

## 宮城県内の市販魚介類及び海水・海泥からの ビブリオ・バルニフィカスの検出（第2報）

Isolation of *Vibrio vulnificus* from Sea-food, Sea-water,  
Sea-mad in Miyagi Prefecture (Second Report)

齋藤 紀行 名村 真由美\*<sup>1</sup> 渡邊 節  
川野 みち 田村 広子 佐々木 美江  
山口 友美\*<sup>2</sup> 島山 敬 御代田 恭子\*<sup>3</sup>  
秋山 和夫 鈴木 隆\*<sup>4</sup>

Noriyuki SAITO, Mayumi NAMURA, Setsu WATANABE,  
Michi KAWANO, Hiroko TAMURA, Mie SASAKI,  
Yumi YAMAGUCHI, Takashi HATAKEYAMA, Yasuko MIYOTA,  
Kazuo AKIYAMA, Takashi SUZUKI

ビブリオ・バルニフィカス（V<sub>v</sub>）は創傷あるいは経口から感染し重篤な感染症を引き起こす。平成13年度より宮城県内の沿岸部汽水域に定点を設定し海水・海泥におけるV<sub>v</sub>の生息状況と市販魚介類のV<sub>v</sub>汚染状況について調査した。その結果、V<sub>v</sub>は定点の汽水域に生息すること、また一部の市販貝類がV<sub>v</sub>で汚染していることが明らかになった。平成15年度は、定点でのV<sub>v</sub>の生息状況と県内産貝類のV<sub>v</sub>汚染状況についての継続調査と検出したV<sub>v</sub>菌株について詳細な生化学性状解析を行った。平成15年度は定点でのV<sub>v</sub>が検出された期間は13、14年度より1～2ヶ月短縮された。その理由として、定点の海水温度が平年より低かったためと考えられた。V<sub>v</sub>が検出された貝類はカキ20件中4件（20%）、あさり及びツブ貝各1件であった。本年度検出したV<sub>v</sub>30菌株のうち29菌株が典型的な生化学性状を示したが、1菌株がビブリオ選択分離培地（CV）で非典型的な白色のコロニーを形成した。

キーワード：ビブリオ・バルニフィカス；市販魚介類；海水；海泥

**Keywords** : *Vibrio vulnificus* ; sea-food ; sea-water ; sea-mad

### 1 はじめに

重篤な感染を引き起こすビブリオ・バルニフィカス（*Vibrio vulnificus* : V<sub>v</sub>）は沿岸部に生息し、海水から傷口あるいは新鮮魚介類を介してヒトへ感染する。患者の多くは熊本県、静岡県で発生している。特に、熊本県での患者発生が多く、平成13年から平成15年の3年間に13名発生し、うち6名が死亡するという重篤な感染症である。患者周辺の環境調査の結果、接触した可能性のある海水・海泥には高い菌数のV<sub>v</sub>が生息していることが確認されている<sup>1-3)</sup>。このことは、V<sub>v</sub>が生息する環境があれば、V<sub>v</sub>の感染症が発生する危険性があることを示している。

そこで、我々は本県でのV<sub>v</sub>発生の危険性の有無を把握する目的で、平成13年度から県内の沿岸部汽水域に定点

を設け、海水・海泥におけるV<sub>v</sub>の生息状況と市販魚介類のV<sub>v</sub>汚染状況を調査してきた。その結果、V<sub>v</sub>は定点の汽水域に生息していること、また市販の一部の貝類、特に県内産のアサリがV<sub>v</sub>で汚染していることが明らかになった<sup>4)</sup>。

検出された環境でのV<sub>v</sub>生息が一時的であるか、あるいは県内産生鮮貝類の汚染が地域的かを判定するには更なる継続調査が必要となる。そこで、平成15年度、定点でのV<sub>v</sub>生息調査と県内産生鮮貝類におけるV<sub>v</sub>汚染実態調査を実施した。

また、現在V<sub>v</sub>の検出用として優れた選択培地がなく、臨床あるいは環境材料からの菌検出が困難であることから効率的な選択分離培地の開発が求められ、国立感染症研究所でセルビオース・ビル・食塩（CB）培地を開発した。そこで、CB培地の有用性を環境材料について検討した。

