

瀬戸内海における腸炎ビブリオの分布

I. 夏季調査について

浅 川 末 三
(広島大学水畜産学部水産学科)

Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto Inland Sea

I. On the Survey in Summer

SUEZO ASAKAWA

Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Animal Husbandry,
Hiroshima University
(Figs. 1-2, Tables 1-3)

病原性好塩菌といわれた腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) が海洋細菌に属すること¹⁾から、各府県の衛生研究所が中心になって地先海域における本菌の分布状態を調査した²⁾。堀江ら³⁾⁴⁾⁵⁾は房総半島から遠州灘南方沖合に至る広い海域での分布を調べた。それら諸調査の結果、本菌の生物1型菌は外洋水域では殆んど検出されず沿岸水域に多く分布し、生物2型菌は外洋・沿岸水域にわたって広く分布していることがわかった。

全水域がほとんど沿岸水で占められている瀬戸内海における本菌の分布状態は、例えば大阪湾⁶⁾⁷⁾、播磨灘⁷⁾あるいは水島灘⁸⁾という一定水域での調査は行われたが、全水域に及んだ調査は行われていない。吾々は内海全水域的な分布調査を行なったので、ここにその結果を報告する。

本調査を行なうに当り、本学練習船豊潮丸の乗員諸氏、海洋観測に協力いただいた当学科海洋学教室の小山、遠藤両氏、並びに細菌実験に多大の労を煩わした町田、佐久両君に心より謝意を表す。なお本調査は文部省科学研究費(39年度各個研究)によった。

調 査 方 法

広島大学練習船豊潮丸により、1963年9月18~22日大阪湾から備後灘に至る瀬戸内海東部水域の15地点、1964年9月12~17日備後灘から下関港に至る西部水域の21地点の合計36地点につき、停船をして表層(0.5 m 深)、中層(地点により水深の中央深とは必ずしも限らない)の海水および底質を採取し、これらの試料から本菌を分離検出した。

1 採水方法

東部水域調査のときは、プラスチック製のバンドン式採水器 (Fig. 1 の左下に示す) 約3 l 容を用いた。使用都度の殺菌処理は行なわなかったが、容積が比較的が大きいためか、採水中央部分を分取することによって特に汚染されたとは思われなかった。

西部水域調査のときは、ナンセン式採水器を用いた。この場合には使用の都度に熱水を充分に通じて

殺菌を行なった。

2 採泥方法

T式採泥器を用い、使用の都度に十分に洗滌し乾燥させた。この採泥器は潮流の速い地点あるいは海底の深い地点では、採泥が困難であったので、吾々考案の重り（5 kg）を取り付けて採泥を行なった。重りを取り付けた状態を Fig. 1 の右に示した。

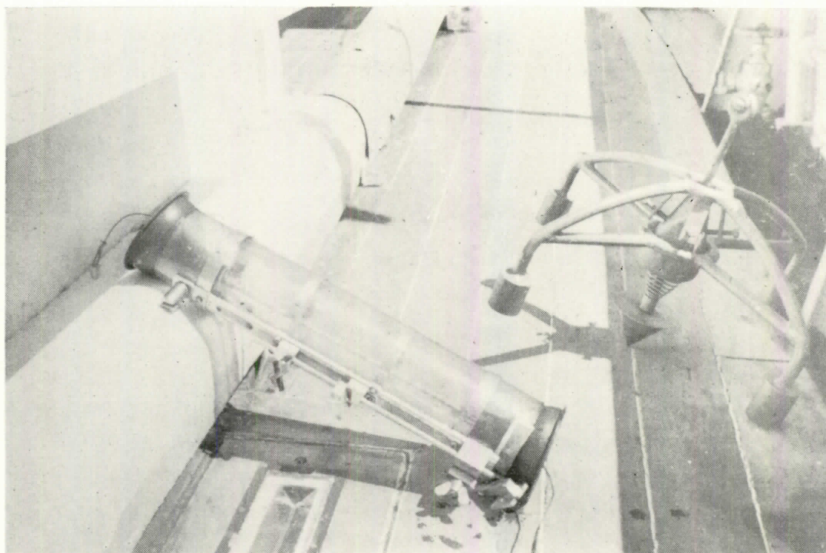


Fig. 1. A T-type bottom sampler to which a poise (5 kg in weight) is attached by the author's idea (Right), and a Van Dorn's water-bottle (Left).

