

腸炎ビブリオの生態学的研究

—静岡県における腸炎ビブリオ食中毒の発生予測について—

窪田 勉*

静岡県における腸炎ビブリオ食中毒（食中毒）の発生防止対策として、その初発時期を予測し、予測結果を集団食中毒の初発前に「腸炎ビブリオ情報」として県食品衛生課から保健所へと伝達し、主として保健所で開催される生食用魚介類取扱い営業者を対象とした衛生教育の講習会で知らせ、刺身等の取扱いに関する注意を喚起することにより、食中毒の発生を減少させようと試みた。

調査は1990年～95年の6年間で、90年は年間を通して4種類の海水および2種類の魚介類を対象とし、食中毒の初発時期を予測するために使用する材料（予測材料）の選定を行った。91年以降は予測材料としてアサリの漬け水（漬け水）を使用し、その平均菌量と食中毒の初発時期および発生件数との関係、漬け水からの神奈川現象陽性株（陽性株）の検出、さらに、本事業による食中毒の防止効果との関係についても調査した。その結果、以下の知見を得た。

1. 食中毒の初発時期の予測材料を選定するため海水および魚介類等6種類を対象に調査した結果、漬け水が最適であった。
2. 94年を除いて、調査定点（15店舗）から採取した漬け水15件の平均菌量が 10^5 個/100 mlに到達した後に、食中毒が初発した。また、平均菌量が 10^5 個/100 mlに到達する時期によって、その年の食中毒の発生件数を予測することができた。
3. 95年の調査で、漬け水の増菌液を対象に耐熱性溶血毒遺伝子の検出を行ったところ、82件中3件から検出された。確認した3件の内2件から39株の陽性株が分離された。
4. 陽性株は漬け水15件の平均菌量が 10^5 個/100 mlに到達した後に検出された。
5. 検出された陽性株の血清型はO4:K10, O4:K13, O1:K60およびO3:K7であった。これらの血清型は同じ年に発生した食中毒件数の11例中5例（45%）から検出され、また、食中毒患者からの分離株でも74株中28株（38%）が漬け水由来株と同一の血清型であった。
6. 本事業による腸炎ビブリオ食中毒の防止効果を認めることはできなかった。

Key words: 腸炎ビブリオ, 流行予測, 食中毒防止, PCR法, 神奈川現象

I 緒 言

夏期に集中して患者が発生する日本脳炎は、その原因となる病原の生態を明らかにすることにより患者の初発時期を予測することが可能と考えられている。すなわち、日本脳炎はウイルス保有蚊→ブタ→蚊→ブタという経路で次第にウイルスが増幅されてヒトの流行にいたると言われている。そこで、静岡県における日本脳炎患者の初発時期は県内産の生後5～8ヵ月の全と殺ブタ数に対する新鮮抗体価を保有するブタの割合が50%に到達

した時点から2週間後であるとし、毎年、ブタにおける新鮮抗体価の保有率が50%に達すると県民が日本脳炎に罹患しないように注意を喚起してきた。

一方、腸炎ビブリオも同様で、毎年、陸上に近い海域で越冬し、夏期になると魚介類に付着してヒト社会に持ち込まれ、食中毒が発生すると言われている¹⁾。そこで、1) 日本脳炎の流行予測におけるブタの役割を演ずる材料の選定、2) 漬け水15件の平均菌量を用いた食中毒の初発時期および年間の発生件数の予測、3) 漬け水から検出した陽性株の血清型と同じ年に発生する食中毒患者から分離される菌株の血清型との一致度、4) 初発時期の予測を食中毒が初発する前に「腸炎ビブリオ情報」として県食品衛生課から保健所へ伝達

* 静岡県衛生環境センター
連絡先: 〒420 静岡市北安東4-27-2
静岡県衛生環境センター 窪田 勉

し、主として保健所で開催される生食用魚介類取扱い営業者（営業者）を対象とした講習会で知らせることにより、食中毒の発生を減少させる効果、などについて調査したので報告する。