\* 1 現 宮城県がんセンター

\* 2 現 宮城県拓桃医療療育センター

\* 3 現 宮城県動物愛護センター

\* 4 現 財団法人理容師美容師試験研修センター宮城県支部

## 2 方法と材料

### 2.1 調査期間

定点での海水・海泥及び県内産鮮魚介類についての調査は、平成15年5月から12月まで行った。

### 2.2 調査定点と検体入手

宮城県名取市閑上地区の増田川河口の汽水域を海水・海泥の検体採取定点とした。県内産鮮魚介類は松島・塩釜地区の地場産品直売所から検査当日直接購入した。

### 2.3 使用培地

Vvおよび腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*: Vp) の増菌用、食品からの菌分離の1次増菌用、MPN値算定用および温度安定性試験用としてアルカリペプトン水 (日本製薬: APW)、2次増菌用としてCCPプロス (自家調整)、Vv分離培地としてTCBS (栄研化学)、mCPC (自家調整)、クロモアガービブリオ (関東化学: CV) およびCB (関東化学) 培地を使用した。

### 2.4 海水・海泥からのVv検出

#### 2.4.1 海水

海水100mlにAPWの粉末3gを加え原液とした。これを更に10倍、100倍および1000倍に希釈し、各希釈濃度の3本をMPN管として37℃で一晩培養後、各MPN管から1白金耳をTCBS、mCPCおよびCV培地に塗抹し培養した。TCBS培地で緑色、mCPC培地で黄色、CV培地で青色のコロニーを釣菌し、菌株の生化学的性状およびPCR法によりToxRS遺伝子を確認してVvと同定した。MPN値はVvが検出されたMPN管の本数を求め、海水1ml当たりの値を算出した。

#### 2.4.2 海泥

海泥20gをAPW180mlに加え10倍希釈液とした。これを更に100倍、1000倍、10000倍および100000倍に希釈し、海水の場合と同様にして海泥1gあたりのMPN値を求めた。

### 2.5 県内産魚介類からのVv検出

貝類からのVvの検出は下記に示したA及びBの2方法で実施した。貝類はむき身25gをストマッカー袋に秤量し、APW225mlを添加してストマッキングした。この液を10倍希釈液とし、更に10倍に希釈し、100倍希釈液を調整した。

(1)A法: ストマッキングした後、ストマッカー袋ごと37℃で18~20時間培養した。培養後、培養液表層の1mlをCCPプロス10mlに添加し37℃で6時間培養し、培養液からCB、mCPC及びCV培地に塗抹し37℃で一晩培養してVvの検出を行った。

(2)B法: 10倍、100倍、1000倍希釈濃度の各3本をMPN管とし37℃で一晩培養した後、各試験管からCB、mCPC及びCV培地を用いてVvの検出を行った。

### 2.6 分離菌株の性状試験と同定

CB培地で黄色、mCPC培地で黄色、CV培地で青色のそれぞれのコロニーを釣菌し、更にそれぞれの分離菌株についての生化学的性状試験、PCR法によるVvの特異遺伝

子の確認及び血清型別試験を実施してVvと同定した。

#### 2.6.1 生化学的性状試験

TSI、LIMでの性状、耐塩性、マロン酸利用、硝酸塩還元、ウレアーゼ、VP、オルニチン脱炭酸、アルギニン加水分解、ソルビトール分解、サッカロース利用、イノシトール利用、マンニトール利用、ラフィノース利用、ラムノース利用、サリシン利用、セルビオース利用について確認試験を行った。

#### 2.6.2 PCR法による遺伝子検査

Vv特異溶血毒素遺伝子 (Vvh)、ToxRS遺伝子 (ToxRS) をPCR法の定法で確認した。

#### 2.6.3 血清型別試験

国立感染症研究所より分与されたO抗原の抗血清 (1~7型) で決定した。

## 3 結果

### 3.1 海水・海泥におけるVv生息状況

調査定点における海水および海泥のVv検出状況と定点の海水温を図1に示した。海水からは7~9月までの3ヶ月間、海泥からは6~10月までの5ヶ月間Vvが検出されたが、6月および10月の海泥のMPN値は1g当たり1未満とごくわずかであった。海水温が20℃以上となった7~9月は海水、海泥ともにMPN値が高値を示した。

### 3.2 魚介類からのVvの検出状況

宮城県内産の貝类等57件についてVvの検出をA法およびB法で行い、その検出状況を表1に示した。VvはA法では2件、B法では4件からそれぞれ検出されたが、両方法で重複しては検出されなかった。

一方、分離培地別のVv検出状況は、CB培地が2件、mCPC培地が4件、CV培地が2件であった。重複して検出された検体は2件で、1件はCBとmCPC培地から、残りはmCPCとCV培地からVvが検出された。3種類の培地全てで検出された検体はなかった。

