

生活環境内の海水, 河川および下水における 病原ビブリオ分布調査

山 脇 徳 美* 齋 藤 志保子* 和 田 恵理子*
森 田 盛 大*

I はじめに

ヒトに病原性を有するビブリオ(*Vibrio*) 属の菌として、従来 01 *V. cholerae* と *V. parahaemolyticus* が知られていた。ところが近年、両菌以外のビブリオによる胃腸炎、敗血症、創傷感染、日和見感染などの感染例が世界各地で報告されるようになった。また、国内でもこの種の散発例や集団発生がみられるようになった^{1)~3)}ことから、厚生省は昭和57年にNon-01 *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. fluvialis* の3菌種を新たに食中毒原因菌として追加した⁴⁾。これらのビブリオは、河口域あるいは海水に生息する細菌であり、魚介類を介して人に感染することが知られている⁵⁾。

秋田県では、昭和40年から47年にかけて金らにより本県の海水、河川水、ヒト、魚介類等における *V. parahaemolyticus* の分布調査が行われた^{6)~13)} が、今回、我々は、01 *V. cholerae* と *V. parahaemolyticus* に今度新しく食中毒原因菌に加えられた上述の3菌種を加えたいわゆる病原ビブリオの分布状況を把握する目的で、昭和60年4月から秋田港の海水、県南部を流れて秋田市に河口をもつ雄物川の河川水および秋田市の下水について病原ビブリオの検索を行ったので、その成績を報告する。

II 材料と方法

1) 検査材料

検査材料は日本海に面している秋田港の海水、日本海に注ぐ雄物川の河口より約2km上流地点の河川水および秋田市下水終末処理場に流入する下水を、昭和60年4月から61年8月まで毎月1回、2ℓずつ採取した。検体採取時には水温も測定した。

2) 検査方法

病原ビブリオの検査法を図1に示した。すなわち、2ℓの三角フラスコに検体1ℓを入れ、ポリペプトン(大五栄養化学)10gと塩化ナトリウム(和光純薬)10gを

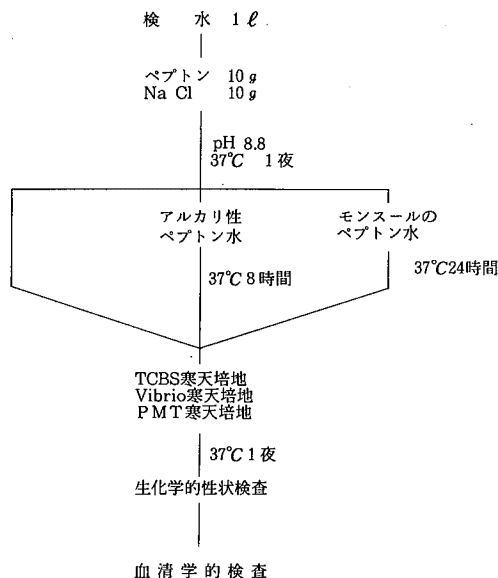


図1 病原ビブリオの検査法

加え、pHを8.8に調整した後、37°Cで一夜増菌(一次増菌)した。この培養上清をTCBS寒天培地(日水製薬)、ビブリオ寒天培地(日水製薬)、PMT寒天培地(日水製薬)に塗抹すると共に、二次増菌するためにアルカリ性ペプトン水(日水製薬)10mlとモンスールのペプトン水(日水製薬)10mlに2白金耳ずつ接種し、アルカリ性ペプトン水は37°Cで8時間、モンスールのペプトン水は37°Cで24時間それぞれ培養した。各培養上清をそれぞれTCBS寒天培地、ビブリオ寒天培地、PMT寒天培地に塗抹し、37°Cで一夜培養後、*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*が疑われるコロニーを釣菌し、生化学的性状検査を行い、それぞれの菌種を決定した。*V. cholerae*の01スライド凝集試験と*V. parahaemolyticus*のK型別スライド凝集試験は市販血清(デン化生研)を用いて行ったが、Non-01 *V. cholerae* 血清型別は国立予防衛生研究所島田俊雄博士に依頼した。

