### 東南アジアにおける腸炎ビブリオの海洋調査

長崎大学風土病研究所病理学部(主任:福見秀雄教授)

高 平 好 美

(本論文の要旨は,第38回日本細菌学会-1965年4月2日,東京一で発表した)

# Distribution of Vibrio parahaemolyticus on the Open Sea and the Harbor of Southeast Asia

#### Yoshimi TAKAHIRA

Department of Pathology, Research Institute of Endemics, Nagasaki University (Director: Prof. Dr. H. Fukumi)

Received for publication December 20, 1965

Abstract: One hundred and thirty eight samples were collected from sea water and 83 samples from plankton in the port, the coastal sea area and the pelagic ocean of different places of Southeast Asia during about 70 day navigation of Nagasaki-maru, a schoolship of Fisheries Faculty of Nagasaki University, which had left Nagasaki on July 11, 1964, sailing for Keelung, Singapore, Colombo, Hong Kong and returned to port on September 17 of the same year. Results of bacteriological studies carried out by the Standard Method for Isolation and Identification of *Vibrio parahaemolyticns* and Related Species were as follows:

(1) 61 strains of *V. parahaemolyticus*, 21 *V. alginolyticus* and 201 *V. anguillarum* were isolated in total, among them *V. parahaemolyticus* was found much more frequently from samples of plankton than those of sea water. (2) The high incidence of *V. parahaemolyticus* was seen especially in the port and coastal area of Singapore and Hong Kong and on Sunda Straits, but inspite of repeated investigations, it was never found in the port of Colombo. (3) It is an event of special mention that 8 strains of this species, which had never been isolated on the open sea surrounding our country up to now, were isolated on the pelagic ocean of Southeast Asia. (4) 58 out of 61 *V. parahaemolyticus* were able to be classified into known serological types; the remaining three were isolated on the open sea at water temperature below 37°C. (5) *V. anguillarum* were detected mostly from sea water at far distance from the ports, and there was a difference between distribution of this species and of that *V. parahaemolyticus*.

It can be considered finally that *V. parahaemolyticus* which has an important significance as a causing agent of food poisoning in our country is distributed at a fairly high rate in the port of Singapore and Hong Kong. Much attention must be paid to this finding from a standpoint of deep-sea fishery, foreign trade, public health etc.

### 緖 言

陽炎ビブリオによる食中毒は、最近2年間の厚生省の統計(1)(2)によれば、病原菌の判明した細菌性食中毒の73~76%を占めており、現在魚介類を原因とする食中毒の大部分は陽炎ビブリオによるであろうという推定が一般に通用するまでに至っている.

細菌学的には、本菌が約3%の食塩含有を至適濃度 とする培養上の特性、あるいは海水細菌特有の酵素キ チナーゼ(3)を産生することなどから、元来は海水棲息 菌であろうと推察されている。そしてわが国沿岸の諸 地域においては、東京水産大学(4)、5)(6)をはじめ各都県 の地方衛生研究所(7)によって広汎な海洋調査がなされ, この推察を裏づける貴重な資料が数多く提供されてい る。さらに本菌はビブリオという一つの Genus に編入 され(8), わが国沿岸では夏期にその数が急増し(9)冬期 に 著しく 減少する 傾向から 考えて、 腸炎ビブリオの "ふるさと,,は、熱帯地域の海洋ではないかという推 察も可能になってくる。しかるに現在のところ本菌に 関する報告は欧米には皆無であり、東南アジアのよう な亜熱帯および熱帯地域における存在を予測させるも のも極めて少なく(10)、特に系統的な海洋調査は全く試 みられていない. したがって, これらの地域における 本菌の分布は今日まで未知といっても過言ではなく,

この点の解明は単に生物学的な意味からではなく、食品衛生の面からも重要な一事と思われる.

著者は1964年7月から9月まで70日間,東南アジアの各地を実習航海する長崎大学練習船長崎丸に便乗する機会をえ、途上各地の外洋、沿岸および各港内の海水ならびにプランクトンを採取し、それから腸炎ビブリオの分離を行ない、各海域における本菌の分布状況を知り得たのでその成績を報告する.