Ⅱ 方 法

1. 検査材料

調査は90年1月～95年7月までの期間に行った。海水は清水、由比、沼津の各漁港および清水市三保海岸2ヵ所の計5ヵ所、各魚市場で井戸からポンプアップし魚体の洗浄用および解凍用に使っている海水（魚市場の海水）は清水、由比、静岡および沼津の4ヵ所、また、活魚水槽内の海水、スチロール製のトロ箱等で砂だし中のアサリの海水（漬け水）、生食用のむき身アオヤギ（アオヤギ）およびウロコ付アジは清水市内の魚介類販売店で採取または購入した。90年1月～91年4月は初発時期の予測材料を選定するために4種類の海水および2種類の魚介類を対象に、計1,175件から腸炎ビブリオの検出状況を調査した。その結果、漬け水が好適な予測材料と判明したので、91年以降の予測材料として使用した。漬け水は、毎年5月から毎週15件を、食中毒の初発後1～3週間後まで採取した。したがって、年度によって試料数の増減が見られたが、91年は135件、92年225件、93年225件、94年150件、95年180件を採取し、菌量の測定に用いた（表1）。

2. 菌量の測定

菌量の測定は最確数（most probable number technique, MPN）の3本法で実施した²⁾。増菌培地はアルカリ性ペプトン水（日水）を用い、菌の増殖の認められた各試験管の培養液の1白金耳を

TCBS培地（日水）の平板1枚ずつに画線塗抹し36°C、18時間～24時間培養した。本研究は腸炎ビブリオの同定株数が膨大となる可能性があるので、最初にTCBS培地で分離した青色のコロニー20株を2%食塩加TSI寒天、0%と7%食塩加普通ブイヨンで同定し（簡易法）、さらにバイオテスト1号（栄研）を用いて同定株が腸炎ビブリオであることを確認した。その結果、両成績は一致したので、以後、分離株の同定は簡易法で行った。

菌量は採取日ごとに15検体の平均菌量を算出し、平均値は幾何平均で示した。以下に述べる菌量はすべて海水100 ml当たりのものである。

3. 神奈川現象陽性株の検出

分離した腸炎ビブリオを我妻培地に移植した場合、患者由来の株が溶血を示すのを神奈川現象（陽性）と呼び、起病性の指標とされてきた。これに対して、海水、魚介類など自然由来株の大部分は非溶血（陰性）といわれている。そこで、多くの場合漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した後に食中毒が初発したことから、その到達時期の前後に漬け水等に陽性株が出現するものと考え、陽性株の検出を行った。

90年はMPNで分離・同定した各材料の腸炎ビブリオを1検体当たり6～12株、合計347件、3,452株を、93年は疎水性格子メンブランフィルター法（HGMP法）³⁾で、漬け水（6月に4回、7月で4回、8月では2回の合計10回、1回の検査で2検体を使用）から分離した腸炎ビブリオ565株を供試した。陽性株の検出は我妻⁴⁾の方法で行った。

表1 腸炎ビブリオ食中毒の初発時期を予測するための好適な材料の検討（1990年1月～91年4月）

No.	検査対象	検査定点	採取時期	1年間の採取回数	1カ月の採取数	1回の採取数	件数
1.	アサリの漬け水	18店舗	1～12月	31回	2～4回	13～15件	402件
2.	海水	5ヵ所	〃	〃	〃	4～5件	168件
3.	魚市場の海水	4ヵ所	〃	〃	〃	3～4件	112件
4.	活魚の海水	7店舗	〃	〃	〃	6～7件	169件
5.	アオヤギ	8店舗	5～4月	29回	〃	5～6件	162件
6.	ウロコ付アジ	8店舗	〃	〃	〃	5～6件	162件
合 計							1,175件

* No. 5～6の採取時期は1990年5月～91年4月

4. *tdh* 遺伝子の検出

1) 検査対象

陽性株を接種した糞便を直接、PCR法 (polymerase chain reaction) に使用すると検出感度が $1/10^4 \sim 1/10^5$ に低下するのに対し、便の増菌液では糞便中の菌1細胞に由来する耐熱性溶血毒遺伝子 (*tdh* 遺伝子) を検出できると言われている⁵⁾。そこで、本実験に使用したPCR法の材料はMPNに用いた漬け水の増菌液を使用し、その増菌液もMPNの希釈倍率で 10^{-3} 以上に増殖している検体(6月は24件, 7月で58件, 合計82件を使用)を供試した。

2) 検出方法

PCR法での検出方法はMPNで漬け水の10倍増菌液の内の1本を使用し、*tdh* 遺伝子が検出されると、増菌の認められたMPNのすべての希釈列を検査するとともに、同じ検体で菌量測定の際に使用した各希釈列の画線塗抹培養したTCBS培地上のすべての青色のコロニーを我妻培地へ移植し、検出した*tdh* 遺伝子が腸炎ビブリオ由来であることを確認した。また、移植後、溶血が認められた株はバイオテスト1号(栄研)で生化学的性状を調査し、さらにOおよびK抗原の型別を市販(デンカ生研 K.K. 製)の診断用坑血清を用い、スライド凝集反応によって行った。