* 秋田県衛生科学研究所

表1 病原ビブリオの検出成績

採水地点		海 水				河 川 水				下 水			
年	菌 月 種	Non-01 V. cholerae	V. para- haemolyticus	V. fluvialis	V. mimicus	Non-01 V. cholerae	V. para- haemolyticus	V. fluvialis	V. mimicus	Non-01 V. cholerae	V. para- haemolyticus	V. fluvialis	V. mimicus
60	4	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
	5	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-
	6	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
	7	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
	8	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-
	9	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
	10	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	11	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
	12	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
61	1	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
	2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+
	5	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
	6	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-
	7	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-
	8	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
検出率※		58.8 (10/17)	76.5 (13/17)	64.7 (11/17)	0.0 (0/17)	70.6 (12/17)	11.8 (2/17)	17.6 (3/17)	29.4 (5/17)	58.8 (10/17)	29.4 (5/17)	88.2 (15/17)	17.6 (3/17)

※ (陽性数/検査数)

なお、60年4月～7月にはモンスールのペプトン水での増菌は行わなかった。

Ⅲ 成 績

1) 病原ビブリオ検出状況

表1に3調査地点における月別の病原ビブリオ検出状況を示した。海水では、*V. parahaemolyticus* の検出率が76.5%と最も高く、次いで、*V. fluvialis* の64.7%、Non-01 *V. cholerae* の58.8%であり、*V. mimicus* は検出されなかった。河川水からは、Non-01 *V. cholerae* が70.6%と最も高率に検出され、次いで、*V. mimicus* (29.4%)、*V. fluvialis* (17.6%) の順であったが、*V. parahaemolyticus* は60年9月と61年8月の2回検出されただけであった。下水についてみると、最も高率に検出されたのが *V. fluvialis* (88.2%) で、次いで、Non-01 *V. cholerae* (58.8%)、*V. parahaemolyticus* (29.4%)、*V. mimicus* (17.6%) の順であった。なお、01 *V. cholerae* はいずれの検査材料からも検出されなかった。

2) 水温と病原ビブリオの検出状況

検体採取時の水温と病原ビブリオの検出状況を図2に

示した。海水についてみると、Non-01 *V. cholerae* と *V. parahaemolyticus* は、4℃以下の水温では検出されなかったが、6℃では検出された。*V. fluvialis* は、2℃という最も低い水温のときでも検出されたが、逆に水温が24℃以上では検出されなかった。河川水では、Non-01 *V. cholerae* は、海水の場合と異なり、3℃でも検出された。*V. mimicus* は最低水温の1℃の河川水からでも検出された。下水では、*V. fluvialis* は水温に関係なく検出され、また、Non-01 *V. cholerae* も9℃以上の水温で検出されたが、*V. parahaemolyticus* は、腸炎ビブリオ食中毒の多発する水温19℃以上の夏期に検出された。

3) 増菌法による病原ビブリオ検出率の比較

一次増菌培養後の二次増菌用培地として、アルカリ性ペプトン水とモンスールのペプトン水を用いた場合の病原ビブリオの検出状況を比較した結果、表2の成績が得られた。

Non-01 *V. cholerae* についてみると、一次増菌では平均35.3%の検出率であったが、二次増菌すると、アルカリ性ペプトン水からの検出率は39.2%およびモンスールのペプトン水からの検出率は48.7%となり、後者の方が若干高率であった。*V. parahaemolyticus* につ