本菌は最初生物学的性状によって1,2及び3型に分類されたが,後に生物型3はV.anguillarumであることが判明し(8),同2はV.alginolyticusとして別種扱いにされることが提唱された(11)。しかしてこの見地から従来の生物型1,V. parahaemolyticusと狭義に呼ばれるものの病原性はほとんど疑う余地がないので,上述の目的で行われる本研究が本菌を主対象とすることは当然であろう。もっともV.anguillarumの病原性は考えられないとしても,V.alginolyticusについては一部病原性検討の余地があり12013,この点はまた本研究でも留意するところであった。なお本研究実施時は未だ生物型1,2の呼称が慣用されていたので,以下の成績記述にはこれを用い,総括・結論においてのみ新提唱の種名を用いる。

#### 調 査 方 法

#### (1) 調査海域の航路

前記の長崎丸は1964年7月11日長崎港を出帆し、奄美大島北西を通り、7月14日基隆に寄港した。同18日に基隆からバシー海峡を経てフィリピン沖、サラワク沖に沿って航行し、27日シンガポールに入港、8日間碇泊した。

8月3日赤道を南下し、スマトラとバンカ島との問の狭い航路を通り、スンダ海峡を抜けてインド洋に8月6日に到達、洋上でマグロ延縄実習に1週間を費した後に、8月17日コロンボに寄港した。

8月22日帰途につき、インド洋で北緯5度の線を横断し、マラッカ海峡からマレイ半島沖、ヴェトナム沖を北東に航行し、9月2日香港に入港した、9月12日

香港から再びバシー海峡を経て、9月17長崎に帰港した。

以上の航路と寄港地,それに後述する生物型1,3 各種の検出場所を示したものは図1である.

#### (2) 検体の採取

前記の航海における検体採取は、プランクトンと海水を併せて221回実施した、外洋および沿岸では航行中に原則として1日2回(午前10時,午後4時)検体を採取した。もっとも本菌群の濃厚な分布が推定される狭い海峡や沿岸などでは、特に類回に採取を実施し、インド洋中央部などの外洋においては、その回数を減らした。また寄港地の港内では、ボートを使用し、河口附近を主体14年2~3ヶ所を選択して検体の採取を

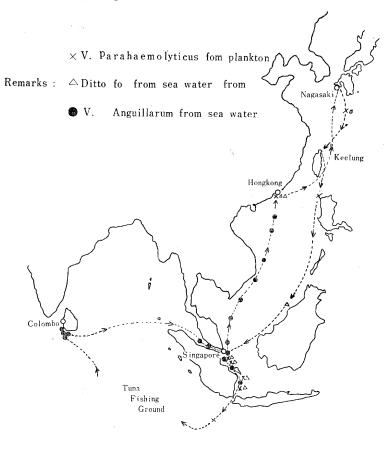


Fig. 1. Sea-route and results of examination

行なった. 採取位置と気温, 海水温を記録したことは 勿論である.

- ① 海水:蒸気滅菌した採水器で表層水を約500ml 採取した。
- ② プランクトン:外洋および沿岸では航行中に船底 (海水面から 3.5m) に直接流入する 海水をプランクトンネットで濾過し、約2gを採取した。港内では、ボートでプランクトンネットで $5\sim10$ 分曳網することによって材料を蒐集した.

#### (3) 菌分離法

① 海水:外洋では100ml,沿岸では50ml,港内では1~5mlの検水を蒸気滅菌したミリポール・フィルター(MF type PH25mm)で濾過した。そのフィルターを濾膜部分を上にして直接TCBS寒天培地上におき、37°C18時間 培養後、白糖非分解菌の 集落を3~4個

選んで釣菌した.

② プランクトン:検体1gづつを10 mlの選択増菌培地2種(3%食塩加M E 培地(0)およびBS 培A) に移植して、マンニットを分解して酸を産生したものをTCBS 寒天培地上に塗抹し37°C18時間培養後、白糖非分解の集落を $1\sim2$  個選んで釣菌した.保存培地には0.2% ティポール、3% 食塩加普通寒天培地を用い、分離菌を穿刺し、密栓したのち船室に保存しておいた.帰国後当研究所において以下の検査を行なった.

