魚介類の腸炎ビブリオおよび TDH 産生株の分離状況	第12回腸炎ビブリオシンポジウム	平成 20 年 10 月
新井隆三、阿部慎之介、池田典子、外丸 仁、摩庭美智子、高齋進也、摩庭秀利、森田幸雄、小澤邦壽、小野一晃、木村博一、熊谷 進	サルモネラ選択分離培地：SALMONELLA CHROMOGENIC AGAR (OXOID 社) の特徴	第29回日本食品微生物学会学術総会	平成 20 年 10 月

## 腸炎ビブリオ食中毒が減少した日本における 本菌の二枚貝等鮮魚介類汚染状況

○ 大塚佳代子<sup>1</sup>, 齋藤志保子<sup>2</sup>, 杉山 寛治<sup>3</sup>, 山崎 省吾<sup>4</sup>, 八尋 俊輔<sup>5</sup>, 大友 良光<sup>6</sup>,  
田中 廣行<sup>7</sup>, 中川 弘<sup>8</sup>, 小沼 博隆<sup>9</sup>, 熊谷 進<sup>10</sup>, 小西 良子<sup>11</sup>, 工藤由起子<sup>11</sup>  
<sup>1</sup>埼玉県衛生研究所, <sup>2</sup>秋田県健康環境センター, <sup>3</sup>静岡県環境衛生科学研究所,  
<sup>4</sup>長崎県環境保健研究センター, <sup>5</sup>熊本県健康環境科学研究所, <sup>6</sup>弘前大学, <sup>7</sup>(財)日本食品分析センター,  
<sup>8</sup>(株)BMLフード・サイエンス, <sup>9</sup>東海大学, <sup>10</sup>東京大学, <sup>11</sup>国立医薬品食品衛生研究所

【目的】腸炎ビブリオ食中毒の過去十数年間における発生状況は、平成4年の99件を最低に、以後毎年増加し、平成10年には839件と急増して患者数12,318人に達した。このため、平成12年全国で腸炎ビブリオ(Vp)を対象とした「夏期食品一斉取締り」や「食品の汚染実態調査」が実施され、これらの結果を踏まえ、厚生省は翌年6月、水産食品に対する規格基準を通知・施行した。同年の発生件数は307件で、ピーク時の半数以下までに減少し、平成19年は事例数42件、患者数1,278人となった。この減少要因を検証するため、平成19年国内各地で採取された二枚貝等の鮮魚介類のVp汚染実態調査を行い、平成13年に実施した調査結果(前調査)と比較した。

【方法】平成19年7～11月に、北海道、東北、関東、中部、近畿、九州地域で採取された二枚貝等の鮮魚介類247検体(17種類、買い上げ)を検査した。各検体25gに9倍量のアルカリペプトン水(AP)を加え、35～37℃で18時間培養した。さらに、AP培養液を食塩加ポリミキシンブイオンにて2段階増菌培養した。この培養液を腸炎ビブリオK6免疫磁気ビーズ法及び直接法にて、CHROMagar Vibrio寒天培地に塗抹し培養した。耐熱性溶血毒遺伝子(*tdh*)検出法は、AP培養液の加熱抽出試料をtemplateとし、Tadaらの方法に準じた。Vp菌数及び

*tdh*(+)Vp菌数の定量は、MPN3管法にて前述の増菌方法及び塗抹方法を用いて行った。

【結果および考察】Vpは、247検体中187検体(検出率75.7%)から検出された。特に、アサリ、ハマグリ等10種類の魚介類では100%であった。*tdh*(+)Vp株は、アオヤギ4検体、アサリ1検体から分離され、その血清型はO4、OUTであった。平成8年以降東南アジアを中心に流行した血清型O3;K6株は、アオヤギ、アサリ、ハマグリ等27検体から分離されたが、いずれも*tdh*(-)であった。前調査との差異は、①Vp検出率の低下、②*tdh*(+)株の血清型の変化、③*tdh*(+)Vpに汚染された魚介類の採取場所変化であった。生食用鮮魚介類等の成分規格基準(Vp最確数100/g以下)を超えた検体の15.9%が*tdh*(+)で、基準値以下の検体の4.4%が*tdh*(+)であったが、これは前調査とほぼ同様の値であった。今回の調査結果から、二枚貝等の鮮魚介類におけるVp汚染状況は現在も前調査時と比べ大きく変化していないが、*tdh*(+)のO3;K6の汚染が減少したことが示された。平成11年以降には「低温管理と汚染海水の2次汚染防止」、「採取から消費までの加工基準・保存基準・調理基準、取扱等」の対策がとられており、Vp食中毒の減少要因を検証するには、導入された種々の対策項目、他の病因物質による食中毒防止対策、食嗜好・食習慣の変化等の効果についても、今後検討が必要である。