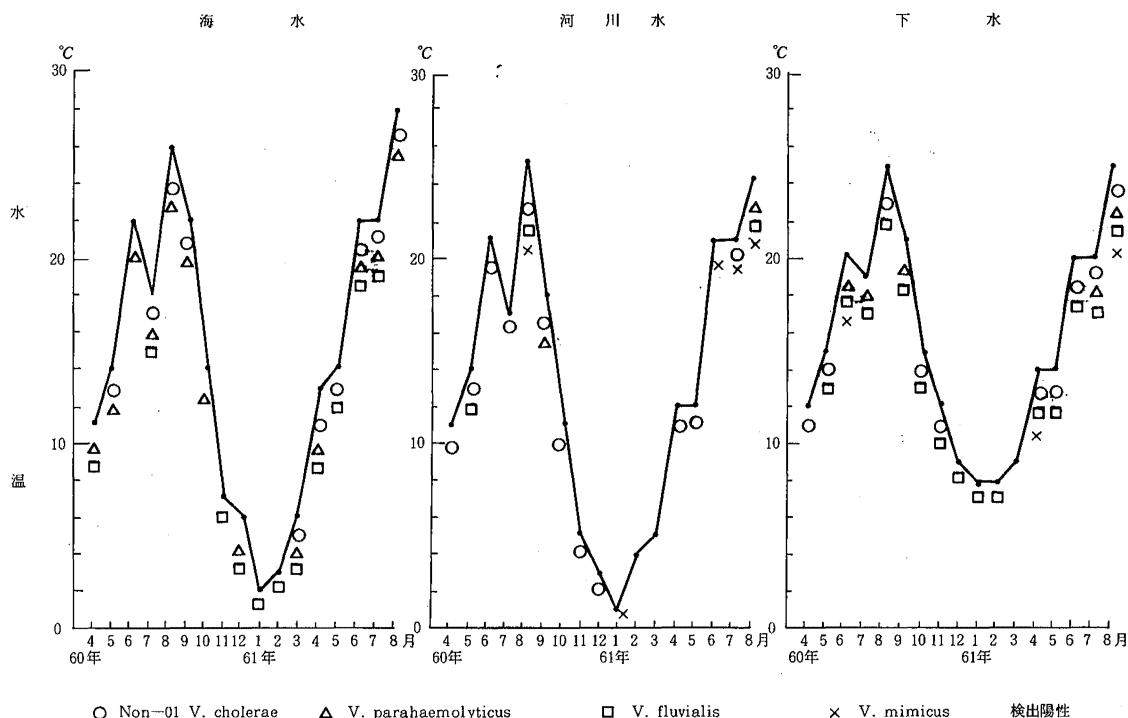


図2 水温と病原ビブリオ検出状況

表2 増菌法による病原ビブリオ検出率の比較

		一 次 増 菌	二 次 増 菌	
			アルカリ性ペプトン水	モンスールのペプトン水
Non-01 V. cholerae	海 水	4/17 (23.5)※	7/17 (41.2)	5/13 (38.5)
	河川水	9/17 (52.9)	9/17 (52.9)	7/13 (53.8)
	下 水	5/17 (29.4)	4/17 (23.5)	7/13 (53.8)
	計	18/51 (35.3)	20/51 (39.2)	19/39 (48.7)
V. para- haemolyticus	海 水	10/17 (58.8)	10/17 (58.8)	3/13 (23.1)
	河川水	3/17 (17.6)	2/17 (11.8)	1/13 (7.7)
	下 水	5/17 (29.4)	3/17 (17.6)	0/13 (0.0)
	計	18/51 (35.3)	15/51 (29.4)	4/39 (10.3)
V. fluvialis	海 水	6/17 (35.3)	8/17 (47.1)	6/13 (46.2)
	河川水	1/17 (5.9)	1/17 (5.9)	1/13 (7.7)
	下 水	11/17 (64.7)	12/17 (70.6)	3/13 (23.1)
	計	18/51 (35.3)	21/51 (41.2)	10/39 (25.6)
V. mimicus	海 水	0/17 (0.0)	0/17 (0.0)	0/13 (0.0)
	河川水	4/17 (23.5)	3/17 (17.6)	4/13 (30.8)
	下 水	3/17 (17.6)	2/17 (11.8)	1/13 (7.7)
	計	7/51 (13.7)	5/51 (9.8)	5/39 (12.8)