3 海洋観測方法

水深、水温、塩素量および溶存酸素量は海洋観測指針⁹⁾記載の方法によった。pHは携帯用ペーハー計の複合型ガラス電極を試料中に直接挿入して測定した。

4 細菌分離同定方法

採水器から先ず塩検用、溶存酸素量用その他の海水を流出後に滅菌試験管に約 30 ml を分取し、直ちに、その 10 ml を無菌箱内にて堀江ら⁴⁾記載の 3% 食塩加アラビノース・エチルバイオレット・ブロス B 増菌培地 10 ml に混じた。

底質は採泥器の引き上げ直後、アルコール消毒をしたサジにて約 2g を堀江ら⁴⁾の同上ブロス A 増菌培地 20 ml に投入した。これら接種培地を直ちに船内で 37°C 20 時間前後増菌培養した。

培養後培地の黄変色したものを研究室に持ち帰り、BTB ティポール寒天分離平板培地（栄研製）に画線して 37°C 24 時間培養した。発育集落中大型で形、色相等の相違しているものを夫々鈎菌し、厚生省の病原性好塩菌食中毒検査要領（1963）¹⁰⁾指定の 3% 食塩加肉エキス寒天保存培地に斜面塗抹と穿刺をして 37°C 24 時間培養した。

この保存培地の分離菌につき、同要領に従って形態学および生化学的性状を検査して本菌の生物

型および類似菌を同定した（以下本文および表に生物 I 型菌を I, 2 型菌を II, 類似菌を III と略記する）. なお, 本菌の血清学的性状検査は行なわなかった.

調査結果

調査地点の略図を Fig. 2 に, 地点の位置, 日時, 天候, 気温等を Table 1 に, 又各地点における試料海水の深さ, 水温, 塩素量, 溶存酸素量並びに試料底質の深さ, 組成および分離検出した本菌の生物型を Table 2 に示した. 測定した pH 値は海水試料では殆んど全部が 8.2~8.3, 底質試料では 7.5~7.7 だったので記載を略した.

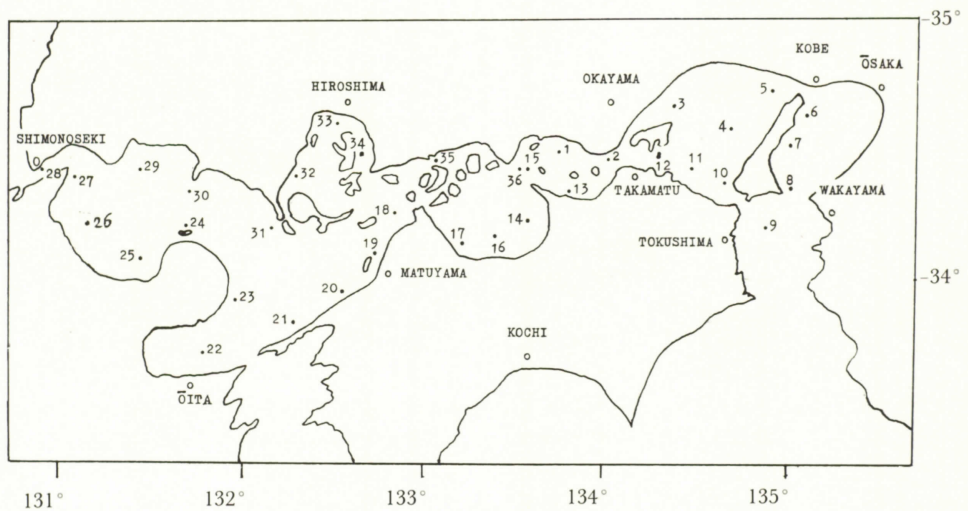


Fig. 2. Location of sampling stations in the Seto Inland Sea in summer.