Vvの月別、食品別検出状況を表2に示した。月別では、7月は10件中4件 (検出率: 40%)、9月は10件中1件 (同: 10%)、11月は2件中1件 (同: 50%) の検出状況であった。Vv検出食品は、7月のカキ2件中2件、ア

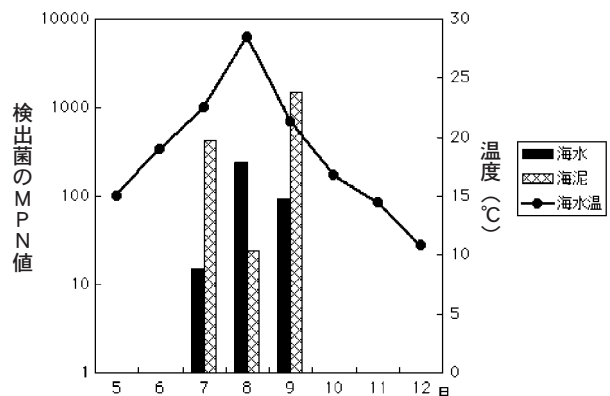


図1 海水および海泥におけるVvの月別変動と海水温度

表1 宮城県内産魚介類からのVv検出状況

検体	採材日	食品名	漁獲地	Vv	A法			B法			MPN
					CB	mCPC	CV	CB	mCPC	CV	
1	5月13日	カキ	松島湾		-	ND	ND	-	ND	ND	<0.3
2	5月13日	カキ	松島湾		-	ND	ND	-	ND	ND	<0.3
3	6月19日	カキ	松島外湾		-	-	-	-	+	-	<0.3
4	6月19日	カキ	松島内湾		-	-	-	-	-	-	<0.3
5	6月19日	アサリ	松島		-	+	-	-	+	-	<0.3
6	6月25日	アサリ	松島		-	-	-	+	+	-	<0.3
7	6月25日	アサリ	松島		-	+	-	+	+	-	<0.3
8	6月25日	ホタテ	女川		-	+	-	+	+	+	<0.3
9	6月25日	ツブ	塩釜		-	+	-	-	-	-	<0.3
10	6月25日	シャコ	松島		+	-	-	+	+	-	<0.3
11	6月25日	イワガキ	女川		-	+	-	-	+	-	<0.3
12	6月25日	クモダコ	松島		-	+	-	-	+	-	<0.3
13	7月15日	アサリ	松島		-	+	-	-	+	-	<0.3
14	7月15日	ホタテ	女川		-	+	-	-	-	-	<0.3
15	7月15日	アサリ	松島	検出	-	-	+	+	+	+	0.3
16	7月15日	シャコ	松島		-	-	-	+	+	-	<0.3
17	7月15日	ツブ	塩釜	検出	-	+	+	-	-	-	<0.3
18	7月15日	ウニ	松島		+	+	-	+	-	-	<0.3
19	7月15日	アサリ	塩釜		-	+	-	+	+	-	<0.3
20	7月15日	アサリ	松島		+	-	-	+	-	-	<0.3
21	7月15日	カキ	松島外湾	検出	-	-	-	+	+	+	0.3
22	7月15日	カキ	松島内湾	検出	-	+	-	+	+	-	0.92
23	8月20日	アサリ	松島		-	+	-	+	+	-	<0.3
24	8月20日	ホタテ	女川		-	+	-	-	+	-	<0.3
25	8月20日	ホッキ	塩釜		+	-	-	+	+	-	<0.3
26	8月20日	ツブ	塩釜		-	-	-	+	+	-	<0.3
27	8月20日	イワガキ	女川		-	-	-	+	+	-	<0.3
28	8月20日	ツブ	松島		-	-	-	-	-	-	<0.3
29	8月20日	シャコ	松島		+	-	-	+	+	-	<0.3
30	8月20日	カキ	松島外湾		-	-	-	+	+	+	<0.3
31	8月20日	カキ	松島内湾		-	-	-	+	+	-	<0.3
32	9月8日	カニ	関上		-	-	-	ND	ND	ND	<0.3
33	9月16日	アサリ	関上		-	-	-	+	-	-	<0.3
34	9月17日	アサリ	松島		-	-	-	+	+	-	<0.3
35	9月17日	ツブ	松島		-	-	-	-	-	-	<0.3
36	9月17日	ホタテ	女川		-	+	-	-	+	+	<0.3
37	9月17日	イワガキ	女川		-	-	+	-	+	+	<0.3
38	9月17日	アサリ	鳴瀬		-	+	-	+	+	-	<0.3
39	9月17日	ツブ	松島		-	-	-	-	+	-	<0.3
40	9月17日	カキ	松島外湾		-	+	-	+	+	-	<0.3
41	9月17日	カキ	松島内湾	検出	-	-	-	-	+	+	0.36
42	10月15日	アサリ	松島		-	-	-	ND	-	-	<0.3
43	10月15日	アサリ	塩釜		-	-	-	ND	-	-	<0.3
44	10月15日	ツブ	塩釜		-	-	-	ND	-	-	<0.3
45	10月15日	ホッキ	塩釜		-	-	-	ND	-	-	<0.3
46	10月15日	アサリ	松島		-	-	-	ND	-	-	<0.3
47	10月15日	ツブ	塩釜		-	-	-	ND	-	-	<0.3
48	10月15日	ホタテ	女川		-	-	-	ND	-	-	<0.3
49	10月15日	イワガキ	女川		-	-	-	ND	-	-	<0.3
50	10月17日	カキ	松島内湾		-	-	-	ND	-	-	<0.3
51	10月17日	カキ	松島外湾		-	-	-	ND	-	-	<0.3
52	11月9日	カキ	松島内湾	検出	-	+	-	ND	-	-	<0.3
53	11月9日	カキ	松島外湾		-	-	-	ND	-	-	<0.3
54	12月3日	カキ	松島内湾		-	-	-	ND	-	-	<0.3
55	12月3日	カキ	松島外湾		-	-	-	ND	-	-	<0.3