※ 陽性数/検査数 (%)

いてみると、一次増菌による検出率は35.3%であったが、二次増菌での検出率は、アルカリ性ペプトン水の29.4%およびモンスールのペプトン水の10.3%と低下した。V. fluvialis は一次増菌では35.3%の検出率で分離されたが、アルカリ性ペプトン水による二次増菌培養液からの検出率(41.2%)が、モンスールのペプトン水からの検出率(25.6%)より高率であった。V. mimicus では、一次増菌による検出率が13.7%であったが、二次増菌ではいずれも一次増菌の場合より低い検出率であった。

4) Non-01 V. cholerae と V. parahaemolyticus の血清型別成績

それぞれの検査材料から検出された Non-01 V. cholerae と V. parahaemolyticus の各月の代表株につい

て行った血清型別成績を表3に示した。海水から検出された Non-01 V. cholerae は10株中7株(70.0%)が6種類の血清型に型別された。しかし、V. parahaemolyticus では、16株中5株(31.3%)が型別されただけであった。河川水からの Non-01 V. cholerae では15株中8株(53.3%)が3種類の血清型(2株がO-14型、5株がO-45型および1株がR型)にそれぞれ型別された。下水についてみると、Non-01 V. cholerae は12株中5株(41.7%)が5種類およびV. parahaemolyticus は6株中2株(33.3%)が2種類の血清型にそれぞれ型別された。

表3 Non-01 *V. cholerae* のO型別と
V. parahaemolyticus のK型別

	Non-01 <i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
海 水	O-5: 1※ ¹ O-14: 2	K-13: 1 K-15: 1
	O-32: 1 O-36: 1	K-17: 1 K-42: 1
	O-53: 1 R型: 1	K-61: 1 UK: 11
	UK※ ² : 3	
河 川 水	O-14: 2 O-45: 5	
	R型: 1	
	UK: 7	UK: 2
下 水	O-14: 1 O-19: 1	K-17: 1
	O-65: 1 O-68: 1	K-32: 1
	R型: 1 UK: 7	UK: 4

※¹菌株数

※²型別不明

IV 考 察

環境、魚介類、市販食品などの病原ビブリオの分布調査は各地で行われ、特に新しく食中毒原因菌に加えられたNon-01 *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. mimicus* の検出率が高いことが報告されている¹⁴⁻¹⁷。このことから、我々は昭和60年4月から海水、河川水、下水について病原ビブリオの定点観測を行い、秋田県内における病原ビブリオの分布を調査した。

ビブリオ属の生息に最も適している海水からは*V. parahaemolyticus* (76.5%) と*V. fluvialis* (64.7%) が高率に検出され、また、Non-01 *V. cholerae* (58.8%) もこれらに次いで高率に検出されたが、*V. mimicus* と01 *V. cholerae* は全く検出されなかった。河川水からは、無塩でも増殖ができ、主に河口を最適の生息地とするNon-01 *V. cholerae* が70.6%と高率に検出され、次いで、Non-01 *V. cholerae* と白糖分解能以外は全く同一性状を有する*V. mimicus* が29.6%検出された。しかし、好塩性の*V. fluvialis* の検出率は17.6%であり、また、金の成績¹⁰では河川水から全く検出されなかった*V. parahaemolyticus* が腸炎ビブリオ食中毒の多発する夏場の60年9月と61年8月にのみ検出された。このように、検出される病原ビブリオの菌種が、生息する環境水域の塩濃度の相違によって異なるような傾向を示した。ヒト社会での汚染を反映しているともいえる下水中の病原ビブリオについては、新しく食中毒原因菌に加えられた*V. fluvialis* とNon-01 *V. cholerae* の検出率が高率であったことが注目された。しかし、本調査で01 *V. cholerae* はどの検査材料からも全く検出されな