#### (4) 分離菌株の諸性状の検査法

保存培地の分離菌株の雑菌混在を識別するため、同培地から再びTCBS寒天培地に塗抹培養し同時に集落の形態性状についてもさらに観察をくわえた。そして腸炎ビブリオの疑いのある株について、厚生省病原性好塩菌食中毒檢查要領(1963年)に基づいて生物学

的検査を系統的に行なった.

- A 生物学的検査
- ① 普通染色,グラム染色
- ② 好塩性および塩化ナトリウム耐容試験
- ③ インドール 産生試験,3% 食塩化 SIM培地 (栄研)使用
- ④ 運動性試験 。
- ⑤ 硫化水素産生試験
- ⑤ チトクローム酸化試験, 3%食塩加INペプトン(栄研)を用いた。
- ④ 硝酸塩還元試験
- ⑧ フオーゲス・プロスカウエル試験、3%食塩加 ブドウ糖燐酸ペプトン培地(栄研)を使用。
- ⑤ 炭水化物分解試験,糖分解半合成培地(栄研) および3%食塩化INペプトン培地(栄研)を それぞれ基礎培地として使用し,両法の判定を 比較して成績を決定した。

# ⑩ ヒューレイフソン試験, 3%食塩加ヒューレイフソン(栄研)による.

- ③ ゼラチン液化試験, 3%食塩加ゼラチン・ティポール培地(栄研)使用.
- ② *d*-酒石酸塩利用試験, 3%食塩加ジョルダン培地(栄研)を用いた.
- B 血清学的型別試験

生物学的検査の結果生物型1と決定された61株について、国立予防衛生研究所第1細菌部の腸炎ビブリオ・センターで血清学的同定を実施した。K抗原型別(K-1~K-32)および、O抗原群別(O-1~O-10)には東芝化学工業株式会社製の腸炎ビブリオ診断用家兎免疫血清を用いた。前述の厚生省の検査要領によって最初K抗原型別試験をおこない、既知の型血清に一致しなかった株についてO抗原群別試験を行なった。

#### 成

70日の航海中採取を行なったのは海水、プランクトンあわせて221回、これにより一応分離した菌株数は計499株であった。しかし海水からの分離の際に、ミリポール・フィルター上の集落を直接釣菌したことや、保存培地上で発育不良のものを除外したことや、混入雑菌を分離するため再度TCBS寒天培地に画線培養しその集落形態性状を再確認したことなどによって、最終的には357株が腸炎ビブリオ並びにその類似菌と判定されその後の検査が進められた。357株のうち、生物学的検査により283株が生物型1、2および3に一致するものであった。残りの74株についてはインドール試験で35株、好塩性、塩化ナトリウム耐容試験で14株、硝酸塩還元試験で5株、ゼラチン液化試験で6株、硫化水素産生およびヒューレイフソン試験で各々2株、硫化水素産生およびヒューレイフソン試験で各々2株、硫化水素産生およびヒューレイフソン試験で各々2株、硫化水素産生およびヒューレイフソン試験で各々2株、硫化水素産生およびヒューレイフソン試験で各々2株

#### 緍

以上合計64株が先ず除外された.その他の10株は,ゼロビオースの分解能で生物型1に一致しないもの9株とフオーゲス・プロスカウェル試験で,生物型2に一致しないもの1株であった.

#### (1) 検体種別と分離菌の生物型

成績をプランクトンと海水に別けて整理したものは表1である。今回の調査の目的とした生物型1は61株分離され、その検出率はプランクトンの場合が海水の場合よりはるかに高い。すなわち両者の生物型1の分離株数を比較するとプランクトンからの52株のうち生物型1は23株検出率44%を示すのに対して、海水からの305株のうち生物型1はわずか38株12%にすぎない。更に検体採取回数と生物型1の検出回数からみるとプランクトンの場合83回のうち14回で17%の陽件率に対

Table 1. Isolation and classification into biotypes

Comple	Sampling	Samples	Strains		Bio type*	0.11	
Sample	Sampring	(Biotype 1 detectable)	isolated	1	2	3	Other
Plankton	83	14	52	23	4	9	16
Sea water	138	17	305	38	17	192	58
Total	221	31	357	61	21	201	74

\* Biotype 2 and 3 correspond to *V. alginolyticus* and *V. anguillarum* respectively. *V. parahaemolyticus* is defined as species possessing biological properties of Type 1 and that classifiable into serotypes K-1~K-2;58 out of 61 strains were determined as *V.parahaemolyticus* in this respect

して,海水の場合は138回中17回,12%で両者間には 格段の差はない.