+ : CBで黄色、mCPCで黄色、CVで青のコロニーを検出

表2 県内産魚介類からのVv検出状況

		5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	総計
カキ		0/2	0/2	2/2	0/2	1/2	0/2	1/2	0/2	4/16
イワガキ			0/1		0/1	0/1				0/4
アサリ			0/3	1/4	0/1	0/3	0/3			1/14
ツブ			0/1	1/1	0/2	0/2	0/2			1/8
ホタテ			0/1	0/1	0/1	0/1	0/1			0/5
その他			0/2	0/2	0/2	0/1	0/1			0/8
合計		0/2	0/10	4/10	0/9	1/10	0/10	1/2	0/2	6/55

検出件数/検査件数

表3 MPN管から選択分離培地別によるVv検出状況\*

	海水	海泥	計
CPC&CV	20	11	31 (55%)
CPC	8	11	19 (34%)
CV	4	2	6 (11%)
計	32	24	56

\* : 検出陽性本数

サリ4件中1件、ツブ貝1件中1件、9月のカキ（カキ2、イワガキ1）3件中1件、11月の養殖カキ2件中1件であった。

### 3.3 海水・海泥からの選択分離培地別のVv検出状況

海水・海泥をMPN管（APW使用）で一晩増菌培養した後、各管からmCPCおよびCV培地へ塗抹してVvの分離を行い、MPN管ごとに両培地でのVv検出状況と比較した。

調査期間中にVvが検出されたMPN管（Vv陽性管）のうちmCPC培地のみでVvを検出したものをCPC、CV培地のみで検出したものをCV、mCPCおよびCV培地両方で検出したものをCPC&CVと3つのグループに分類して表3に示した。Vv陽性MPN管56本のうち、CPC&CVが31本（54%）、CPCが19本（34%）、CVが6本（11%）であった。これを海水、海泥それぞれのMPN管陽性本数を希釈倍率ごとに分けグラフに示したのが図2である。海水（図2-A）、海泥（図2-B）ともに希釈倍率の低いMPN管（原液、×10）ではmCPC、CVの割合が高く、希釈倍率が上がる（×100、×1000、×10000）に従ってCPC&CVの割合が高くなっていった。

また、海泥のVv陽性管においては10倍希釈の陽性管数（6本）が100倍希釈（9本）のそれより3本少なかった。これは、Vvが存在するはずの10倍希釈のMPN管からVvが適切に検出されないことを示していると考えられる。

