

市販アオヤギからの病原ビブリオの検出状況

小岩井健司, 鶴岡 佳久

Isolation of Pathogenic *Vibrios* from Aoyagi (*Macra sulcataria*) on the Market

Kenji KOIWAI and Yoshihisa TSURUOKA

I. はじめに

ここ数年, わが国の食中毒はサルモネラを原因とする事例が増加傾向¹⁾にあるが, *Vibrio parahaemolyticus*をはじめとする病原ビブリオによる食中毒も依然多く, 原因として生食用魚介類, なかでも貝類の喫食が問題となる事が多い。また, 食中毒ばかりでなく腸管系の伝染病でも, 生食用魚介類の喫食が問題となる事があり, 1991年に千葉県の民宿で発生した *V. cholerae* 01による事例²⁾でも, 共通喫食品として貝類が疑われた。

一方, わが国においては食中毒菌とは指定されていない病原ビブリオによる下痢症や創傷等も報告^{3,4)}されており, 今後はこれらの菌種を含めた総合的な安全対策がより必要となってくるものと思われる。

市販刺身の病原菌汚染調査については以前報告⁵⁾したが, 今回は生食されることが多いアオヤギ (*Macra sulcataria*) について, 市販品を対象に, より安全な製品を供給するための資料を得ることを目的として, 病原ビブリオの汚染実態調査を行った。

なお, 今回の調査で *V. cholerae* 01については, 近年その利用が急速に広まっている polymerase chain reaction (PCR) 法による検出も試みた。

II. 材料および方法

1. 材料および調査対象

調査は1993年5月から11月まで7回行った。検査材料は, 市販のアオヤギ生食用27検体, ボイルアオヤギ12検体, 計39検体である。

2. 病原菌の分離および同定

検体25gに1%食塩加アルカリペプトン水225mlを加えて10倍希釈液を作成, これを原液としてMPN 3本法で37℃, 15時間培養後, TCBS寒天, ビブリオ寒天およびPMT寒天を用いて病原ビブリオの検出を行った。常法にしたがって同定した後, 検体100g当りのMPN値を求めた。

分離株の病原因子, すなわち, *V. parahaemolyticus*の耐熱性溶血毒(TDH)は, "KAP-RPLA「生研」" (デンカ生研) を用い, *V. cholerae*, *V. mimicus*のコレラ(様)毒素産生試験等の検査は既報⁶⁾によった。

また, 原液を用いて一般生菌数と大腸菌群数も測定した。一般生菌数は1%食塩加の標準寒天培地で30℃, 48時間培養後, 大腸

菌群数はデソキシコレート培地で30℃, 20時間培養後, それぞれ菌数を計測した。

3. PCR法による *V. cholerae* 01の検出

V. cholerae 01検出のためのPCR法は, 検体の10倍希釈液を用いてWalterら⁷⁾の方法に準じて実施したが, プライマーは小林ら⁸⁾によって報告されたものを使用した。

III. 成績

1. 病原ビブリオの検出状況

市販アオヤギの病原ビブリオの検出状況を表1に示した。食中毒菌として指定されている病原ビブリオは, 生食用アオヤギ7検体(25.9%), ボイルアオヤギ2検体(16.7%)から検出された。

表1 アオヤギからの病原ビブリオ検出状況

菌種	検体数	
	生食用アオヤギ 27 (%)	ボイルアオヤギ 12 (%)
病原ビブリオ検出検体数	7 (25.9)	2 (16.7)
<i>V. parahaemolyticus</i>	6 (22.2)	
<i>V. mimicus</i>		1 (8.3)
<i>V. fluvialis</i>	3 (11.1)	1 (8.3)
<i>V. metschnikovii</i>	6 (22.2)	
<i>V. vulnificus</i>	5 (18.5)	
<i>V. damsela</i>	1 (3.7)	

