

山梨県で分離された腸炎ビブリオの血清型 と薬剤感受性 (1971~1985年)

岩下まさ子

金子通治

わが国において腸炎ビブリオ食中毒は毎年高頻度に発生している現況にある。最近の10年間(1975~1984)でも1976年を除けば腸炎ビブリオは常に食中毒原因菌の首位の座にあり、この10年間では3,609件発生して、細菌性食中毒の46.9%を占めている。

山梨県においても過去10年間の腸炎ビブリオ食中毒発生件数は37件で、細菌性食中毒の41.6%を占め¹⁾、全国のそれと酷似している。これは、生の魚介類を喫食するわが国の食習慣によるものである。全国各地で腸炎ビブリオ食中毒予防のための基礎資料作成、すなわち疫学、生態学的調査^{2~6)}がなされている。

そこでわれわれも、1971~1985年の15年間に山梨県で発生した腸炎ビブリオ食中毒事例を中心に、分離された腸炎ビブリオについて、その血清型、神奈川現象すなわち耐熱性溶血毒の産生試験および SA、AB-PC を中心とした薬剤感受性について検討したので報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

1971年から1985年の15年間に山梨県で分離された計337株である。表1に年度別、由来別の分離株数を示した。ヒト由来株は食中毒由来174株、海外渡航者、病院等の下痢症患者から分離された33株の計207株である。また食品由来は食中毒事例の検査等から分離された30

株、および1976年から1983年の8年間、甲府卸売市場での貝類のビブリオ検索を行なった際に分離された100株の計130株である。1検体当たり数株の分離株について血清型別を行ない、同一血清型のみを検出した場合は1株とし、異なった血清型株が同一検体より検出された場合はそれぞれ1株とした。分離株の同定は微生物検査必携⁷⁾によった。

2. 血清型別

O群およびK抗原型別は市販の診断用血清(デンカ生研)を用い常法どおりスライド凝集反応を行なった。K抗原はK1~K71の65種、O抗原はO1~O11の11種である。

3. 神奈川現象

神奈川現象検査培地(日水製薬)に規定どおりヒト赤血球を加えた培地を用いて実施した。一部神奈川現象が不明瞭な菌株については、市販キット(KAP-KIT:デンカ生研)のRPHA反応を実施し比較検討した。

4. 薬剤感受性

市販のトリディスク(栄研化学)を用い、サルファ剤(SA)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、アミノベンジルペニシリン(AB-PC)、ナリジキシン酸(NA)の6種の薬剤に

表1 年度別、由来別の腸炎ビブリオ分離株数

由来	年															計	
	'71	'72	'73	'74	'75	'76	'77	'78	'79	'80	'81	'82	'83	'84	'85		
F P 事例数	2	7	4	6	4		3	4	4	2	6	3	4	12	5	66	
F P	ヒト由来	5	13	9	13	6		14	5	21	2	13	3	13	36	21	174
	食品由来								2	6		2	2	1	2	15	30
貝由来							4	14	9	5	34	17	1	16			100
ヒト由来*	1								3	9	5	1	3	2		9	33
計	6	13	9	13	6	4	28	19	41	41	33	9	32	38	45	337	

F P : 食中毒 * 海外渡航者等由来株

対する感受性試験を行なった。また、SA、AB-PCについては、化学療法学会標準法⁹⁾に準じ寒天平板希釈法によって最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。使用培地はいずれも感受性測定用パイオンおよび寒天培地(日水製薬)である。薬剤濃度はSA(大日本製薬:ドミアンナトリウム)については3,200~3.1 µg/ml, AB-PC(萬有製薬:ペントレックス)は1,600~1.6 µg/mlであり、MIC値がSAでは400 µg/ml以上, AB-PCでは50 µg/ml以上を薬剤耐性菌と判定した。

結果および考察

1. 分離された腸炎ビブリオの血清型

分離された337株のK抗原に基づく血清型別成績を表2に示した。○印は食品由来株を表わし、その他はヒト由来株である。点線間の76年から83年の8年間は貝類のビブリオ検索を行なった期間である。337株のうち98.2%の331株が既知のK1~K71のいずれかに型別でき、51の血清型に分類された。出現血清型は3~27種と年により大きく異なり、たとえば、80年は27種、83年は20種であった。由来別ではヒト由来株は29種の血清型に、食品由来株は39種の血清型に分類され、特に食品由来株は多

種にわたっていた。15年間で最も検出頻度の高い血清型はK8でヒトからのみ40株(11.9%)が分離された。次いでK13, K63もヒト由来株から多く分離された。しかしK28は食品から19株分離されたのに対し、ヒトからは1株しか分離されなかった。K42, K34についても食品から多く分離され、ヒトからの分離例は少なかった。これらの傾向は香西らの報告⁹⁾とも類似している。このようにヒト由来株と食品由来株とでは血清型に特徴があることが明らかとなった。