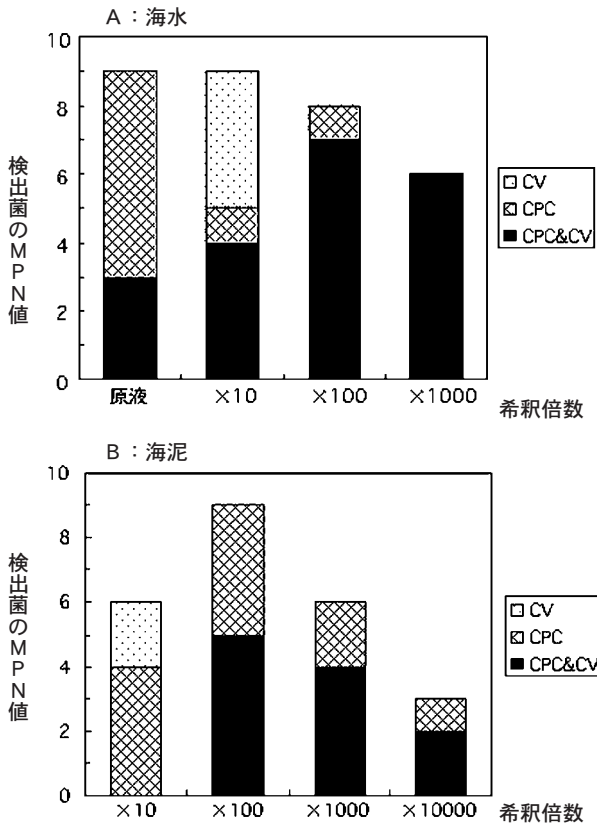


図2 海水・海泥におけるMPN管の希釈倍数別 Vv検出状況

### 3.4 分離Vv菌株の生化学的性状と血清型別

ツブ貝(エゾボラ属)1件, カキ4件, アサリ1件, 海水3件および海泥5件の計14件からVvが80菌株検出された。それらの菌株について生化学的性状試験, 2種類のVv特異遺伝子検査および血清型別を行い, その結果を表4に示した。TCBS培地で緑色発育, 6%食塩加ペプトン水発育, 8%食塩加ペプトン水不発育の非典型的な生化学性状を示しToxRS遺伝子保有の菌株をVvとした。

8/4の海水, 9/8の海水および海泥から白糖分解の菌株(菌株番号8-3, 9-1), 9/8の海泥からはCV培地で白色を呈する菌株(同9-58)が検出され, ToxRSは陽性であったがVVhは陰性であった。他の生化学性状試験の項目ではオルニチン脱炭酸, クエン酸利用, マンニトール利用, サリシン利用で菌株による差が見られたものの, それ以外ではすべて同じ結果であった。

検出菌株の血清型別は, O1が5株, O4が9株, O5が1株, O6が4株, O7が1株, O1~O7以外のUTが10株であった。

## 4 考 察

Vvによる感染は九州地域あるいは東海地域で多く発生し, 東北では秋田および青森県で各1名の患者が報告されている。しかし, 平成13年度の調査で, 夏季に県内の沿岸部定点(名取市閑上地区)の海水・海泥および県

表4 Vv菌株の生化学的性状および血清型別

菌株番号	SI-1	S4-1	S2-1	S3-1	S5-2	S6-1	6-1	7-6	7-28	7-29	7-31	7-32	8-1	8-3	8-12	8-50	8-51	8-54	9-1	9-3	9-6	9-7	9-21	9-34	9-39	9-42	9-50	9-51	9-57	9-58		
由来	ツブ	カキ	カキ	アサリ	カキ	カキ	海泥	海水	海泥	海泥	海泥	海水	海水	海水	海泥	海泥	海泥	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水	海水		
検体採取日	7/15	7/15	7/15	8/20	9/17	11/9	6/16	7/15	7/15	7/15	7/15	8/4	8/4	8/4	8/4	8/4	8/4	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8	9/8			
TCBSにおける発育	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	緑	黄	緑	緑	緑	緑	黄	緑	緑	緑	緑	黄	緑	緑	緑	緑	緑	緑		
CVにおける発育	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青	青		
TSI	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	-/A	A/A	-/A	-/A	-/A	-/A	A/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	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
食塩耐性:																																
0%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6%NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10%NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
マロン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
硝酸塩還元	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ウレアーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
オルニチン脱炭酸	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アルギニン加水分解	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
糖分解																																
ソルビトール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サッカロース	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
イノシトール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
マンニトール	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラフィノース	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アドニット	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アラビノース	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ラムノース	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サリシン	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
セロビオース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PCR:																																
ToxRS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VVh	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
血清型	UT	O6	O4	O4	O7	UT	O1	O1	O6	O5	O1	UT	UT	UT	UT	UT	O4	O4	O4	O1	O4	O4	UT	O4	O1	O6	UT	O4	O6	UT	UT	



