

# 鳥取県の海水及び魚からのビブリオバルニフィカスの検出状況

【保健衛生室】

田中真弓・川本 歩

Ditetection of *Vibrio vulnificus* in seawater and fish in Tottori

Mayumi TANAKA, Ayumi KAWAMOTO

## Abstract

From June 2002 to March 2004, we investigated *Vibrio vulnificus* pollution found at the entrance of an inflow region to the sea and the effect of this pollution on the fish of Tottori Prefecture.

Our purpose was to promote prevention efforts against food poisoning and infection.

*V. vulnificus* increase in May when water temperature reaches 15°C. *V. vulnificus* level tend to be highest in July. However, *V. vulnificus* is not detected from January to April when water temperature drops below 15°C. We conjecture that *V. vulnificus* levels increase near the mouth of the river due to the broad inflow and outflow of sea water.

Many different type or serum were detected in this study. Our results suggest that the genotype has very many patterns.

Although outbreak of *Vibrio vulnificus* infection has been not reported by Tottori Prefecture until recently, our results indicate that human consumption of raw fish and crustacea should be avoided.

## 1 はじめに

*Vibrio vulnificus* (ビブリオ・バルニフィカス菌) はビブリオ科に属し、経口的、経皮的に感染し、人喰いバクテリアとも呼ばれている。国のサーベイランス対象疾患とはなっていないため年間の罹患者数はわかっていないが、肝硬変などの慢性基礎疾患を持つ人に重篤な敗血症を起し、死亡する例も報告されている。

そこで予防に資することを目的とし、海水、魚などの当該菌汚染実態について調査した。

## 2 材料及び方法

### 1) 定点及び検査材料

#### (1) 海水等調査

鳥取県海域の3地点(賀露港、赤崎港、境港)と、流入域として羽合海岸、橋津川、東郷池を定点とし

て、毎月1回156件について調査した。

#### (2) 魚介類の調査

毎月鳥取県内の競り売り市場(賀露、赤崎、境港)で水揚げされた日本海産魚について3魚種を買い取り、135件について検査した。

### 2) 検査方法

#### (1) 現場検査(現地測定)

気温、水温は採水時に温度計で測定し、塩分濃度は伝導率測定方式の塩分計で計測した。

#### (2) 培養方法

①試料水は100mlをアルカリペプトン粉末2.0g入りの培養瓶で培養し、最確数法(MPN3本法)により定量培養も行った。

②魚は表面部分10gを90mlのアルカリペプトン水でホモジナイズ後、海水の場合と同様にして培養した。

#### (3) 細菌分離同定方法

TCBS寒天培地とクロモアガービブリオ寒天培地

を用い、食塩耐性試験等生化学的性状検査により同定した。

(4) PCR法

分離株についてヘモリシン遺伝子の確認検査を実施した。

(5) 血清型別試験

分離株について、神奈川県衛生研究所から分与さ

れたO1～O7までの免疫血清を用いてスライド凝集法により判定した。

(6) 遺伝子解析

制限酵素*Sfi* I と*Not* I を使用しパルスフィールドドゲル電気泳動法 (PEGE) による遺伝子解析を実施した。

Table.1 Detection of *Viviro vulnificus* (A blank dose not have carrying in)