3) PCR法

PCR法の操作手順、反応液の組成および反応条件は図1、表2に示す方法で実施した。また、プライマー {TDF-1 (5'-AGCTTCCATCTGTC-CCTTTT-3'), TDF-2 (5'-ATTACCACTACCA-CTCTCATA-3')} の作製は伊藤ら⁶⁾の報告を参考にした。

5. 食中毒の発生状況

84年~95年までの静岡県における食中毒の発生状況は、毎年、静岡県保健衛生部で発刊される「静岡県の食中毒」を、さらに月報として県食品衛生課が発行している「食中毒発生速報」を参考にした。

6. 情報の伝達

漬け水の検査成績は「腸炎ビブリオ情報」(週報)として5月から食中毒の初発後1~3週間までの期間、県食品衛生課へ報告した。報告の内容は、検体採取日ごとに漬け水中の腸炎ビブリオの汚染菌量・平均菌量、平均菌量別による生食用魚介類の取扱い時の注意事項、県下の食中毒発生状況および食中毒の発生件数の予測等を記載した。これらの情報は当センターから県食品衛生課を通じて保健所へと伝達された。

図1 PCR法の操作手順

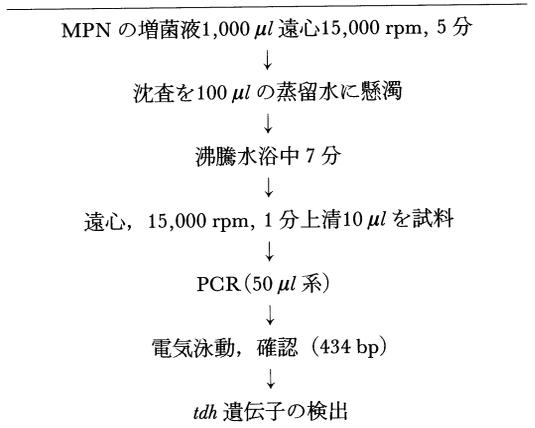


表2 PCR反応液 (50 μl系) と反応条件

反応液の組成		反応条件	
プライマー-25 mM TDF-1	1.0 μl (25 pmol)	熱変性 (Denature)	94°C 30秒
25 mM TDF-2	1.0 μl (25 pmol)	アニーリング (Annealing)	59°C 36秒
dNTPs (Mix.) 20 mM(各々)	0.5 μl (25 pmol)	伸長反応 (Extension)	72°C 36秒
×10反応用緩衝液	5.0 μl	サイクル数	28回
Taq DNA polymerase 5 U/μl	0.5 μl (2.5 unit)	28サイクル終了後, さらに72°C 5分間伸長	
滅菌蒸留水	32.0 μl		
計	40.0 μl		
テンプレート DNA	10.0 μl		

Ⅲ 結 果

1. 初発時期を予測するための好適な材料の検討

90年1月～5月までは各材料とも平均菌量が 10^2 個台で推移したが、食中毒が初発した6月15日までに平均菌量が急増した。しかし、採取日ごとのばらつきが少なく、しかも平均菌量が 10^5 個を越えていたのは漬け水だけであった。したがって、91年以降は予測材料として漬け水を採用した(図2)。

2. アサリの漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した時期と腸炎ビブリオ食中毒の初発時期および同じ年の食中毒の発生件数との関係

過去6年間の漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した時期と腸炎ビブリオ食中毒の初発時期との関係は94年を除くと、6月中に平均菌量が 10^5

個に到達すると5日～13日後、7月に平均菌量が 10^5 個に到達した場合には35日～49日後に食中毒が初発した。

また、漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した時期と同じ年の食中毒の発生件数との関係について、90年と91年は6月中に平均菌量が 10^5 個に到達すると8件～12件、92年と93年は7月に平均菌量が 10^5 個に到達するのがずれこみ、食中毒の発生は1件～3件であった。そこで、94年と95年は6月中に平均菌量が 10^5 個に到達したので、両年の発生件数を8件～12件と予測し、食中毒初発後、県食品衛生課へ報告したところ、それぞれ10件と11件の食中毒の発生が見られた(図3、表3)。

3. 神奈川現象陽性株の検出

- 1) 海水および魚介類からの神奈川現象陽性株の検出

図2 月別による腸炎ビブリオの検出状況 (1990年1月～91年4月)