かったことから、少なくともこの限りにおいては、本菌の秋田市内への侵襲はなかったものと推定される。

病原ビブリオの検出状況と水温との関係を見ると、生息に適しているとみられる地点から採取した検体からは、かなり水温が低いときでも病原ビブリオが検出された。特に、*V. mimicus* は1℃の河川水からも検出され、また、海水からの*V. fluvialis* は、むしろ水温が低くなると、検出率が高くなる傾向を示した。これに対して、河川水および下水からの*V. parahaemolyticus* は、腸炎ビブリオ食中毒が多発し、水温が18℃以上になる夏期に検出された。また、下水からの*V. fluvialis* は、水温に関係なく、年間をとおして検出されたことから、ヒト社会への侵襲がかなりすすんでいることが示唆された。

Kanekoら¹⁸は、*V. parahaemolyticus* が海底土中で越冬することを報告し、また、金^{9,11,13}も、外海の影響を直接受けることのないような漁港では海水中でも越冬するとし、真冬の2月に6℃の海水から*V. parahaemolyticus* を高率に検出した。我々も6℃の海水から本菌を検出したことから、6℃の海水中で*V. parahaemolyticus* が越冬できることが再確認された。

病原ビブリオの検査法はいろいろ報告されている^{14,15,17}が、我々は二次増菌培地としてアルカリ性ペプトン水とモンスールのペプトン水を用い、病原ビブリオの検出率を比較してみた。その結果、Non-01 *V. cholerae* と*V. mimicus* の場合は二次増菌にモンスールのペプトン水を用いることによって検出率が高くなり、逆に、*V. fluvialis* の場合はアルカリ性ペプトン水を用いた方が検出率が高かった。しかし、*V. parahaemolyticus* は一次増菌による検出率の方が二次増菌より高率であった。これらのことから、目的とする菌種によって増菌培地を選択する必要があると考えられた。

一方、本調査で検出されたNon-01 *V. cholerae* のO血清型別と*V. parahaemolyticus* のK血清型別成績をみると、海水からのNon-01 *V. cholerae* は10株中7株(70.0%)が6種類の血清型に型別され、既知¹⁹の血清型菌が多かった。また、河川水由来のNon-01 *V. cholerae* は、O型別不明菌が46.7%を占めたものの、O-45型菌が5株(33.3%)を占めていたことや型別された血清型自体も3種類と少なかったことから、同一血清型の菌が定着しているのではないかと推定された。下水からのNon-01 *V. cholerae* は、5株(41.7%)が5種類の血清型に型別されたが、型別不明株が58.3%もあったことから、血清型の多様化が示唆された。これに対して、*V. parahaemolyticus* はわずか29.2%しかK型別されなかった。

このように、秋田市内の生活環境内にある海水、河川水

および下水が病原ビブリオによってかなり高度に汚染され、しかも、その血清型が多様化していることが示唆された。しかも、水温の高いときはもちろん、水温の低い時期でも病原ビブリオが生息していた。これらの成績は、夏期だけではなく、冬期間も含めて、ビブリオ食中毒防止対策を講ずる必要性を示したものと考えられる。

V 結 論

昭和60年4月から61年8月まで、秋田市内の海水、河川水および下水について病原ビブリオの定点観測を行い、次のような成績を得た。

1. 海水からは、*V. parahaemolyticus* が76.5%、*V. fluvialis* が64.7%、Non-01 *V. cholerae* が58.8%検出され、河川水からは、Non-01 *V. cholerae* が70.6%、*V. mimicus* が29.4%検出された。下水からは、*V. fluvialis* が88.2%、Non-01 *V. cholerae* が58.8%、*V. parahaemolyticus* が29.4%検出された。

2. 海水を主な生息の場としている *V. parahaemolyticus* は水温が6℃のときでも海水から検出された。また、*V. fluvialis* は低温になると検出率が高くなる傾向を示した。特に、海水の水温が最低の2℃のときでも検出された。

3. 無塩培地でも発育できる Non-01 *V. cholerae* は水温が3℃の河川水からも検出され、また、ほぼ同一の性状を有する *V. mimicus* も1℃の河川水から検出された。