2. 腸炎ビブリオ食中毒の主要血清型

表3に当所で扱った66事例の腸炎ビブリオ食中毒において分離されたヒト由来174株の年度別主要血清型を示した。検出頻度の最も高かったK8は66事例中17事例(25.8%)を占め、71年、72年に出現し、再び80年以後に多く見られるようになり、84年には7例にもなった。また、K13による事例は4、5年間隔で発生していた。73年、74年に分離されたK7や、73年、75年、78年に分離されたK10による事例は最近は見られないものの、海外渡航者、単発の下痢症患者からは分離されており、注意すべき血清型である。78年に初めて分離されたK63は84年、85年にも分離され、K8に続く流行血清型であり、今後さらに監視の必要がある。食中毒をひき起こす主要血清型は他の報告^{4,9,10)}にもあるように年によって変化がある。

腸炎ビブリオ食中毒分離株の流行血清型に変遷があり特定の期間、特定の血清型によって食中毒が起きている原因はいまだに解明されていない。今後食品の流通過程での菌検索を行なうことで解明の手がかりが得られると考える。

3. 神奈川現象

ヒト由来207株、食品由来130株の計337株について神奈川現象試験を実施した。その結果を表4に示した。ヒト由来株の神奈川現象陽性率は95.2%であり、津野らの報告⁴⁾とほぼ同程度であった。陰性株は約5%認められたが、これは食中毒の主要起因菌以外の株が検査に付随して分離されたものと思われる。食品由来株が陽性であった食中毒報告例^{11,12)}もあるが、われわれが実施した食品由来の130株はすべて神奈川現象陰性であった。一部の菌株で神奈川現象の判定が不明瞭な株についてはRPHA反応により耐熱性溶血毒素産生性試験を併用した。滝沢らの報告¹³⁾にあるように、我妻培地による神奈川現象試験とKAP-KITによるRPHA試験はよく一致し、神奈川現象が不明瞭な株については、感度の高いRPHA法により判定することができた。しかし、非特異反応の点でRPLA法は更に優れた方法であり、現在

表3 腸炎ビブリオ食中毒の主要血清型

年	事例数	血清型(事例数)
1971	2	K8(1), K33(1)
72	7	K4(2), K8(1), K15(1), K39(1), K42(1), K61(1),
73	4	K7(1), K10(1), K33(1), K54(1)
74	6	K7(3), K12(1), K13(1), K15(1)
75	4	K10(3), K11(1),
76	0	
77	3	K12(3)
78	4	K4(1), K10(1), K63(2)
79	4	K13(3), K17(1)
80	2	K8(1), K56(1)
81	6	K6(1), K8(4), K56(1)
82	3	K11(1), K30(1), K38(1)
83	4	K8(1), K13(1), K15(1), K29(1)
84	12	K3(2), K8(7), K39(1), K63(2)
85	5	K8(2), K13(1), K63(2)
計	66	最多事例数はK8であった。

表2 山梨県で分離された腸炎ビブリオの血清型 (1971~1985)

K型	年															計
	1971	'72	'73	'74	'75	'76	'77	'78	'79	'80	'81	'82	'83	'84	'85	
K 1													1			1
3							①							6	2	8 ①
4		8		1				2	1		1①		1	1		15 ①
5						①				①						②
6									2①	1	3④			2		8 ⑤
7				1	4				②	1				2		8 ②
8	2	1		1					1	3	8		2	11	11	40 ①
9									1							1
10			1		3			2							3	9
11					1		1					1				3
12	1			2	1		13				1	2				20
13				4					14	①			2		②	20 ③
15		1		1						①			4			6
17									②	①			①			④
18										①						①
19								1					①			1 ①
20							①	①		①						③
22								①		①	1①	①				1 ④
24								①								①
25										①						①
28							⑤			⑥	④		①		1③	1 ⑩
29							①		1④	②			3②			4 ⑥
30										①	①	①	②			⑤
31						①										①
32							①			①	①		②			⑤
33	3		2				①	①		②	①		①			5 ⑥
34								①		③			②		②	⑧
37						①			①	①	①					④
38								1				1	①			2 ①
39		1						①		①			①	5	1	7 ③
40													①			①
41							①									①
42		1				①	①	④		③	①				②	1 ⑫
45							①			①						②
46										①		①				②
49							①									①
51									①							①
52									①	①						②
53												1			②	1 ②
54									4				1	1	2	8
55			5					1								6
56					1				2	1			1			5
57											①					①
58										1				1①		2 ①
60											①					①
61			1													1
63								2	2		①			6	10	20 ①
64									1	①				①		1 ②
66									②	①			①			④
68								①					①		①	③
69												1		1		2
NT										②	①				③	⑥
計	6	13	9	13	6	④	14④	8①	30①	7②	14⑨	6③	15⑦	36②	30⑤	207 ⑬