内産アサリからVvが検出され、宮城県内にもVvが生息していることが明らかとなり、Vv感染の危険性があることが示された。

そこで、Vvの魚介類の詳細な生息状況を調査する目的で、平成15年度は定点でのVv生息調査と県内産の貝類に限定してアサリ等のVv汚染状況調査を実施した。

平成15年度の夏季は冷夏のため海水温が20℃を越えたのは7～9月で13、14年と比較して1～2ヶ月短く、Vvの検出も海水で7～9月の3ヶ月間、海泥で6～10月の5ヶ月間と前年度より短縮された。しかし、検出されたVvのMPN値は海水で240、海泥で1500と13、14年と比較して高値であった。

Vvによる魚介類の汚染状況調査は県内産の貝類を主とし、55件について実施した。Vv検出は各検体をAPWで1次増菌後、CCPプロスで2次増菌し分離を行うA法と、APWのMPN管を用い各MPN管から分離を行うB法との2方法で実施し、両方法での検出率の比較検討も併せて行った。その結果、アサリ1件、ツブ貝1件及びカキ4件の合計6件（検出率：10.5%）からVvが検出された。アサリからのVv検出は16件中1件（検出率6%）と13年度の調査の結果（Vv検出20件中3件：検出率15%）より検出率が低かったが、夏季にとれる県内産アサリはVvで汚染している可能性があることを示している。また、カキが20件中4件（検出率：20%）と最も多く、しかも検出されたカキはいずれも養殖カキであった。

次にVv検出数をAあるいはB法で比較すると、A法2件、B法4件とB法がA法より高い検出数を示したが、検出総数が6件と少ないため両者の優劣については明確にできない。

また、今回Vv検出に適した培地としてCB培地を用いた。Vvの菌株をCB培地接種すると培地上で澄んだ黄色のコロニーを形成し、他の菌種と明瞭に区別できる。しかし、貝類からのVv検出にCB培地を用いた結果、B法でCB培地使用では2件菌が検出できたがA法でCB培地使用では全く検出されなかった。海水・海泥の検体でも同様の結果だったことから、CB培地はビブリオあるいは他の雑菌が多数存在する海産食品あるいは海浜の環境材料からのVv検出には適していないと思われた。現時点

では、食品あるいは環境からVvを確実に検出するためにはmCPC、CV培地各々を単独で使用するのではなく2種の培地を併用する必要があると思われた。

一方、海水・海泥からのMPN管法によるVv検出において、Vvの検出率は海水では10倍の希釈系列、海泥では100倍の系列が、原液などの高濃度の系列より高かった。更に、貝類からの検出においてもMPN管を用いたB法が高い検出率を示した。これらのことは、食品あるいは環境材料からVvを確実に検出するためには検体を10～100倍に希釈することが有効であることを示唆している。

今回検出した菌株のうち30菌株について諸生化学的性状等を調べた結果、生化学的性状では大差がなかったが、海泥由来の1菌株（菌株番号9-58）は生化学的性状で典型的なVvの性状を示し、TCBS培地でも緑色コロニーであったが、CV培地では白色のコロニーを形成した。Vv特異遺伝子はToxRSとVVhについて確認を行った結果、検出菌30株全てがToxRS陽性であったが、9-58株を含めた5菌株がVVh遺伝子非保有であった。このことから、Vvを適切に検出するためには、生化学性状試験と共に両遺伝子の確認が必要であると思われた。

平成13年度から15年度のVvの調査で、Vvは宮城県内の海水・海泥に生息すること、県内産の新鮮な貝類がVvに汚染していることが明確になり、Vv感染症が発生する可能性が皆無とは言い切れない。そこで、Vv感染症を防止するためにも生鮮魚介類及び海浜環境のVv生息状況を今後も継続して調査する必要がある。

## 参 考 文 献

- 1) 宮坂次郎, 徳永晴樹, 甲木和子: 熊本県保健環境科学研究所報, 31, 31 (2001).
- 2) 宮坂次郎, 徳永晴樹, 荒平雄二, 甲木和子: 熊本県保健環境科学研究所報, 32, 37 (2002).
- 3) 宮坂次郎, 荒平雄二, 甲木和子: 平成15年度厚生科学研究補助金 新興・再興感染症研究事業報告書 (2003).
- 4) 齋藤紀行, 佐々木美江, 山口友美, 畠山敬, 渡邊節, 白石廣行: 宮城県保健環境センター年報, 20, 68 (2002).