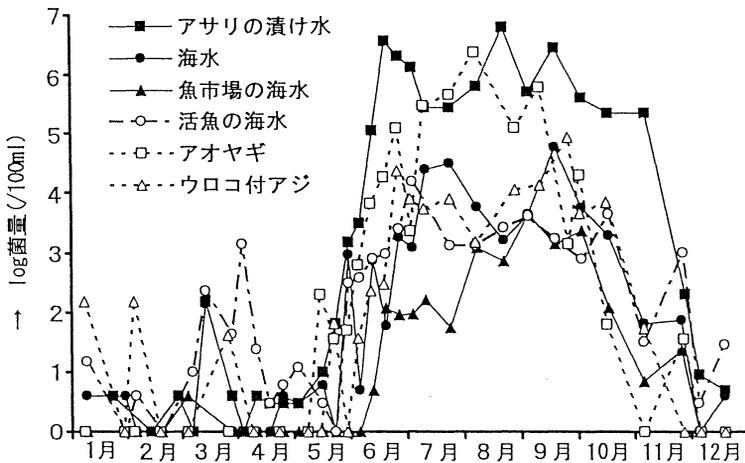


表3 アサリの漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した時期と腸炎ビブリオ食中毒の初発時期および同じ年の食中毒の発生件数との関係

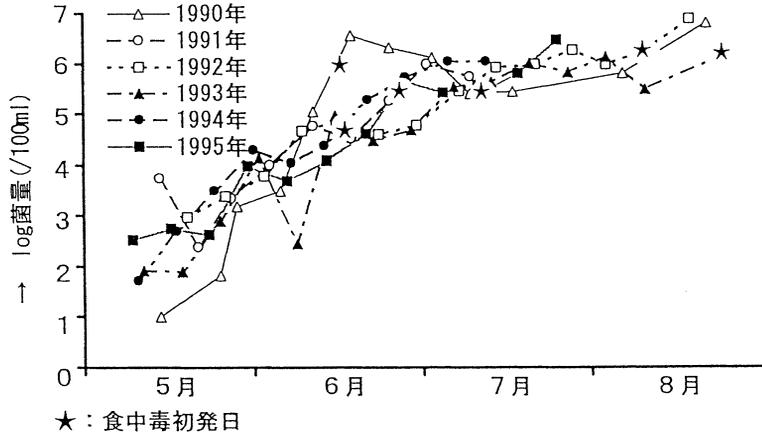
項 目	90年	91年	92年	93年	94年	95年
10^5 個に到達月日	6月11日	6月25日	7月7日	7月6日	6月21日	6月27日
食中毒の初発時期	6月15日	6月30日	8月10日	8月23日	6月16日	7月9日
☆	5日	6日	35日	49日	—	13日
食中毒の発生件数	12件	8件	3件	1件	10件	*11件

☆ 漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達後から食中毒初発までの日数

— 漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達前に食中毒初発

* 2件の有症苦情を含む

図3 漬け水の腸炎ビブリオの平均菌量と食中毒初発時期との関係 (1990年~95年)



90年は海水と魚介類を対象とし、MPNで菌量測定の際に同定された腸炎ビブリオ3,452株を我妻培地に移植して溶血性を観察した。しかし、すべて神奈川現象陰性株（陰性株）であった。そこで、増菌材料からの分離株では陽性株を検出することが出来ないと考え、93年はHGFMF法で漬け水から腸炎ビブリオを分離して陽性株の検出を行った。しかし、565株すべて陰性株であった（表4）。

2) アサリの漬け水からの *tdh* 遺伝子および神奈川現象陽性株の検出

95年は、漬け水を対象にPCR法で *tdh* 遺伝子の検出を行ったところ、82件中3件（菌量が10⁴個台で1件、10⁵個台では2件）から検出された。そこで、*tdh* 遺伝子が検出された3件と同じ検体でMPNに使用したTCBS培地上の青色のコロニーを我妻培地へ移植して陽性株の検出を行った。その結果、7月11日採取したNo. 2は18株中5株の陽性株が検出されたのに対し、No. 13は釣菌した24株すべて陰性株であった。一方、7月25日のNo. 14は214株中34株の陽性株が検出され

た。陽性株が検出された2件の採取時期はいずれも漬け水15件の平均菌量が10⁵個に到達した後（6月27日）で、しかも食中毒初発後（7月9日）3日目を以降に出現した（表5）。