		02JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	03JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	04JAN	FEB	MAR	
Eastern part	Harbor Karo	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	sea bream											(-)		(-)			(+)							
	Batou sea bream													(-)		(+)								
	fMeita latfish	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)									(-)								
	Monn flatfish	(-)	(-)	(-)	(-)										(-)		(-)							
	Houbou flatfish	(-)	(+)	(-)	(-)		(-)									(-)	(+)							
	Salt concentration	1.30	1.06	1.54	1.07	0.96	0.90	0.80	0.37	0.50	0.88	0.96	0.71	1.02	0.70	0.50	0.79	0.97	0.65	0.66	0.53	0.43	0.3	
	Central part	Harbor Akasaki	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Siira				(-)																				
cuttlefish			(-)	(-)	(-)																			
young yellowtail.		(-)			(-)		(-)	(-)	(-)		(-)	(-)	(-)			(-)	(-)	(-)						
Monnflatfish		(-)	(-)																					
Kawahagi		(-)																						
Tobiuo		(-)																						
horse mackerel			(-)	(-)	(-)		(-)	(-)				(-)	(-)	(-)										
Mebaru												(-)	(-)	(-)										
sea bream							(-)	(-)			(-)			(-)		(-)	(-)	(-)						
Kanagasira									(-)															
Houbou								(-)							(-)	(-)	(-)							
globefish										(-)														
Salt concentration		1.6	1.1	3.2	3.2	3.5	3.0	3.0	2.0	3.4	3.10	3.30	2.60	1.60	0.80	0.80	0.20	0.40	0.90	0.80	0.20	2.9		
Western part	Harbor Sakaiminato	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	Harbor Yodoe	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)						
	horse mackerel	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)						
	young yellowtail.	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)						
	sea bream	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)						
	Salt concentration	1.98	1.84	2.15	1.70	1.56	2.20	1.54	1.84	1.60	1.08	1.58	1.96	1.92	1.26	1.44	1.50	1.48	1.70	1.43	1.24	1.90	1.6	
Hawai seashore	Salt concentration	2.1	2.5	3.1	1.4	0.9	1.6	1.2	0.3	1.1	1.7	0.3	0.7	1.5	2.8	2.3	0.9	1.8	1.4	0.8	0.2	(-)	(-)	
				(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
Hasizu River	Salt concentration			0.6	0.7	0.9	0.4	0.4	0.3	0.2	0.1	0.0	0.1	0.1	0.3	0.2	0.5	0.7	0.8	0.4	0.3	0.2	0.2	
				(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
Tougou Lake	Salt concentration			0.5	0.4	0.8	0.5	0.4	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.1	0.5	0.4	0.5	0.4	0.3	0.1	0.2	
				(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	

(+) : detect (-) : not detect

3 結果

1) 検出状況

Table 1 に示すとおり、海水から *Vibrio vulnificus* は5月から12月まで検出され、1月から4月は検出されなかった。

魚では7月から9月の夏期に、*Vibrio vulnificus* が検出された。魚種は多様であったが、主にあじからよく検出されていた。

Fig 1 に平成15年の海水等の定量値を示した。MPNは賀露港、境港とも7月に最も高く、賀露港では39/100ml、境港160/100mlであった。羽合海岸流入域では5月から11月まで菌が検出され11月が最

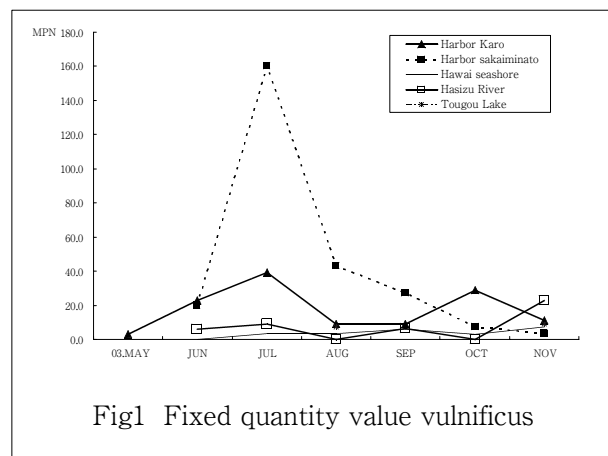


Fig1 Fixed quantity value *vulnificus*

も高かった。

2) 血清型分布状況

Table 2 に分離菌の血清型を示した。賀露港では O4a型の検出が最も多く (H15年 5月、7月、10月、

11月)、境港ではO1型の検出が多かった (H14年 6月、H15年 6月、7月)。また、2種類以上の血清型の異なる菌が検出された月もあった。

Table2 The serum type of a detection bacillus

	02.JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	03.MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV
Harbor Karo	O3・O6	NT	NT	NT	UT	UT	NT	O4a, UT	O1	O4a, UT	NT	O2, O3・O6	O4a, O3・O6	O4a, O1, UT
Harbor sakaiminato	O1, O3			UT	O1, O2	O1, O2, O6	O3, UT	O4a, UT	O3・O6	O4a				
Hawai seashore	NT	NT	NT	NT	NT	O1, O7	O1	O4a, O7						
Hasizu River	NT	NT	NT	NT	NT	O4a, O7, UT								
Tougou Lake	NT	NT	NT	NT	O4a, O7									
Houbou	NT	O3・O6												
Batou sea bream	UT													
horse mackerel	NT	UT	UT	O1										
young yellowtail.	NT													
sea bream	O3・O6													