## わが国における鮮魚介類の腸炎ビブリオおよびTDH産生株の分離状況

<sup>1</sup>長崎県環境保健研究センター, <sup>2</sup>秋田県健康環境センター, <sup>3</sup>埼玉県衛生研究所, <sup>4</sup>静岡県環境衛生科学研究所, <sup>5</sup>熊本県健康環境科学研究所, <sup>6</sup>弘前大学, <sup>7</sup>(財)日本食品分析センター, <sup>8</sup>㈱BMLフード・サイエンス, <sup>9</sup>東海大学, <sup>10</sup>東京大学, <sup>11</sup>国立医薬品食品衛生研究所

○山崎 省吾<sup>1</sup>, 齊藤 志保子<sup>2</sup>, 大塚 佳代子<sup>3</sup>, 杉山 寛治<sup>4</sup>, 八尋 俊輔<sup>5</sup>, 大友 良光<sup>6</sup>, 田中 廣行<sup>7</sup>, 中川 弘<sup>8</sup>, 小沼 博隆<sup>9</sup>, 熊谷 進<sup>10</sup>, 小西 良子<sup>11</sup>, 工藤 由起子<sup>11</sup>

【目的】わが国における腸炎ビブリオ(Vp)食中毒は、平成8年以降急増し、平成10年には事件数839件、患者数12,318人に達した。このため厚生省は平成13年6月、水産食品に対する規格基準を通知・施行した。同年の発生件数は307件でピーク時の36.6%に、平成19年には事件数で5.0%(42件)、患者数で10.4%(1,278人)と減少した。この減少要因を検証するため、平成19年に国内各地で採取した二枚貝等の鮮魚介類のVp汚染実態調査を行い、平成13年に実施した調査結果(前調査)と比較した。さらに分離株の一部についてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行い、患者由来株との分子疫学的性状について検討した。

【方法】平成19年7-11月に、北海道・東北、関東・中部・近畿および九州地域で採取されたアオヤギ73検体、アサリ54検体、イワガキ40検体、ホタテ37検体、その他47検体の計17種類の二枚貝等の鮮魚介類247検体を検査した。各検体25gをアルカリペプトン水(APW)および食塩加ポリミキシンブロンを用いた3段階培養法を実施した。この培養液をK6免疫磁気ビーズ法および直接法にて、CHROMagar Vibrio 寒天培地に塗抹した。耐熱性溶血毒遺伝子(*tdh*)の検出は、APW培養液の加熱抽出試料を鋳型としたPCR法で行った。Vp菌数および*tdh*(+)菌数の定量は、MPN3管法でおこなった。PFGEは今回の調査で分離されたVp株、前調査で分離されたイワガキ由来株および平成13-19年に分離された患者由来株について実施した。制限酵素には*NotI*を用い、泳動条件はBlock1:6V/cm, 4-8秒, 11時間, Block2:6V/cm, 8-50秒, 9時間とした。

【結果および考察】Vpは、247検体中187検体(検出率75.7%)から検出され、地域別に分離率を見ると北海道・東北地域で61.5%、関東・中部・近畿地域で100%、九州地域で100%であった。また、*tdh*(+)の検体は16検体(6.5%)で、アオヤギ4検体、アサリ1検体の計5検体(2.0%)から耐熱性溶血毒(TDH)産生株が分離され、その血清型はO4(K血清型:9, 37, 38, UT)およびOUT(K血清型:37, 38, UT)であった。O3:K6株は、27検体(10.7%)から分離されたがいずれもTDH陰性株であった。Vp検出率は、北海道・東北地域(前調査83.3%)で低下し、関東・中部・近畿地域(前調査95.7%)および九州地域(前調査92.3%)では前調査よりむしろ高率であったが、全地域(前調査95.4%)では低下していた。また、*tdh*検出率(前調査10.0%)およびTDH産生株検出率(前調査3.3%)は若干の低下が見られた。PFGE解析ではアオヤギ由来TDH産生株は、患者由来株と異なったが、アサリ由来のTDH産生O4:K9株が患者由来O4:K9株とパターンが一致した。