生物型 2 は,生物型 1 の釣菌に当って培養時間,特に試料中の菌数などによって培養上の色調が左右され他型との区別が判然としない場合などにしばしば混入検出された.そして本型の検出状況は,同じく表 1 に示されるように,海水では分離52株中 4 株(7 %),プランクトンでは 305株に対し17株(5 %)で,検出による差異は認められない.

生物型 3 は、菌分離の際にTCBS寒天培地上では 1型の集落ときわめて類似した形態性状を示したため 総数201株という多数が得られる 結果となった. これを 検体種別から みると、海水から 分離されたものが 192株で、それが 分離総数中に占める 割合は96%にも

およびプランクトンからは9株4%を占め海水に高率 に本型が検出された.この検出率の著しい差は後述の ように菌分離の方法の差違によるものであろう.

#### (2) 地域的分布について

全航程の検査施行海域を10個所に区分し各生物型の分布をみたのが表2である。このように地域別にしてみると、生物型1の検出は香港およびその沿岸(21株)、シンガポール港(19株)、シンガポールからスンダ海峡に至る海域(12株)の順に高くその他の海域では極めて少数かあるいは全く検出されていないことが判明する。

基隆は軍港としての管制下にあるので検体の採取が 各所で出来ず僅か1株の生物型1を検出できたに過ぎ ない、これに対して、コロンボでは港内全域を調査し

Table 2. Geographical distribution of biotypes

Area	Samples examined Samples (Biotype detectable		Stnains		C I I		
(Period)			isola ted	1	2	3	Others
Nagasaki- Keelung (7.12-13)	Pl. 2 S.w. 7	1	4 3	I		3	3
Keelung and the coast (7.14-18)	Pl. 5 S.w. 8	1	3 6	1	1 3		1 3
Keelung- Singapore (7.19-26)	Pl. 17 S.w. 18	1 1	6 7	2 3			4 4
Singapore and the coast (7.27-8.3)	Pl. 4 S. w. 17	3 7	16 40	7 12	2 4	18	7 6
Singapore- Sunda Str. (8.4-5)	Pl. 9 S.w. 14	4 3	11 55	6 6		5 42	7
Indian Ocean (8.6-16) (7.23-27)	Pl. 21 S.w. 12	1	2 3	2		1	2
Colombo and the coast (8.17-22)	Pl. 8 S.w. 21		2 48		1 1	32	1 15
Malacca Str Hong Kong (8.2-9.2)	Pl. 12 S.w. 19		86			83	3
Hong Kong and the coast (9.3-12)	Pl. 5 S. w. 14	3 6	5 38	4 17	5	6	1 10
Hong Kong- Nagasaki (9.3-16)	Pl. 5 S. w. 8		3 19		4	10	2 5
Total	221	31	357	61	21	201	74

たのにかかわらず生物型1を遂に検出できなかった. コロンボ港から北方3マイルの河口で得た海水から生物型3のみ分離された.

生物型1は外洋での採取プランクトンから,長崎一 基隆間で1株,基隆一シンガポール間で2株,インド 洋で2株合計5株が各海域でそれぞれ1回ずつ採取した検体から得られている。また海水からは,基隆一シ ンガポール間で3株が1回の採取検体から検出された が,その海域は海水が一帯にプランクトンとクラゲ類 の屍で白濁した異常な環境であったことを参考にまで 附記する.