UT:Un TYpe NT : Not Type

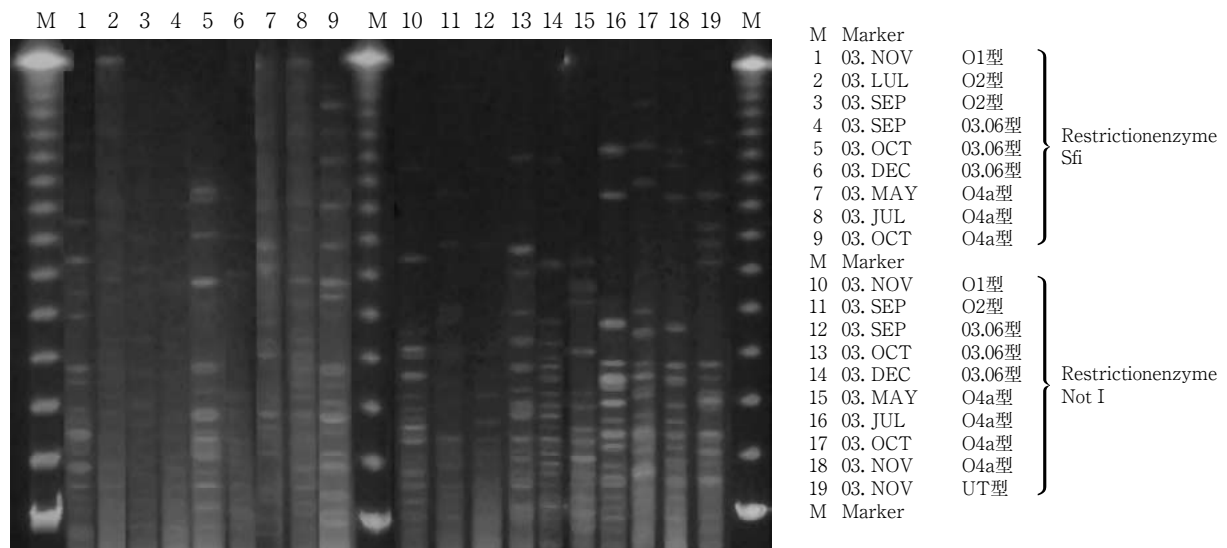


Fig 2 PFGE of the separation stock of a harbor Karo

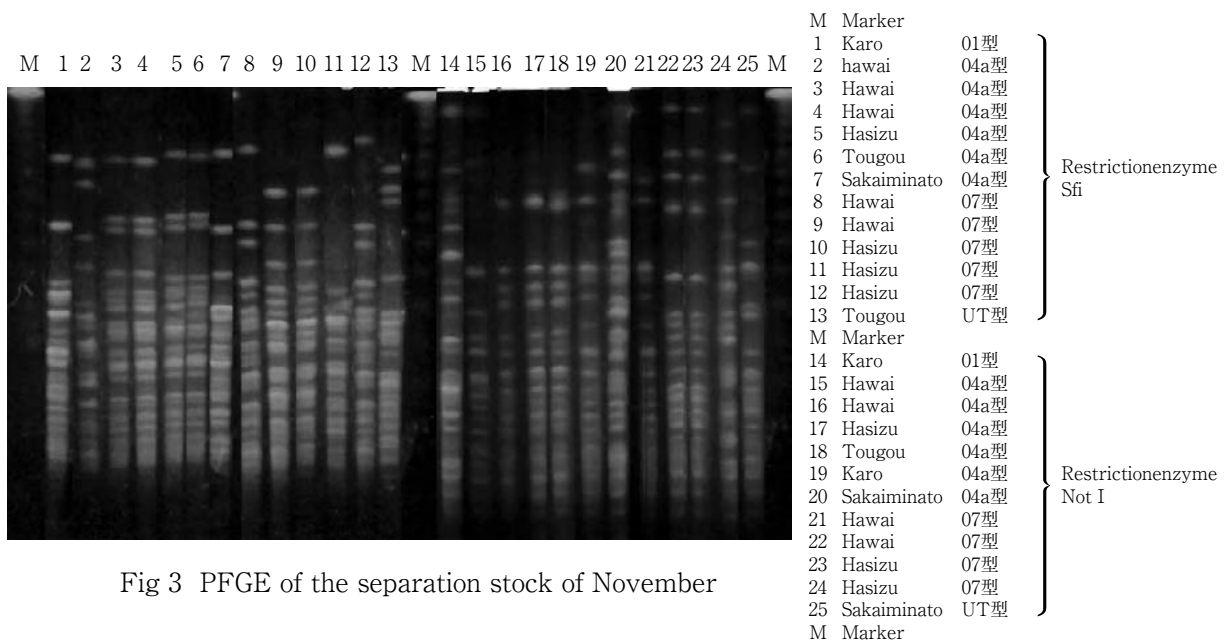


Fig 3 PFGE of the separation stock of November

### 3) 遺伝子解析結果

平成15年に賀露港で検出された菌株についてのPFGEの結果をFig 2に示したが、毎月異なるタイプの*Vibrio vulnificus*が検出された。また、同じ血清型でも採水月により遺伝子型のパターンは異なっていた。

Fig 3に平成15年11月に分離された菌のPFGEを示したが、流入域3カ所で遺伝子型の一致したものが検出されていた。しかし、同一採水地点で同じ血清型でも遺伝子型のパターンが一致しないものもあった。

また、魚から検出された菌株は海水からの遺伝子パターンと異なっていた。

## 4 考 察

*Vibrio vulnificus*は水温が15℃になる5月頃から増え始め、7月に最高値を示し、水温が10℃以下になる1～4月には検出されなくなった。

流入域では、海水の流入や流出による塩分濃度の変化のため、菌が広範囲に増加すると考えられた。また、非常に多くの遺伝子パターンを持っていることも示唆された。