今回の調査からTDH産生Vpの汚染状況は前調査時と比べ大きく変化していないが、TDH産生O3:K6の汚染が減少したことが明らかとなった。Vp食中毒の減少要因を検証するには、導入された数々の対策項目、他の食中毒防止対策および食習慣の変化などの効果についても、今後検討が必要である。



二枚貝等の鮮魚介類における腸炎ビブリオ分離状況とTDH陽性株の分子疫学的性状について

○齋藤志保子<sup>1</sup>, 大塚佳代子<sup>2</sup>, 杉山 寛治<sup>3</sup>, 山崎 省吾<sup>4</sup>, 八尋 俊輔<sup>5</sup>, 大友 良光<sup>6</sup>, 田中 廣行<sup>7</sup>, 中川 弘<sup>8</sup>, 小沼 博隆<sup>9</sup>, 熊谷 進<sup>10</sup>, 小西 良子<sup>11</sup>, 工藤由起子<sup>11</sup>

<sup>1</sup>秋田県健康環境センター, <sup>2</sup>埼玉県衛生研究所, <sup>3</sup>静岡県環境衛生科学研究所, <sup>4</sup>長崎県環境保健研究センター, <sup>5</sup>熊本県保健環境科学研究所, <sup>6</sup>弘前大学, <sup>7</sup>(財)日本食品分析センター, <sup>8</sup>(株)BMLフード・サイエンス, <sup>9</sup>東海大学, <sup>10</sup>東京大学, <sup>11</sup>国立医薬品食品衛生研究所

【目的】腸炎ビブリオ(VP)食中毒は平成8年以降急増し、平成10年には事件数839件、患者数12,318人に達したが、その後減少に転じ、平成19年は事例数で約1/20(42件)、患者数で約1/10(1,278人)となった。この減少要因を検証するため、平成19年に国内各地で採取された二枚貝等鮮魚介類のVp汚染実態調査を行い、平成13年に実施した調査結果(前調査)と比較した。さらに分離株の一部についてパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)を行いその分子疫学的性状について検討した。

【方法】平成19年7~11月に、日本沿岸で採取されたアオヤギ73、アサリ54、イワガキ40、ホタテ37、他47、計17種類の二枚貝等の鮮魚介類247検体を検査に供した。検体は25gとし、アルカリペプトン水(AP)、食塩加ポリミキシンブイオンを用いた3段階増菌培養法を実施した。この培養液をK6免疫磁気ビーズ法及び直接法にて、CHROMagar Vibrio寒天培地に塗抹した。耐熱性溶血毒遺伝子(*tdh*)の検出は、AP培養液をtemplateとしたPCR法で行った。Vp菌数及び*tdh*(+)Vp菌数の定量は、MPN3管法で行った。PFGEは今回の調査で分離されたVp株、前調査で分離された岩ガキ由来株、及び平成13~19年に分離された患者由来株について実施した。制限酵素には*NotI*を用い、泳動条件はBlock 1:6V/cm、4-8 Sec. 11時間、Block 2:6V/cm、8-50 Sec. 9時間とした。