4. 下水からの *V. fluvialis* はほぼ年間を通して検出され、*V. parahaemolyticus* は腸炎ビブリオ食中毒の多発する、水温の高い夏期に検出された。

5. モンスールのペプトン水は Non-01 *V. cholerae* の増菌に適していることが確認された。

6. 海水からの Non-01 *V. cholerae* は7株(70.0%)が6種類のO血清型に型別された。また、河川水由来の Non-01 *V. cholerae* は3種類のO血清型に型別され、その内O-45型菌が5株(33.3%)を占めていた。*V. parahaemolyticus* は全体でわずか7株(29.1%)がK型別されただけであった。

7. 以上の成績から、秋田市の生活環境内にある海水、河川水および下水が病原ビブリオによってかなり汚染され、しかも、これらの血清型が多様化していることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本調査で検出された Non-01 *V. cholerae* のO型血清型別試験をしていただいた国

立予防衛生研究所島田俊雄博士に深謝します。

文 献

- 1) 篠川至たち：白糖非分解性 *Vibrio cholerae* serovar 41による急性胃腸炎の散発例および集団食中毒事例について、感染症学雑誌，54，226（1980）
- 2) 村松紘一たち： *Vibrio cholerae* serovar 6によると思われる集団下痢症について、感染症学雑誌，55，1—6（1981）
- 3) 小林一寛たち： *Vibrio fluvialis* によると思われる急性胃腸炎例とその下痢起病性について、感染症学雑誌，57，375—382（1983）
- 4) 厚生省環境衛生局食品衛生課長通知，環食第59号，（昭和57年3月11日）
- 5) 坂崎利一：新しい食中毒菌とこれからの細菌性食中毒の調べ方，食品衛生研究，32，547—556（1982）
- 6) 金鉄三郎たち：由利海岸に於ける腸炎ビブリオの調査研究（第1報），秋田県衛生科学研究所報，10，19—20（1966）
- 7) 金鉄三郎：由利海岸に於ける腸炎ビブリオの調査研究（第2報），秋田県衛生科学研究所報，11，40—42（1967）
- 8) 金鉄三郎：秋田県における市販魚類の腸炎ビブリオによる汚染について，秋田県衛生科学研究所報，11，43—46（1967）
- 9) 金鉄三郎：秋田県沿岸海水中の「腸炎ビブリオ」分布調査，秋田県衛生科学研究所報，12，52—54（1968）
- 10) 金鉄三郎：腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) の分布調査について，秋田県衛生科学研究所報，14，95—101（1970）
- 11) 金鉄三郎： *Vibrio parahaemolyticus* の越冬性について，秋田県衛生科学研究所報，15，45—49（1971）
- 12) 金鉄三郎：自然界における *V. parahaemolyticus* の調査，秋田県衛生科学研究所報，16，35—36（1972）
- 13) 金鉄三郎：秋田県における腸炎ビブリオの疫学，秋田県衛生科学研究所報，17，31—40（1973）
- 14) 小田隆弘たち：福岡市内河川・博多湾および市販さしみにおけるいわゆるNAGビブリオの検出状況，福岡市衛生試験所報，5，75—80（1980）
- 15) 赤木正育たち：魚介類のNAGビブリオについて，食品衛生研究，31，301—311（1981）
- 16) 辻英高たち：河川水におけるビブリオ属の分布について，兵庫県衛生研究所研究報告，18，28—37（1983）
- 17) 野口英太郎たち：魚介類等から分離される病原ビブリオ調査（第2報），長崎県衛生公害研究所報，25，173—176（1983）
- 18) Kaneko T. et al.: Ecology of *Vibrio para-*

haemolyticus in Chesapeake Bay, J. Bacteriol.,
113, 24—32 (1973)

- 19) 島田俊雄たち : Non-O1 *Vibrio cholerae* の分布
(1976—1981) およびその毒素産生性について, 感染症学雑誌, 56, 1017—1024 (1982)