3) 腸炎ビブリオ総菌量に対する神奈川現象陽性株の割合

95年7月11日に採取したNo. 2は定性的に陽性株を検出したので、その割合を明らかにすることはできなかった。7月25日に採取したNo. 14の陽性株は希釈倍率10⁻³で1/3本から確認され、陽性数は26株中2株であり、希釈倍率10⁻⁴では1/2本、32株中32株で溶血が認められた。以上の結果から、MPNによる腸炎ビブリオは9.3×10⁵個、この内7.8%にあたる7.3×10⁴個が陽性株であった（表6）。

4) *tdh* 遺伝子のアガロース電気泳動像

図4は95年7月11日に採取した漬け水15検体の増菌液から *tdh* 遺伝子を検出した時のアガロース電気泳動像を示した。レーン16は陽性コントロールであるが、レーン2と13に腸炎ビブリオの特異的バンドがみられた。

表4 海水および魚介類からの神奈川現象陽性株の検出

分離方法	検査対象	検体の採取時期	検査件数	神奈川現象	
				陽性	陰性
MPN法	海水および魚介類	1990年5月~10月	347	0	3,452
HGFMF法	漬 け 水	1993年6月~8月	20	0	565

表 5 *tdh* 遺伝子が検出されたアサリの漬け水からの神奈川現象陽性株の検出 (1995年)

検査対象	アサリの産地	採取月日	検体番号	供試株数	神奈川現象	
					陽性	陰性
漬け水	韓国産	7月11日	2	18	5	13
"	国内産	7月11日	13	24	0	24
漬け水	国内産	7月25日	14	214	34	180
合	計			256	39	217

5) アサリの漬け水および食中毒患者から分離された神奈川現象陽性株の血清型

漬け水から分離した陽性株の血清型は O4 : K10, O4 : K13, O1 : K60 および O3 : K7 であった。これらの血清型は同じ年に発生した食中毒件数 11 例中 5 例 (45%) から検出され、また、食中毒患者からの分離株でも 74 株中 28 株 (38%) が漬け水由来株と同一の血清型であった (表 7)。

4. 腸炎ビブリオ食中毒の発生防止効果

研究開始の前、後 6 年間の静岡県における食中

毒の発生件数で比較した。腸炎ビブリオ以外の食中毒の発生件数は研究開始前の 6 年間に 75 件、開始後の 6 年間で 59 件となり、22.0% の減少率であったのに対し、腸炎ビブリオでは 79 件から 45 件へ 43% の減少率であった。しかし、カイ 2 乗検定 ($p=0.2045 > p=0.05$) では本事業が有効であったという成績を得ることはできなかった。

IV 考 察

静岡県における細菌性食中毒の病因物質をみると、毎年、腸炎ビブリオによる食中毒が発生件数の 50% 前後を占めている。保健衛生部はその予防対策として 59 年~77 年までに魚介類販売店の施設の改善⁷⁾、食中毒警報⁸⁾、腸炎ビブリオ食中毒防止のための 5 クーリング (冷却) 運動の推進⁹⁾、生食用魚介類の指導規格基準値の検討¹⁰⁾などを策定し、腸炎ビブリオ食中毒の発生防止に努めてきた。しかし、依然として当該食中毒の発生は跡をたたない。

そこで、90 年から県食品衛生課と当センターとで共同研究チームをつくり、よりきめ細かい食中

表 6 腸炎ビブリオ総菌量に対する神奈川現象陽性株の割合 (1995年)

採取月日	検体番号	検出方法	希 積 倍 率					検出菌量	
			1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		10 ⁻⁵
7月25日	14	MPN 法	2/3	2/3	3/3	3/3	2/3	0/1	9.3 × 10 ⁵
		PCR 法	3/3	3/3	3/3	1/3	1/3	0/1	7.3 × 10 ⁴
		我妻倍地	0/2	0/2	0/3	1/3	1/2	0/0	7.3 × 10 ⁴
		()	(0/9)	(0/7)	(0/51)	(2/105)	(32/41)	(0/0)	