その内訳は, 生食用アオヤギは, *V. parahaemolyticus* 4検体, *V. parahaemolyticus*と *V. fluvialis*の2菌種検出が2検体, *V. fluvialis*が1検体であった。一方, ボイルアオヤギでは1検体から *V. mimicus*が, 他の1検体から *V. fluvialis*が分離された。*V. metschnikovii*等の非食中毒起因病原ビブリオはいずれも生食用アオヤギから分離され, *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. metschnikovii*および *V. vulnificus*の4菌種が検出された検体が1件認められた。*V. cholerae* 01は培養法, PCR法ともいずれの検体も陰性であった。

分離された病原ビブリオ6菌種, 92株の生化学性状を表2に示す。

表3は検出された病原ビブリオの菌数である。高濃度の汚染がみられた検体はなく, いずれの菌種も100g当り 10^4 個から 10^2 個の菌量であった。

表4にはアオヤギの一般生菌数と大腸菌群数を示した。一般生菌数は, 生食用アオヤギでは1g当り 10^4 個から 10^7 個の範囲であったが, ボイルアオヤギでは 10^2 個/gの検体が41.2%を占めた。大腸菌群の汚染菌量は1g当り 10^2 個以下から 10^7 個までの広い範囲に分布した。一般生菌数, 大腸菌群とも生食用アオヤギよりボ

表2 分離株の生化学性状

分離株 テスト (基質)	V. parahaemolyticus					
	V. parahaemolyticus	V. fluvialis	V. mimicus	V. metschnikovii	V. vulnificus	V. damsela
(供試株数)	25	13	5	29	19	1
オキシダーゼ	+	+	+	-	+	+
インドール	+	+	+	-	+	-
Voges-Proskauer	-	-	-	+	-	+
リシン デカルボキシラーゼ	+	-	+	-	+	-
オルニチン デカルボキシラーゼ	+	-	+	-	+	-
アルギニン ジヒドロラーゼ	-	+	-	+	-	+
無塩ブイオンにおける発育	-	-	+	-	-	-
6% NaCl加ブイオンにおける発育	+	+	d	+	+	+
8% NaCl加ブイオンにおける発育	+	d	-	-	-	-
ブドウ糖からのガス産生	-	-	-	-	-	+
炭水化物からの酸産生						
乳糖	-	-	-	-	d	-
白糖	-	+	-	+	-	-
マンノース	+	+	+	+	+	+
マンニット	+	+	+	+	+	-
イノシット	-	-	-	-	-	-
アラビノース	-	+	-	-	-	-
ONPG	-	+	+	-	+	-
運動性	+	+	+	+	+	+

表3 アオヤギの病原ビブリオ菌数

菌種	陽性数	NPN/100g		
		10 ¹	10 ²	10 ³
<i>V. parahaemolyticus</i>	6	3	3	
<i>V. mimicus</i>	1		1	
<i>V. fluvialis</i>	4	3	1	
<i>V. metschnikovii</i>	6	5	1	
<i>V. vulnificus</i>	5	4	1	
<i>V. damsela</i>	1	1		

イルアオヤギの菌量が高い傾向を示したが、病原ビブリオの検出状況と一般生菌数、大腸菌群数との関連はみられなかった。

2. 分離株の病原因子

*V. parahaemolyticus*はTDH産生性について、*V. mimicus*はTDH類似の溶血毒 (Vm-rTDH) とコレラ (様) 毒素産生性について検査をおこなったが、いずれも産生株は認められなかった。

表4 アオヤギの一般生菌数と大腸菌群数

検体	項目	菌数	(/g)							
			<10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸
生食用アオヤギ (27)	一般生菌数					4	14	6	3	
	大腸菌群数	13	5	5	2	2				
ボイルアオヤギ (12)	一般生菌数					2	3	2	5	
	大腸菌群数	5		4		1	1	1		

IV. 考 察

平成4年度に千葉県では6258トンのバカガイ (アオヤギ) の漁獲高が報告⁹⁾されている。他県の漁獲高は、内湾性貝類と一緒に計上されているため、千葉県のバカガイ漁獲高が全国の何割を占めるかは明らかでないが、その漁獲高はかなり上位を占めるものと思われ、本県は安全なバカガイを供給する必要がある。