○印：食品由来株

表4 ヒト, 食品由来株別の神奈川現象陽性率

由来\年	'71	'72	'73	'74	'75	'76	'77	'78	'79	'80	'81	'82	'83	'84	'85	計 (%)
分離株数	6	13	9	13	6		14	8	30	7	14	6	15	36	30	207
ト 神奈川現象	+ 5	12	8	12	6		13	8	28	6	13	6	15	36	29	197 (95.2)
	- 1	1	1	1	0		1	0	2	1	1	0	0	0	1	10 (4.8)
分離株数						4	14	11	11	34	19	3	17	2	15	130
食品 神奈川現象						0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
						4	14	11	11	34	19	3	17	2	15	130 (100)

はこれを適用している。

4. 薬剤感受性

トリディスクを用いた薬剤感受性分布を由来別に図1, 図2に示した。CP, NA に対してはヒトおよび食品由来株すべてが#の感受性であった。また, TCにも

ほとんど#の感受性を示したが, #もみられヒト由来株で1.9%, 食品由来株で2.3%であった。KMには#がヒト由来株で6.3%に対して食品由来株では1.5%と若干低い傾向にあったが, TCと同様すべての株が#~#の感受性であった。SA に対しては, #~+の感受性を示したものが食品由来株で97.7%, ヒト由来株で96.1%であ

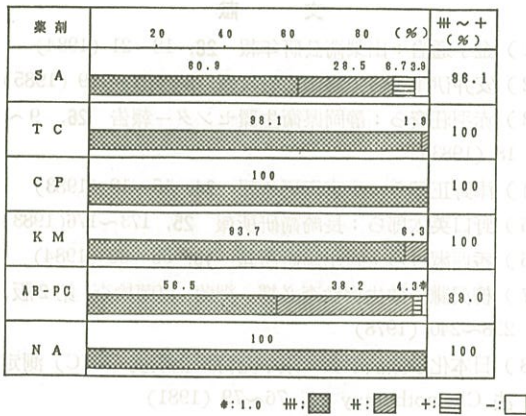


図1 ヒト由来 207 株の薬剤感受性

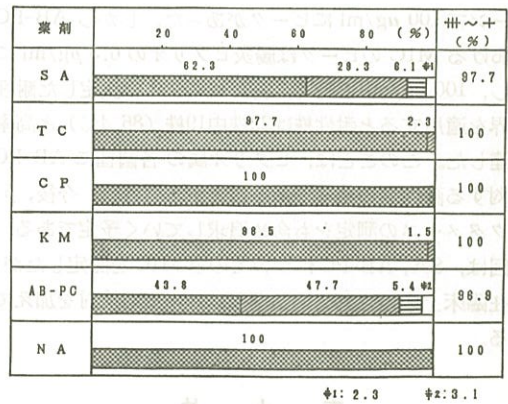


図2 食品由来 130 株の薬剤感受性

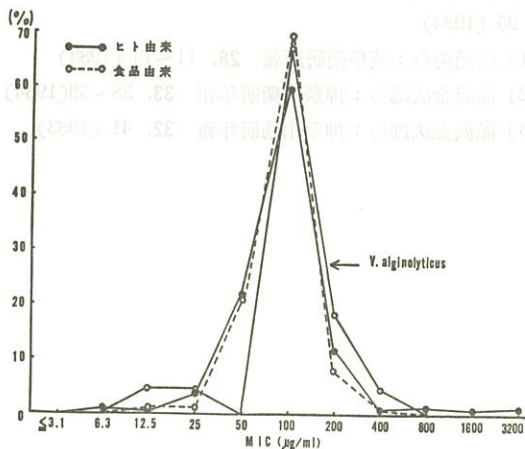


図3 腸炎ビブリオ337株のSAにおけるMIC分布

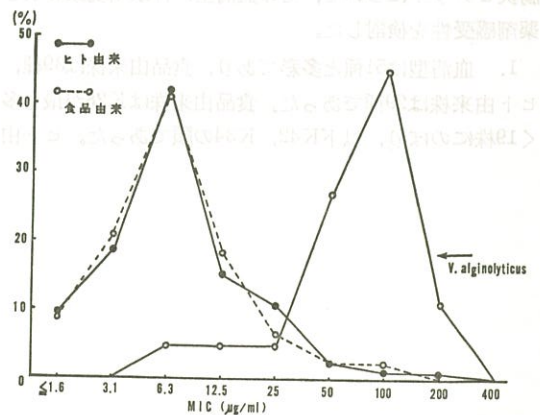


図4 腸炎ビブリオ337株のAB-PCにおけるMIC分布

ったが、耐性株が食品由来で3株(2.3%)、ヒト由来で8株(3.9%)みられた。AB-PCもSAと同様な傾向にあり、食品由来4株(3.1%)ヒト由来2株(1.0%)と若干の耐性株がみられた。いずれの薬剤に対しても由来別では大きな差はみられなかった。