調査 36 地点における海水 72 試料, 底質 36 試料から I を 14 株, II を 49 株および III を 22 株分離した. 勿論, 試料中に本菌が検出されたことは, その地点に本菌が分布していたことを示すものであるが, その地点に常に分布するとはいえない. 又試料中に検出されなかったからその地点には本菌が分布していないともいい切れない. 採水・採泥法あるいは増菌方法等が異なれば結果も相違するであろう. このような調査を更に数度実施しなければ, 本菌の常在的分布状態を明らかにすることはできない.

しかしながら本調査において, 真の食中毒原因菌と目されている I が大阪湾, 播磨灘, 水島灘並びに周防灘南部の各地点から多く検出され, 内海の中央水域からは検出されなかった. これら検出された水域に面した地方において過去本菌による食中毒事件が比較的多発したこと¹¹⁾と対照して注目すべき結果であると思われる.

Table 1. Observations at sampling stations

Station No.	Position		Date (time)	Weather	Air temp. °C
	Latitude	Longitude			
1	34°26.2'N	133°39.1'E	'63.9.18 (11:15)	Fine	24.8
2	34°25.3'N	133°56.4'E	(13:20)	Fine	24.6
3	34°37.4'N	134°20.0'E	'63.9.19 (08:15)	Fine	20.4
4	34°31.5'N	134°38.0'E	(10:45)	Fine	23.7
5	34°34.2'N	134°52.8'E	(12:50)	Fine	23.6
6	34°31.5'N	135°07.5'E	'63.9.20 (07:15)	Fine	20.8
7	34°22.7'N	135°01.9'E	(09:15)	Fine	22.4
8	34°18.4'N	134°59.2'E	(10:20)	Fine	22.9
9	34°04.7'N	134°44.4'E	(12:50)	Fine	24.0
10	34°15.8'N	134°36.4'E	'63.9.21 (10:45)	Rain	20.9
11	34°19.5'N	134°28.4'E	(11:50)	Rain	21.6
12	34°25.5'N	134°10.4'E	(14:30)	Cloud	22.8
13	34°17.5'N	133°42.6'E	'63.9.22 (06:15)	Fine	20.8
14	34°11.8'N	133°28.5'E	(08:10)	Fine	23.2
15	34°18.9'N	133°26.2'E	(09:30)	Fine	22.6
16	34°05.5'N	133°21.5'E	'64.9.12 (07:00)	Fine	27.8
17	34°01.0'N	133°11.5'E	(11:20)	Fine	27.8
18	34°07.9'N	132°43.1'E	(15:16)	Fine	28.5
19	33°55.4'N	132°43.1'E	(16:54)	Cloud	27.7
20	33°40.3'N	132°26.4'E	'64.9.13 (08:03)	Fine	26.7
21	33°31.0'N	132°13.3'E	(10:05)	Fine	26.3
22	33°21.5'N	131°47.1'E	(13:30)	Cloud	26.1
23	33°32.9'N	131°50.4'E	(15:00)	Cloud	26.0
24	33°45.5'N	131°40.0'E	(17:10)	Cloud	26.8
25	33°42.0'N	131°23.0'E	'64.9.14 (07:15)	Fine	27.2
26	33°44.3'N	131°09.0'E	(08:55)	Fine	28.8
27	33°57.0'N	131°05.3'E	(10:35)	Fine	28.6
28	33°56.7'N	130°56.6'E	(11:45)	Fine	28.9
29	33°56.0'N	131°25.3'E	'64.9.15 (12:30)	Fine	28.2
30	33°55.7'N	131°44.3'E	(14:35)	Fine	28.0
31	33°49.5'N	132°00.9'E	(16:30)	Fine	28.0
32	34°04.4'N	132°17.1'E	'64.9.16 (05:50)	Rain	25.0
33	34°19.0'N	132°21.5'E	(09:20)	Cloud	25.3
34	34°12.4'N	132°31.3'E	'64.9.17 (07:00)	Fine	24.4
35	34°21.7'N	133°06.5'E	(12:45)	Fine	28.2
36	34°19.0'N	133°26.3'E	(15:15)	Fine	28.1