【結果と考察】Vpは、247検体中187検体(75.7%)から検出され、前調査の95.4%に比して検出率が低下していた。AP培養液で*tdh*(+)の検体は16検体(6.5%)であり、前調査の10%に比して*tdh*(+)陽性率がやや低く、貝種別における*tdh*(+)陽性率の変化も認められた。*Tdh*(+)Vp株は、アオヤギ4検体、アサリ1検体から分離され、その血清型は、04:K37、04:K38、04:KUT、OUT:K37、OUT:K38、OUT:KUT、04:K9であった。03:K6は、27検体から分離されたが、いずれも*tdh*(-)であった。PFGE解析では、アオヤギ由来41株が4パターンに分けられ、そのうち類似した2パターンにほとんどの株が含まれた。04:K9*tdh*(+)はアサリからのみ分離され、アサリ由来株と平成19年及び13年に分離された患者由来株とパターンが一致し、本型は以前から継続して魚介類を汚染していると考えられた。今回の調査結果から二枚貝を中心とするVp汚染状況は前調査時と現在も大きく異ならないと考えられたが、03:K6*tdh*(+)の汚染が減少したことが明らかとなった。今後さらに、Vp食中毒の減少要因を検証するには、導入された種々の対策項目等の検討が必要と考えられた。

## サルモネラ選択分離培地: SALMONELLA CHROMOGENIC AGAR

### (OXOID 社)の特徴

○新井隆三<sup>1</sup> 阿部慎之介<sup>1</sup> 池田典子<sup>1</sup> 外丸 仁<sup>1</sup> 麻庭美智子<sup>1</sup> 高齋進也<sup>1</sup>

麻庭秀利<sup>1</sup> 森田幸雄<sup>2</sup> 小澤邦壽<sup>2</sup> 小野一晃<sup>3</sup> 木村博一<sup>4</sup> 熊谷 進<sup>5</sup>

(1 マニハ食品株式会社 2 群馬県衛生環境研究所 3 埼玉県衛生研究所

4 国立感染症研究所 5 東京大学)

#### 【目的】

サルモネラは食中毒原因物質のうち常に上位にあり食品衛生学的に重要な細菌である。サルモネラの検体からの分離方法としては DHL 寒天培地を代表とする硫化水素産生能により識別する方法や BG 寒天培地を代表とするリシン脱炭酸能により認識する方法が従来から用いられてきた。1990 年代には CHROMagar Salmonella (CAS) 等の酵素基質培地が開発・普及し、検体からのサルモネラの分離がより容易となった。今回我々は、Oxoid 社により販売されている SALMONELLA CHROMOGENIC AGAR (SCA) を入手したので、本培地のサルモネラ分離時の特徴について検討した。

#### 【方法】

1) 動物の腸内容物からのサルモネラ分離による比較: 豚の直腸内容 50 検体を約 10 倍量の BPW で希釈後、Rappaport-Vassiliadis (RV) 培地(日水)とハーナテトラチオン酸塩(TT)培地(Oxoid)で増菌培養後、5 種の選択分離培地[SCA (Oxoid)、CAS(CHROMagar)、DHL(日水)、MLCB(日水)、BGA(Oxoid)]に塗抹・培養し、選択分離培地におけるサルモネラ分離の特徴について比較した。

2) 金属表面に接種し・長期生存したサルモネラの分離による比較: *S. Enteritidis*

菌株番号 64 をステンレス製ボルトに接種後、4 週間ごとに 20 週間後まで、ボルトに生存するサルモネラ菌数を、前述した 5 種の選択分離培地およびトイブソイ寒天培地(TSA)(日水)を用いて測定した。

#### 【結果と考察】

1) 動物の腸内容物からのサルモネラ分離による比較: サルモネラは 8%(4/50 頭)豚の直腸内容が保菌しており菌種は *S. Derby* と *S. Typhimurium* が 2 頭ずつであった。全ての選択分離培地上にサルモネラ集落が出現したが、酵素基質培地の SCA と CAS は容易に鑑別が可能であった。

2) 金属表面に接種し・長期生存したサルモネラの分離による比較: *S. Enteritidis* 菌株番号 64 の菌数は 8 週目より TSA 上の集落数よりも 5 種の選択分離培地上の集落数が少なくなり、20 週目では TSA 上の集落数に比べ、DHL、MLCB、BGA は 2 割減、SCA は 5 割減、CAS は 9 割減の集落数となった。

酵素基質培地はサルモネラ分離にきわめて有効な培地であるが、長期生存等、ストレス状態のサルモネラに関しては分離できない危険性があること、SCA は CAS と比較しストレス状態のサルモネラ分離に有効であることが判明した。