今回の調査の結果、生食用アオヤギの25.9%、ボイルアオヤギの16.7%から*V. parahaemolyticus*や*V. mimicus*等の食中毒起因菌が検出された。この結果は既に報告⁵⁾した汚染率33.3% (4/12) よりやや低下しているものの、市販アオヤギの病原ビブリオに関する衛生状況は、汚染率に関する限りあまり好転している状況にないものと思われる。また、*V. metschnikovii*に汚染されている生食用アオヤギも多い。魚介類は水揚げの段階で既に病原ビブリオに汚染されていることが多いため、汚染率を低くするのはなかなか困難のことと思われるが、食中毒を防止するためには加工時に清浄な海水で十分な洗浄を行う工程の強化など、より安全な製品を供給するための努力が要求されよう。

病原ビブリオの汚染菌量についてみると、各菌種とも100g当り10¹から10²個であった。この値は生食用魚の*V. parahaemolyticus*の衛生指導基準¹⁰⁾として推奨されている100g当り10⁴個未満の範囲であった。食品は流通時における温度コントロールが非常に大切であるが、今年の猛暑を考えると今回の数値は流通過程の低温管理が効果的に働いていた結果と推察される。

一般生菌数と大腸菌群数は生食用よりもボイルアオヤギの方が高い傾向にあり、また、ボイルアオヤギから*V. mimicus*等が分離されたことは問題である。本来ならばボイルアオヤギの方が菌数が少なくなければならないはずである。製造現場に対するより一層の衛生教育が必要と思われる。

アオヤギに関する今回の調査から、病原ビブリオの汚染率は以前の調査と余り変化がないものの、その菌数は比較的低い値であった。今後、加工現場と行政の双方で、更に汚染率の低い、且つ、菌数の少ない製品を出荷する努力を重ねていかなければならない。

検査法に関しては、今回、*V. cholerae* 01の検査に培養法とPCR法を併用した。しかしながら、培養法でもPCR法でもともに*V. cholerae* 01は検出されず、PCR法の有用性について明らかにすることはできなかった。

文 献

- 1) 日本食品衛生協会 (1994) : 目でみる食中毒発生状況, 食品衛生, 38 : 53-58
- 2) 小岩井健司, 岸田一則, 内村真佐子, 鶴岡佳久, 田中寛 (1992) : 千葉県富山町, 富浦町で発生したコレラと分離株の性状について, 日本感染症誌, 66, 臨時増刊号 : 151
- 3) W. HANSEN, J. FRENEY, H. BENYAGOUR, M.-N. LETOUZEY, J. GIGI, and G. WAUTERS (1993) : Severe Human Infections Caused by *Vibrio metschnikovii*, J. Clin. Microbiol., 31 : 2529-2530
- 4) AMY M. CARNAHAN, JANET HARDING, DONNA WATSKY, and STEPHEN HANSMAN (1994) : Identification of *Vibrio hollisae* Associated with Severe Gastroenteritis after Consumption of Raw Oysters, J. Clin. Microbiol., 32 : 1805-1806
- 5) 小岩井健司, 内村真佐子, 三瓶憲一 (1984) : 市販刺身の病原菌汚染調査, 千葉衛研報告, 8 : 47-49
- 6) M. UCHIMURA, K. KOIWAI, Y. TSURUOKA, and H. TANAKA (1993) : High prevalence of thermostable direct hemolysin (TDH)-like toxin in *Vibrio mimicus* strains isolated from diarrhoeal patients, Epidemiol. Infect., 111 : 49-53
- 7) WALTER H. KOCH, WILLIAM L. PAYNE, BARRY A. WENTZ, and THOMAS A. CEBULA (1993) : Rapid Polymerase Chain Reaction Method for Detection of *Vibrio cholerae* in Foods, Appl. Environ. Microbiol., 59 : 556-560
- 8) 小林一寛, 勢戸和子, 上口美弥子, 牧野正直, 石橋正憲, 赤阪進, 山本和生 (1989) : Polymerase chain reaction法を用いたコレラ毒素遺伝子の迅速診断法, 医学の歩み, 150 : 590-510
- 9) 関東農政局千葉統計情報事務所 : 農林水産統計年報1992年版
- 10) 坂崎利一編 : 食中毒, 中央法規出版 (東京), 88-94, 1983