Table 2. Oceanographic data on sea water and bottom samples, and biotypes of the strains isolated from each sample

Station No.	Depth m	Water temp. °C (Bottom property)	Chlorinity %	Dissolved oxygen		Biotype*
				ml/l	%	
1	0.5	25.4	17.21	4.94	98.6	II
//	5	25.3	17.21	4.78	95.2	I, II
//	14	(Mud)	—	—	—	I, II
2	0.5	25.7	17.10	4.44	89.0	II
//	7	25.7	17.11	4.44	89.0	II
//	13	(Sand)	—	—	—	I, II
3	0.5	24.7	17.20	4.56	90.1	II
//	8	24.9	17.21	4.43	87.7	II
//	20	(Mud)	—	—	—	II
4	0.5	24.8	17.50	4.45	88.1	II
//	14	24.7	17.50	4.14	81.8	II
//	30	(Mud)	—	—	—	III
5	0.5	24.6	17.73	4.17	80.6	II
//	13	24.5	—	—	—	II
//	38	(Shelly sand)	—	—	—	I, II
6	0.5	24.3	17.81	4.09	80.7	II
//	11	24.3	17.82	4.03	79.5	II
//	34	(Shelly sand)	—	—	—	I
7	0.5	24.3	18.16	4.60	91.1	II
//	10	24.2	18.17	4.41	87.2	II
//	42	(Sanded mud)	—	—	—	I, II
8	0.5	24.5	18.17	4.42	87.9	I
//	15	24.3	18.29	4.15	82.3	II
//	95	(Shelly sand)	—	—	—	III
9	0.5	25.4	17.92	4.89	98.2	III
//	14	25.1	18.03	4.52	90.6	
//	53	(Mud)	—	—	—	II
10	0.5	24.8	17.68	4.52	89.9	III
//	11	24.8	17.68	4.52	89.9	I
//	34	(Sand)	—	—	—	I
11	0.5	24.7	17.31	5.04	99.4	III
//	9	24.7	17.36	5.00	98.6	II
//	37	(Mud)	—	—	—	III
12	0.5	25.1	17.24	4.52	89.7	II
//	10	25.1	17.19	4.46	88.5	II
//	31	(Shelly sand)	—	—	—	I, II
13	0.5	24.4	17.59	4.32	85.0	III
//	8	24.4	17.63	4.27	84.2	
//	12	(Muddy sand)	—	—	—	II
14	0.5	24.4	17.69	4.35	85.8	II
//	12	24.3	17.69	4.30	84.6	II

(Continued on next page)

Station No.	Depth m	Water temp. °C (Bottom property)	Chlorinity ‰	Dissolved oxygen		Biotype*
				ml/l	%	
//	20	(Mud)	—	—	—	III
15	0.5	24.4	17.36	4.64	91.2	II
//	10	24.5	17.61	4.05	79.9	II,III
//	24	(Mud)	—	—	—	III
16	0.5	27.6	18.17	4.64	97.2	
//	11	27.8	18.19	3.69	81.1	III
//	21	(Mud)	—	—	—	III
17	0.5	27.6	18.13	5.13	107.5	
//	9	27.4	18.11	5.33	111.2	
//	18	(Sanded mud)	—	—	—	III
18	0.5	25.7	18.28	4.86	98.5	
//	17	25.4	18.27	4.44	89.6	II
//	43	(Sanded mud)	—	—	—	
19	0.5	25.0	18.38	4.43	88.9	
//	16	24.9	18.32	4.55	91.0	II
//	32	(Shelly sand)	—	—	—	II
20	0.5	24.7	18.44	4.84	96.6	
//	20	24.4	18.45	4.37	86.9	III
//	40	(Shelly sand)	—	—	—	I,III
21	0.5	25.8	18.38	4.83	91.4	
//	32	23.6	18.47	3.86	77.2	
//	65	(Muddy sand)	—	—	—	II
22	0.5	26.0	18.44	4.77	97.7	
//	26	24.5	18.21	4.00	79.6	
//	46	(Sanded mud)	—	—	—	III
23	0.5	25.7	18.21	4.53	91.7	III
//	27	24.4	18.46	4.08	81.2	III
//	56	(Shelly sand)	—	—	—	
24	0.5	26.8	18.05	4.55	93.9	
//	26	23.2	18.30	2.98	57.4	
//	53	(Sand)	—	—	—	I
25	0.5	27.4	17.93	4.76	99.1	I
//	8	27.3	17.88	4.74	98.6	III
//	18	(Mud)	—	—	—	
26	0.5	27.5	17.87	4.20	87.6	
//	6	27.4	17.93	4.14	86.1	
//	13	(Mud)	—	—	—	
27	0.5	27.2	17.64	4.07	84.2	II
//	5	27.0	17.67	3.92	80.8	II
//	11	(Mud)	—	—	—	II
28	0.5	26.6	17.87	3.92	79.7	II
//	8	26.5	17.89	3.98	81.6	II
//	17	(Shelly sand)	—	—	—	I