() は陽性数 / 移植数

図 4 7月11日に採取したアサリの漬け水15検体の MPN 増菌液からの PCR 法による *tdh* 遺伝子の検出

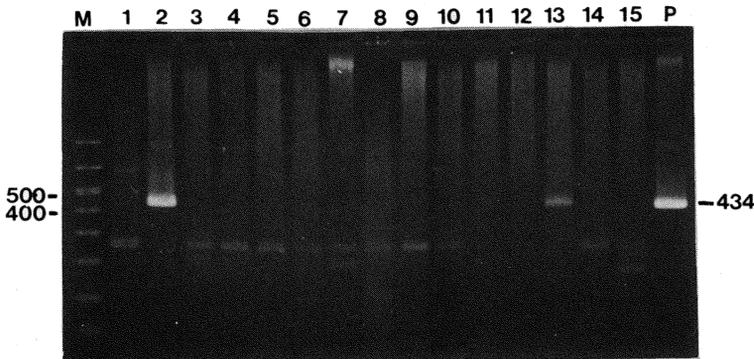


Figure 4 shows the results of PCR detection of the *tdh* gene in 15 samples of mussel brine water collected on July 11. Lane 1 shows a positive result with a band at approximately 434 bp, while lanes 2-15 show no bands, indicating a negative result for those samples.

表7 アサリの漬け水および食中毒患者から分離された神奈川現象陽性株の血清型(1995年)

アサリの漬け水				アサリの漬け水			
No.	採取月日	産地	血清型	No.	採取月日	産地	血清型
2.	7月11日	韓国産	04:K10(2) 04:K13(3)	14.	7月25日	国内産	01:K60(2) 03:K7(32)
食中毒事例				食中毒事例			
No.	発生日	発生地	血清型	No.	発生日	発生地	血清型
1.	7月9日	下田市	01:K56(1)	8.	8月22日	沼津市	04:K8(13)
2.	7月9日	島田市	04:K10(1)	9.	8月22日	熱海市	04:K10(3)
3.	7月17日	浜松市	04:K13(9) 04:K12(3) 04:K8(3) 03:K7(1) 01:K56(1)	10.	8月31日	藤枝市	01:K60(4) 03:K7(4) 04:K9(1) 03:K61(1)
4.	8月5日	沼津市	04:K8(2)	11.	9月19日	藤枝市	03:K7(1) 04:K8(3)
5.	8月6日	熱海市	04:K8(3)				04:K11(5)
6.	8月10日	熱海市	04:K8(2) 01:K56(2)				04:K12(1) 01:K60(4)
7.	8月20日	島田市	04:K63(4) 04:K10(1)				04:K63(1)

()内は株数, 事例1と2は有症苦情, 下線は漬け水由来と同一血清型の陽性株

毒防止対策として, 腸炎ビブリオ食中毒の初発時期を予測し, その結果を「腸炎ビブリオ情報」として, 食中毒が初発する前に, 保健所で開催される営業者を対象とした衛生教育の資料として用い, また各保健所の食品衛生監視員が魚介類取扱い施設を訪問し, 営業者および調理従事者を指導する事により, 腸炎ビブリオ食中毒の発生を減少させようと試みた。本研究を開始する際の問題点は, 予測材料の選定にあった。

今まで, 腸炎ビブリオ食中毒の初発時期の予測について, 湯田ら¹¹⁾は宮城県において沿岸から約14 kmはなれた女川町江ノ島の海水温が19.0~19.5°Cに達した時, 原田ら¹²⁾は魚体取扱い者中に健康保菌者を発見した時, さらに寺山¹³⁾は伊豆大島周辺の海水温が22.0°Cに到達した時期に食中毒が初発すると述べている。

本研究の予測材料の選定条件は, 1) 前処理が簡単で経済的, 2) 従来の食中毒警報との混乱を招かないこと, 3) 営業者の身近な食品, 4) ビブリオ汚染を数値で示すことができる, などであった。したがって, これらの条件にあわない海水温, 健康保菌者および最高気温は選定材料から除

外した。そして, 新たに4種類の海水および2種類の魚介類を対象として腸炎ビブリオの汚染菌量と食中毒の初発時期との関係を調査し, 好適な材料の選定を試みた。その結果, 漬け水が最適で, 94年を除くと漬け水15件の平均菌量が6月中に 10^5 個に到達すると5日~13日後, 7月に平均菌量が 10^5 個に到達した場合には35日~49日後に食中毒が初発した。また, 90年~93年までの漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した時期と食中毒の発生件数との関係から, 94年および95年の漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した時期で, それぞれの年の発生件数を食中毒の初発後に予測することが可能であった。

このように, 漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達する時期によって腸炎ビブリオ食中毒の初発時期に幅がみられたこと, また, 平均菌量が 10^5 個に到達した時期で, その年の食中毒の発生件数を予測できた根拠については不明であった。しかし, 寺山¹³⁾は食中毒の発生件数は, その年の気温が30°Cを越える日数が関係していると述べている。