*Vibrio vulnificus*は0%食塩で発育しなかったことや10℃以下の海水で検出されなかったことから生鮮魚介類を摂取する場合は流水でよく洗う、低温に保存するなどの予防対策を取ることが重要であると思われる。

また、平成13年に熊本県<sup>1)2)</sup>で発生した感染症患者と同一血清型(O4a、O3・O6)の菌株が賀露港、境港、羽合海岸流入域で検出された。県内ではこれまで*Vibrio vulnificus*感染の発生は報告されていないが、汚染魚介類の摂食や海水から皮膚への付着を通じて今後発症の可能性は高く、基礎疾患のある人は特に注意が必要である。

## 5 ま と め

- 1) 鳥取県海域の海水と魚から*Vibrio vulnificus*が検出された。
- 2) *Vibrio vulnificus*は水温が15度以上になる夏期に多く検出され、冬期には検出されなかった。
- 3) *Vibrio vulnificus*は多くの遺伝子パターンが認め

られた。

- 4) 熊本県で発生した感染症患者と同一の血清型を示す菌株が鳥取県海域でも検出された。

### 参考文献

- 1) 大仲賢二, 古畑勝則, 木内明男, 原元宣, 福山正文: *Vibrio vulnificus*感染症に関する基礎研究: 環境由来株とヒト臨床由来株の血清型状況および薬剤感受性試験, 感染症学雑誌, 第78巻, 第2号 83-89.
- 2) 宮坂次郎, 徳永晴樹, 甲木和子: 熊本県で発生した*Vibrio vulnificus*感染症事例の細菌学的検討, 熊本県保健環境科学研究所報, 2001, 31, 31-35.