(Continued on next page)

Station No.	Depth m	Water temp. °C (Bottom property)	Chlorinity ‰	Dissolved oxygen		Biotype*
				ml/l	%	
29	0.5	27.0	17.80	4.58	94.3	II
//	8	25.6	18.01	3.89	90.1	
//	16	(Mud)	—	—	—	II
30	0.5	27.0	18.10	4.89	101.1	
//	18	24.2	18.26	3.35	66.2	
//	37	(Mud)	—	—	—	
31	0.5	27.2	18.09	4.92	108.0	
//	19	24.9	18.29	4.66	93.3	III
//	38	(Mud)	—	—	—	III
32	0.5	26.0	17.83	4.66	94.9	II
//	15	24.8	18.18	4.08	74.9	
//	30	(Mud)	—	—	—	
33	0.5	26.5	16.39	5.33	107.2	II
//	7	25.3	17.74	2.53	50.7	II
//	14	(Mud)	—	—	—	
34	0.5	25.6	17.78	4.22	97.3	II
//	11	24.7	17.91	2.71	53.8	II
//	23	(Mud)	—	—	—	
35	0.5	26.9	18.13	4.71	97.4	II
//	12	26.8	18.14	4.42	91.2	II
//	25	(Sanded mud)	—	—	—	II
36	0.5	27.8	18.14	4.92	108.1	
//	11	27.4	18.15	4.80	100.2	III
//	22	(Mud)	—	—	—	

* Biotype III organisms have belonged to an allied species recently.

結果の考察

Table 2 を見ると、調査地点 No. 1~15 に比較して No. 16~36 では本菌類を検出しなかった試料が多い。これは調査年度あるいは採水器の相違によるものか不明である。ただ、No. 16~36 においては分離平板培地上の集落を釣菌する際に I・II と推定されるものは特に留意して釣菌をしたが、III と推定されるものはこれがれ食中毒とは関係のない類似菌であることが知られているので入念に釣菌分離をしなかった。そのために、III が分離されるはずの試料でも検出されなかったものがあるので不検出試料が多く出たと思われる。

調査結果を海水の層別、底質の組成別に分けて各生物型の検出数を取りまとめると Table 3 となる。

Table 3. Detected frequency of various biotypes and number of samples

Division of sample		Biotype			Detected samples	Undetected samples
		I	II	III*		
Sea water	Upper layer	2	17	5	24	12
	Middle layer	2	19	7	26	10
Bottom property	Mud	1	5	6	11	7
	Sand	8	4	2	10	1
	Mixture of mud & sand	1	4	2	6	1
Total		14	49	22	77	31

*Biotype III organisms have belonged to an allied species recently.