SA, AB-PCについてMICを測定し、分布を図3、図4に示した。横軸にMIC、たて軸にはそのMICを示した分離株が全被験株に占める割合を%で表わした。腸炎ビブリオの分離の際同時に分離された *V. alginolyticus* 22株についてもMICを測定し図に矢印で示し、腸炎ビブリオの分布と比較した。SAのMIC分布はヒト、食品由来とも同様なパターンを示し、MICのピークは100 $\mu\text{g/ml}$ で過半数をこえ、ほとんどの株がMIC値50~200 $\mu\text{g/ml}$ の範囲内であった。ヒト由来4株、食品由来3株の計7株(2.1%)の耐性株がみられた。AB-PCについても由来別にはほとんど差はなく、MICは6.3 $\mu\text{g/ml}$ にピークがあり、耐性株は計14株(4.2%)で内訳は食品由来10株、ヒト由来4株であった。*V. alginolyticus* のSAにおけるMIC分布は腸炎ビブリオと全く同様のパターンで100 $\mu\text{g/ml}$ にピークがあった。しかしAB-PCにおけるMICのピークは腸炎ビブリオの6.3 $\mu\text{g/ml}$ に対し、100 $\mu\text{g/ml}$ と高く、腸炎ビブリオで決定した耐性限界を適用すると耐性株は22株中19株(86.4%)と高率に達した。このことは、ビブリオ属の各菌種にAB-PCに対する耐性度の相違があることが予想され、今後、 β -ラクタメースの測定をも含め追求していく予定である。今回は、SA, AB-PCについてのみMICを測定したが、現在临床上頻用されている薬剤についても検討を加えている。

ま と め

1971年から1985年までの15年間に分離された337株の腸炎ビブリオについて、その血清型、神奈川現象および薬剤感受性を検討した。

1. 血清型は51種と多彩であり、食品由来株は39種、ヒト由来株は29種であった。食品由来株はK28が最も多く19株にのぼり、以下K42, K34の順であった。ヒト由

来株はK8, K63, K4の順であった。ヒト由来株と食品由来株とは異なる血清型を示す株が多かった。

2. 食中毒起因菌の血清型はK8が最も多く66事例中17事例(25.8%)を占め、次いでK63が続いた。年によって流行血清型が変化する傾向がみられた。

3. 神奈川現象は、ヒト由来株で95.2%の陽性率であった。食品由来株では陽性株はみられなかった。

4. トリディスクを用いた薬剤感受性試験では、TC, CP, KM および NA にはすべて感受性であった。しかしSA, AB-PCについては、若干の耐性株がみられた。SA, AB-PCについてMICの分布では、SAに2.1%, AB-PCに4.1%の耐性株がみられた。

本稿の要旨は第19回腸炎ビブリオシンポジウム(1985. 12, 箱根)において発表した。

本研究は、昭和60年度厚生科学研究費補助金による、「病原ビブリオによる感染症調査」の一環として実施した。

文 献

- 1) 金子通治：山梨衛公研年報 28, 18~21 (1984)
- 2) 安井伊津子ら：富山衛研年報 8, 181~189 (1985)
- 3) 赤羽荘資ら：静岡県衛生環センター報告 26, 9~18 (1983)
- 4) 津野正朗ら：東京衛研年報 34, 15~19 (1983)
- 5) 野口英太郎ら：長崎衛研所報 25, 173~176(1983)
- 6) 香西淑行ら：香川衛研所報 13, 58~66 (1984)
- 7) 柳沢謙：微生物検査必携 細菌, 真菌検査, 第2版, 228~240 (1978)
- 8) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法 Chemotherapy 29, 76~79 (1981)
- 9) 山本安純ら：奈良衛研年報 16, 118~121 (1981)
- 10) 赤羽荘資ら：静岡県衛生環センター報告 27, 89~95 (1984)
- 11) 所光男ら：岐阜衛研所報 28, 11~13 (1983)
- 12) 滝沢金次郎ら：神奈川衛研年報 33, 38~39(1984)
- 13) 滝沢金次郎ら：神奈川衛研年報 32, 41 (1983)