生物型2は今回の調査対象外の菌で、これは主として各港内の試料から菌分離を行なった際に混入したものである。それには台風通過直後の海域という事情を考慮に入れなければならない。

生物型 3 は、マラッカ海峡から香港に至るまでの海域に最も多く分布し(83株)、ついでシンガポールからスンダ海峡(42株)、及びコロンボ沿岸とコロンボ港北方3マイルの河口(32株)と多く検出された。このように生物型 3 は沿岸外洋の海水から検出されたものが大多数を占め、かつその分布は生物型 1 と著しく趣を異にしていた。

本調査の結果、わが国の食中毒の原因菌である生物型1が、香港周辺およびシンガポールからスンダ海峡沿岸海域に濃高な分布密度をしめすことを推則することが出来た。

#### (3) 港内,沿岸,外洋における生物型1と3との比較

表 3 にみられるように、生物型 1 の検出率は港内に最も多く総数61株中32株、52%を占め、沿岸では21株34%が検出され、外洋では8株13%と3者の間に著しい差がみられた。さらに検体採取回数から生物型1の検出回数をみると、港内で51回の採取回数中生物型1の

陽性回数は17回,沿岸で50回中10回の陽性,外洋では 120回のうち4回のみに検出された.

生物型3は既述のように大部分海水から,しかも生物型1が港内より多く検出されているのに対してこれは外洋や沿岸から特に多く検出された。このことは生物型3が海水細菌として棲息する結果であろう。また本菌株が多数得られたことについては菌分離時TCBS寒天培地上で本菌が1型と全く類似した集落性状を示したため、より多く釣菌されたものと考えられる。

#### (4) 血清学的型別試験

61株の生物型1についてK抗原型別並びにO抗原群 別をおこない、その成績を検査海域別に掲げたのが表 4である

現在腸炎ビブリオはK抗原によって52型に分類されているが、61株のうち58株が既知のK抗原に型別出来た、今回の調査ではK-17が最も多く18株、ついでK-27の12株、K-32の8 株、K-5の5 株の順となっている・地域別にみると、シンガポール及び香港ではK-32

地域別にみると、シンガホール及び 替花では **K**-52 及びK-17が多く検出された.しかし、シンガポールで はK-27及び K-5が検出されたが、香港ではこの種の 血清型はみられなかった.

プランクトンと海水から分離した菌の血清型は同一 地域でも一致していない結果がみられた.

外洋から検出されたK-32とK-27はそれぞれ1ケ所から分離されたものである.

○抗原群別はK抗原の型別結果をもとにして群別が 決定されるが、既知のK抗原に型別出来なかった3株 は既知の抗○血清にも凝集を示さなかった.この3株は いずれも外洋のプランクトンから分離されたものであ

分離菌のO抗原群別に際  $\cup O$ -1 $\sim$ 0-10ま でのうち  $\cup O$ -6 の出現はみられなかった。

Table 3. Isolation place and results of examination

Place	Samples	Samples	Strains	ins Biotype			Others
	examined (Biotype 1 detectable)		isolated	1	2	3	Others
Inside of habor	Pl. 9 S.w. 42	5 12	24 79	10 22	3 13	23	11 21
Coast	Pl. 18 S. w. 32	6 4	18 103	8 13	1	5 75	4 15
Open sea	Pl. 56 S.w. 64	3 1	15 118	5 3	4	4 94	. 6 17
Total	221	31	357	61	21	201	74

Table 4	Serological	typing	of Biotype	1 strains
---------	-------------	--------	------------	-----------

O-group	1 2 2 3 3 3	4 5 6 7 8 9 10	Total
K-antigen	32 27 28 5 6 30	8 17 18 19 20 23 24	10001
Singapore (Pl.) (S.w.)	6 5	2:22 1 1 1	7 12
Singapore (Pl.) -Malacca (S.w.)	1 2 3	2	6 6
Hong Kong (Pl.) and coast (S.w.		1 13 1	4 17
Keelung (Pl.) (S. w.)		1	1
Open sea (pl.) (S. w.)	2 3		2* 3
Total according to O-group	8 44 8.	1 18 2 4 1 2	58*

<sup>\*</sup>There are 3 untypable strains in addition. 49 strains, namely 64% of the strains isolated and determined as Biotype 1, could be typed into 0-1—0-5

わが国沿岸の海洋調査で多くの検出率を占めるO-1からO-5の割合(7)は今回の調査では、既知の血清型に一致した58株のうち4株84%におよんでいる.