そこで, 6月中に漬け水15件の平均菌量が 10^5

表8 年次別による最高気温が30°C以上に到達した日数(静岡市)

年次別	月 別				合計
	5月	6月	7月	8月	
90年	0	4	11	27	42
91年	1	8	18	13	40
92年	0	1	12	16	29
93年	1	1	5	14	21
94年	1	1	16	26	44
95年	1	0	17	31	49

気象月報(静岡地方気象台)より

個に到達すると2週間以内に食中毒が初発し、しかも多発した90年~91年と、平均菌量が 10^5 個に到達するのが7月にずれこみ1ヵ月以上も食中毒の初発が遅れ、散発した92年~93年とで、5月~8月までの30°Cを越えた静岡市の日数で比較してみた(表8)。その結果、明らかに両者で30°Cを越えた日数で差を認めた。したがって、腸炎ビブリオに高菌量に汚染された漬け水等がヒト社会に上陸する時期および上陸した後の気温が30°Cを越える日数が初発時期の幅および食中毒の発件数に参与しているものと思われた。

腸炎ビブリオは海洋細菌で、毎年、夏期になると多発する細菌性食中毒の代表的な原因菌である。本菌の特徴は患者から耐熱性溶血毒を産生する神奈川現象陽性株が容易に検出されるのに対し、海水、魚介類など自然界由来株からの検出は極めてまれなことにある^{14,15)}。本研究においても漬け水中の腸炎ビブリオが高菌量になると食中毒の初発をみたので、食中毒の初発時期に漬け水の中に陽性株が出現するものと考え、その検出を行った。

90年と93年の調査では陽性株を分離することはできなかったが、95年に初めて漬け水82件中2件(2.4%)、39株の陽性株を検出した。陽性株の検出時期は漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達した後で、食中毒の初発後3日目以降であった。したがって、腸炎ビブリオ食中毒は漬け水15件の平均菌量が 10^5 個に到達する時期に陽性株が出現し、それに伴って食中毒が発生する可能性も考えられた。

つぎに、漬け水由来の陽性株の血清型と同じ年

に発生する食中毒事例の病原株との間に関連性がみられるかを検討した。今まで、腸炎ビブリオ食中毒の原因食品から患者と同じ血清型で、しかも陽性株を確認した事例について、我妻¹⁾はカキ、鈴木¹⁶⁾はマグロ、所ら¹⁷⁾はタマゴ焼、小川ら¹⁸⁾は12品目から検出したと述べている。しかし、著者の成績のように漬け水から高菌量の陽性株を検出し、しかもその陽性株と同じ血清型の菌をほぼ同一時期に食中毒患者から分離したという報告はみられない。

すなわち、本調査では漬け水から 7.3×10^4 個の陽性株を検出するとともに、神奈川現象陽性の4種類の血清型の菌が分離された。これら検出した菌の血清型は同じ年に発生した食中毒事例の45%、食中毒患者では38%で一致し、さらに、食中毒の初発から終了までの全期間で検出された。このことは、漬け水由来と同一血清型の菌が主として食中毒事例の病原になっている可能性を示唆しており、さらに漬け水由来株の血清型から同じ年に発生する食中毒患者から分離される菌の血清型を食中毒が初発する前に予測することも可能と思われた。

本事業による腸炎ビブリオ食中毒の防止効果を認めることはできなかった。しかし、食中毒の初発時期の予測が可能になったことは、食中毒発生の緊急性を営業者に訴えることに役立つと思われた。

したがって、本研究の目的、すなわち、「静岡県の腸炎ビブリオ食中毒を減少させる」には食中毒の初発前に、その危険を県食品衛生課から保健所を通じて営業者および調理従事者に対し周知徹底させるとともに報道機関へ積極的に情報を提供する必要があると思われた。

なお、本報告の要旨は衛生微生物技術協議会、第16回研究会(広島、1995、7)および第29回腸炎ビブリオシンポジウム(横浜、1995、11)で報告した。

最後に、本研究に御協力いただいた静岡県衛生環境センター微生物部、杉枝正明主査および静岡県保健衛生部食品衛生課の皆様へ深謝いたします。

(受付 '96. 3. 1)
(採用 '96. 7. 19)