Table 3 より, I は海水・底質いづれからも検出されたが特に海底の砂質に広く分布していると推定される。大城⁷⁾ は, 大阪湾・播磨灘での調査より I が距岸 7,000m 以内特に海岸・港内の泥土中に濃厚に分布していると報告した。本調査地点はその多くが距岸 10km 以上であったので泥質よりも砂質の所に多く分布しているのかも判らない。なお, 使用採泥器が泥質部では海底面下ある深さまで突入するが, 砂質部では海底面の部分を採泥した様子なのでこの相違が結果に現われているのではないかとも思われる。この疑点については更に検討したい。

II は I とは逆に海水中に多く検出され, しかも海水の深度には関係がない。又底質では泥質・砂質という組成にも無関係に分布していると考えられる。

III については, エチルバイオレット添加で III を静菌した選択的増菌培地を用いた上に, 前記の釣菌理由にてその検出数は過少なものである。Table 3 の数字上では, III は海水中, 底質中ともに殆んど同じような割合で検出されたので海中に広く分布しているのであろう。

本菌の検出状態と海況との関係については特に有意な相関は見出せなかった。これは Table 2 に見るように, 各地点における海況が近似しておりある一定範囲内に含まれたためと思われる。

摘 要

1963年9月瀬戸内海東部水域, 1964年9月同西部水域の合計36地点につき腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) の分布を調査した。

- (1) 生物1型菌は大阪湾, 播磨灘, 水島灘および周防灘南部から比較的多く検出された。2型菌と類似菌は全水域から多く検出された。
- (2) 生物1型菌は海底砂質から, 2型菌は水深には無関係に海水から高率に検出された。類似菌は海水・底質共に広く分布しているようであった。
- (3) 本菌の分布と海況との関係については, この調査では特に有意と思われる相関は見出せなかった。

引用文献

- 1) 宮本 泰: 食品衛生学雑誌, 2 (4), 29 (1961).
- 2) 藤野恒三郎・福見秀雄 (編): 腸炎ビブリオ, 241-262, 一成堂, 東京 (1964).

- 3) 堀江 進・佐伯和昭・小嶋秩夫・関根 隆：日本水産学会誌, **29**, 37 (1963).
- 4) 堀江 進・佐伯和昭・奈良正人・小嶋秩夫・関根 隆・高柳 健：同上, **29**, 785 (1963).
- 5) 堀江 進・佐伯和昭・小嶋秩夫・奈良正人・関根 隆：同上, **30**, 786 (1964).
- 6) 青木竜身：文献 2) の P. 249.
- 7) 大城俊彦：文献 2) の P. 263-277.
- 8) 北村直次・浅沼喜嗣雄・牛沢 勇・仁科 譲・赤沢政志・加納奎一：岡山県衛生研究所年報, (12), 11 (1962).
- 9) 日本海洋学会 (編)：海洋観測指針, 252 (1955).
- 10) 厚生省：病原性好塩菌食中毒検査要領, 食品衛生研究, **13** (9), 1 (1963).
- 11) 相磯和嘉：化学と生物, **1**, 241 (1963).

SUMMARY

The present survey was undertaken to investigate the distribution of *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO et al. 1951) SAKAZAKI et al. 1963 in the Seto Inland Sea in summer. The survey was carried out aboard the Toyoshio-maru, research vessel of Hiroshima University, in the eastern part of the Sea in September of 1963, and in the western part in September of 1964. The location of sampling stations is shown in Fig. 1 and Table 1.

A selective liquid medium was prepared with 3% NaCl containing arabinose ethyl-violet broth as described by HORIE et al.⁴⁾ and a BTB teepol agar medium was used to detect the bacteria according to the official method¹⁰⁾ of the Japanese Ministry of Health and Welfare.

Biotype 1 organisms (abbreviated I in Tables 2 and 3) of the bacterium, being believed to cause acute gastro-enteritis to man, were found to be widely distributed in Osaka Bay, Harima-nada, Mizushima-nada, and the southern part of Suo-nada as seen in Table 2.

As listed in Table 3, moreover, biotype 1 was isolated at high ratio from sandy sea bottom. Biotype 2 (abbreviated II in the Tables) was isolated from extensive areas of the Sea and irrespective of the depths from the surface. An allied species (abbreviated III in the Tables) was felt to constitute considerable proportions in both sea water and sea bottom.

In so far as this survey was concerned, the distribution of the bacteria had no relation to the values of such oceanographic properties as chlorinity, dissolved oxygen, or temperature.