# (5) 外洋における生物型1の分離位置と海水温並びに血清型

外洋の試料から検出された生物型1の8株は4ケ所において分離された。そのうち3株が既知の血清型に

Table 5. Spots on the open sea at where Biotype 1 strains were isolated

Sample	Strains	Serotype		Situation*	Atmospheric	Water	
(dating)	isolated	K	О		temperature	temperature***	
Plankton (7.2)	1	ut**	ut	(1) <sup>29°53</sup> 'N 27°38'E	29.0 ℃	26.9℃	
Plankton (7.20)	2	32 32	1 1	(2) <sub>120</sub> °34'N (2) <sub>120</sub> °24'E	30.5 <sub>°</sub> C	29.0℃	
Sea water (7.24)	3.	27 27 27	2 2 2	(3) <sub>113</sub> °05'E	30.6°C	30. 2 °C	
Plankton (8.7)	2	ut ut	ut ut	(4) <sub>100</sub> °13'S 23'E	24.9°C	27.0°C	

<sup>\*</sup> Distance from land: (1) 134 sea miles northwest of Nase, Amami-Oshima. (2) 13 sea miles from the northern extremity of the west coast of Luzon. (3) 63 sea miles north-west-by-west coast of Sarawak. (4) 320 sea miles west-south-by-west of Java lighthouse, Sumatra Str. \*\*\*'ut" means serologically untypable. \*\*\* 28.1°C on an average; it is considered to be suitable sea water temperature for inhibition of Biotype 1 organisms

一致せずかついずれもプランクトンから外洋 2 ケ所において 分離されたものである。型別が可能であった58株の生物型 1 が検出された位置での平均海水温は28.1°Cであったのに対して、型別不明の 3 株が得られた 2 ケ所の海水温はやや低く27°C以下であった。

分離菌が検出された位置は陸地からの距離が最も近いものでルソン島から13海里(約24 Km),最大距離ではスマトラ海峡ジャワ灯台から320海里(約590 Km)であった。

#### 老

腸炎ビブリオの存在とその意義解明以前は細菌性食中毒の原因菌のほとんどがサルモネラとされ、一方原因菌不明のものが相当な高率を占めていた。サルモネラの分布と動物との関連が食中毒の問題に重要な意義をもつことが明らかにされたと同様に、腸炎ビブリオと魚介類との関係も「推定」より「確実」に前進されなければならない。このような立場あるいは実際面から腸炎ビブリオの海洋分布を知ることは重要な一事と考えられる。

著者はこのような意図で東南アジア諸地域の海洋に おける腸炎ビブリオの生態を追究した。

腸炎ビブリオは生物学的性状によって,生物型1,2 および3 に分けられているが,現在食中毒の病原菌としての意義は1型以外はほとんど認められていない。従って今回の調査は主として生物型1の分布に重点をおいたが,同時に2型および3型の検索も併試し,特に3型については1型とその分布上明瞭な比較成績を得ることが出来た。

### (1) 東南アジア諸地域における陽炎ビブリオの分布 について

今回の調査成績から、東及び南支那海、ボルネオ海、マレーシャ沿岸、インドネシャ共和国沿岸海域一帯にわが国の食中毒患者から分離される腸炎ビブリオと生物学的、血清学的に同一性状を有する菌が広く分布していることが推察された。特に香港及びシンガポール港、シンガポールよりスンダ海峡において生物型1の濃厚な分布が認められたことは注目されるべきことであった。一方綿密な調査をくりかえしたにもかかわらずコロンボ港から生物型1は全く検出されなかった。

基隆では諸種の事情によって十分な調査が出来なかったので他の港内の調査成績と比較することは控えなければならない。インド洋を越えてコロンボ及びその周辺からは生物型1は全く分離されなかったが、本調査に同行した安永(16)がコロンボ港内の海底泥土から1株の生物型1を分離しているが、この地域では本型菌の分布は甚だ稀薄であると考えてよいかもしれない。

しかるに香港とシンガポール及び基隆とコロンボの 諸港 はその立地条件に共通点が認められ、前者で生

#### 察

物型1の検出頻度が大きく後者にはそれをほとんど検出出来なかったことが対蹠的であった。しかし, 港湾構造による海水の汚染度, 大腸菌群, 塩素分等は腸炎ビブリオの棲息に影響をおよぼすといわれるが40年の方面の調査が出来なかったことは遺憾であった。