文 献

- 1) 我妻正三郎, 他. 生カキによる腸炎ビブリオ食中

- 毒の発生とその汚染源の追及. メディアサークル 1971; 16: 168-171.
- 2) 春日三佐夫, 他編. 目で見える食品衛生検査法. 東京: 中央法規出版, 1989; 26.
- 3) 竹田晃男, 他. 魚介類における腸炎ビブリオの簡易な定量法の検討—疎水性格子メンブランフィルター法と食塩ポリミキシン最確数法および平板表面塗抹法の検討—. 静岡衛環セ報告 1982; 25: 29-45.
- 4) 我妻正三郎. 腸炎ビブリオの溶血試験培地について. メディアサークル 1968; 13: 159-162.
- 5) 西淵光昭, 他. PCR法による腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒遺伝子および類似毒素遺伝子の検出法. 日本臨床 1992; 50:348-352.
- 6) 伊藤文明, 他. ジャトルPCR法を用いた腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒遺伝子の迅速検出法. 広島市衛所報 1994; 13: 33-35.
- 7) 静岡県衛生部. 食品衛生関係法規集: 魚介類販売店舗の施設および取締の改善について. 1970; 216-223.
- 8) 静岡県衛生部. 食品衛生関係法規集: 食中毒警報の発表について. 1970; 311-312.
- 9) 静岡県衛生部. 食品衛生課: 食中毒防止のための「5-クーリング(冷却)運動」の推進. 食品衛生研究. 1976; 26: 71-74.
- 10) 静岡県衛生部. 食品衛生関係法規集: 食品の指導規格基準について. 1970; 322-328ノ4.
- 11) 湯田和郎, 山司男七, 我妻正三郎. 腸炎ビブリオ食中毒の発生時期と海水温との関係. 医学と生物学 1975; 90: 249-252.
- 12) 原田寛治, 他. 腸炎ビブリオ食中毒予測のこころみ. 食品衛生研究 1975; 25: 533-536.
- 13) 寺山 武. 水産食品の衛生上の問題点と対策. New Food Industry 1988; 30: 8-15.
- 14) 加藤貞治, 他. 腸炎ビブリオの病原性. メディアサークル 1968; 13: 155-158.
- 15) Sakazaki, R. et al. Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacterium. *Vibrio parahaemolyticus* III. Jap. J. Med. Sic. Biol. 1968; 21: 325-331.
- 16) 鈴木ミツエ, 他. 食中毒の原因となったマクロからの神奈川現象陽性腸炎ビブリオの検出とその意義. 医学と生物学 1977; 94: 221-225.
- 17) 所 光男, 他. 卵焼による腸炎ビブリオ食中毒事例について. 食品衛生研究 1982; 32: 947-954.
- 18) 小川博美, 他. 腸炎ビブリオ食中毒における原因食品からの神奈川現象陽性株回収法の検討 (10-3-100法). 食品と微生物 1992; 8: 189-195.
-

AN ECOLOGICAL STUDY FOR PREDICTION OF *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* FOOD POISONING IN SHIZUOKA PREFECTURE

Tsutomu KUBOTA*

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Prediction, Control of food poisoning, PCR method, Kanagawa phenomenon.

The mean MPN viable cell counts in 15 samples of sea water in which clams were held at the time of the onset of mass outbreaks of food poisoning, the number of food poisoning outbreaks, and prevalence of Kanagawa phenomenon-positive strains, and effectiveness of measures to control food poisoning were investigated over 6 years from 1990 to 1995.

The results obtained were as follows:

1. Of 6 materials, including sea water and shellfish, which were examined to determine the best marker material for prediction of *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning, sea water in which clams were held was found to be the most appropriate.
2. Except for the outbreaks in 1994, all *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning occurred after the mean MPN viable cell count in 15 samples of sea water in which clams are kept reached 10^5 cells/100 ml.
3. The number of outbreaks of *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning could be predicted based on the time at which the mean MPN viable cell count reached 10^5 cells/100 ml.
4. In 1995, sea water in which clams were held was cultured and examined for thermostable direct hemolysin gene by PCR method. Thermostable direct hemolysin gene was detected in 3 of 82 samples. Thirty-nine Kanagawa phenomenon-positive strains were isolated from 2 of these 3 samples.
5. Kanagawa phenomenon-positive strains were detected after the mean MPN viable cell count in 15 samples of sea water in which clams were kept reached 10^5 cells/100 ml.
6. Four serotypes of Kanagawa phenomenon-positive strains were detected, and they were involved in 5 (45%) of the 11 cases of *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning that occurred in the same year. These serotypes were observed also in 28 (38%) of the 74 strains isolated from food poisoning patients.
7. No conclusion could be made concerning the effectiveness of measures to control food poisoning.

*Shizuoka Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science