#### (2) 外洋における生物型1の分離について

これまでわが国の周辺の外洋で分離されなかった生物型1が亜熱帯,熱帯地域の外洋で初めて分離された。海岸よりの距離と腸炎ビブリオの分布の関係について、大城(9)は単に陸地からの距離だけに左右されるものではなく播磨湾と大阪湾での調査の結果(1963),1型の検出される距離は海岸から7 Mm程度と述べている。

本調査において生物型1が分離された外洋の距離は、 陸地から最短24km、最大590kmの距離であった。これ らの海域は亜熱帯、熱帯という特殊な環境条件下にあ るので生物型1の棲息分布域を充分うかがうことが出 来ると思う。

東南アジアの各海域で生物型1が検出された位置の海水温は平均28.1°Cであるのに対して、血清型別が出来なかった3株の検出位置の海水温は27°C以下であった.

堀江らは外洋のアヤトビウオから新しい性状の生物型2 (1963) (6)を分離しているが、本調査で得られた分離菌に既往の性状と異ったものが混在しているかどうかまではなお精査を要するところである.

外洋の海水から生物型1が分離された海域はクラゲ類とプランクトンの屍で白班状に溷濁した異常な海水であった。またその他の株がいずれもプランクトンから分離されたことから生物型1が外洋において有機物から遊離した状態で棲息出来るものとは考え難い.

# (3) 菌分離の状況並びに分離菌の生物学および血清型検査について

ミリポール・フィルターは海水が極度に汚染されて いる状態にあるきとは海水の稀釈を考慮しても菌分離 が困難であることを感じた.

プランクトンに用いた増菌培地は外洋及び沿岸において3%食塩加ME培地がBS培地Aより遙かに優っていた. 長崎からコロンボに達するまで2種の増菌培

地を比較し白糖非分解菌として得られた42株のうち30 株が3%食塩加ME培地から得られたものであった.

またプランクトンから生物型3は僅かに9株分離されたのに反して海水から同型が192株もの多数が得られ両者の間に著しい差がみとめられた。これはプランクトンに用いた増園培地中の一成分であるエチル・バイオレットが生物型3に対して著明な静菌作用(8)をもっていることに結果しているのではないかと考えられた。

菌分離に際して、**TCBS**寒天培地上の集落形態性 状は、生物型1と3との区別は甚だ困難であった.

糖分解能試験において、セロビオースの分解能は腸炎ビブリオの特性としてあげられているが、18時間培養で陰性のものが時間の経過と共に分解能否の判定がむづかしくなるものがあって判定基準の確立が望まれ

る.

今回の調査範囲で海水とプランクトンの場合,地域的に分離菌の血清型が一致しないがこれは海水の場合ミリポール・フィルターを用い、プランクトンの場合増菌培地を使用したためであろうと思われる。本調査に同行した安永町が各港湾内の海底泥土から分離した生物型1の検査成績に従えば、プランクトンの場合分離の血清型に著しい差はみとめないが、海水ではその型別を異にする傾向があることも同じ理由と考えられよう。また堀江ら5)はAE培地(アラビノース・エチル・バイオレット・ブロース)を使用して分離した菌株の大部分はO-2群であったが、BS培地Aではそのような傾向はみられなかったという事実も上記の成績を説明するに足るものと思う。

#### 総括ならびに結語

1964年7月長崎を出港し、基隆、シンガポール、インド洋、コロンボに達し帰途香港経由で長崎に帰港するまでの70日間に、海水およびプランクトンについて合計221回に亘って試料を採取し、東南アジア海域における腸炎ビブリオの分布を知ろうと試みた、この際V. parahaemolyticusの検出に主眼をおいて分離検査を行なった。

(1) 61株のV. parahaemolyticusが分離され,これを検体種別でみるとプランクトンから23株,海水から38株であった。また検体採取回数と菌分離の状況と比較するとプランクトンの場合が海水の場合より分離率が高かった。

(2)分布密度の最も高かった海域は香港、シンガポール及びスンダ海峡に至る沿岸であった。コロンボ港は綿密な調査をしたにもかからわずV. parahaemolyticusを分離することが出来なかった。

(3)これまで 我が国 周辺の外洋で 検出されなかった V. parahaemolyticus が亜熱帯, 熱帯海域の外洋から始めて検出された.

(4)V. parahaemolyticus に属する分離菌61株のうち58株が既知の血清型に一致したが残りの3株は一致し

ないものであった.この3株は外洋から検出されたものでその検出位置における海水温は血清型別可能の58株のそれより低く27°C以下であった.

(5) V. anguillarumの分布は V. parahaemolyticusの それと対蹠的であって沿岸及び外洋の海水から圧倒的 に多数分離されプランクトンからの検出は基だ少ない ことが注目された.

稿を終るに当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜った 恩師福見秀雄教授,医学部細菌学教室青木義勇教授に また林薫助教授に心から深謝致します。さらに当研究 所病理部高橋庄四郎助教授,長崎県衛生研究所高橋克 己所長の絶大なる御指導と御協力に謝意を捧げますと 共に菌分離法と血清学的型別試験で直接御教示下さい ました国立予防衛生研究所坂崎利一博士ならびに海洋 調査に関する種々の御助言を戴きました東京水産大学 堀江進教授に厚く御礼申し上げます。本調査は長崎県 衛生研究所安永統男氏が同行し同氏の献身的な御尽力 と,長崎大学水産学部練習船長崎丸の阿部茂夫船長以 下乗組員学生諸兄の多大なる御協力に心から感謝しま す。なお当研究所の教室員ならびに補助員諸氏による 多量の器材の準備と御協力に厚く御礼申し上げます。

### 文

- 1) **厚生省統計調査部**: 伝染病および食中毒統計, 食中毒精密統計(昭和37.38.39)
- 2)厚生省:環境衛生局食品衛生課編昭和38年,全 国食中毒事件録

#### 献

- **3**) 柳沢文徳:キチナーゼについて,藤野恒三郎,福 見秀雄編: 腸炎ビブリオ,初版,215-221,一成堂, 東京,**1964**.
  - 4) 堀江進他:病原性好塩菌の海洋分布について,

- 日本水産学会誌, 29(1): 37-43, 1963.
- 5) 堀江進他:病原性好塩菌の沿岸海域における分布,日本水産学会誌,29(8):785-793,1963.
- **6) 堀江進他**:外洋のプランクトンおよび魚類における 腸炎ビブリオの 分布に ついて,日本水産学会誌 **30**(9):786—791, **1964**.
- 7) **児玉威**:海洋調査,藤野恒三郎,福見秀雄編: 腸炎ビブリオ,初版,241-262,一成堂,東京,**1964**.
- 8) 坂崎利一:細菌学的性状と分類学上の位置,藤野恒三郎,福見秀雄編,69-107,一成堂,東京,1964.
- 9) 大城俊彦:自然分布,藤野恒三郎,福見秀雄編, 腸炎ビブリオ,初版,263-277,一成堂,東京,1964.
- 10) 伊与田清, 矢野敬太郎, 今村嘉礼武, 竹林生夫: 好塩菌の分布と滝川血清との関係, 高知県衛生研究所, 1962.
- 11) **坂崎利一**: 腸炎ビブリオから亜群 2 の除外と菌種名*Vibrio alginolyticus*の提案, 食品衛生研究, **15**(7): 23—27, **1965**.

- 12) 坂崎利一: 腸炎ビブリオの性状と病原性, 食品 衛生研究, 1412: 76-79, 1964.
- 13) **善養寺浩他**: 腸炎ビブリオの生物型と食中毒起 炎菌との関係について, 疫学調査からみた, メデヤサ ークル, **52**: 79-95, **1964**.
- 14) **野口政輝, 大城俊彦**: 生態調査, 自然分布, 藤 野恒三郎, 福見秀雄編, 腸炎ビブリオ, 初版, 263— 311, 一成堂, 東京, **1964**.
- 15) **堀江進他**:病原性好塩菌の選択増菌培地,日本 水産学会誌, **28**(7): 742―746, **1962**.
- 16) 安永統男:東南アジア地域の港湾内の海底土ならびに捕獲市販魚介類における腸炎ビブリオの分布長崎大学風土病紀要, 6(4):201~208, 1964.
- 17) 安永統男,黒田正彦:東南アジア地域の海底泥土並びに魚介類から分離した腸炎ビブリオの血清学的性状,マウスに対する毒性および溶血性について,長崎大学風土病紀要,7(2):107—113,1964.