

沖縄県における腸炎ビブリオの生態学的調査研究 II. (安謝川及びその河口海域における腸炎ビブリオの分離状況)

微生物室 仲宗根民男
徳村 勝昌
水質室 下地 邦輝
琉大医 岩永 正明

Ecological Study of *Vibrio parahaemolyticus* in Okinawa prefecture II. (Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from the Aja River and its Estuary.)

Tamio NAKASONE
Katsumasa TOKUMURA
Kuniki SHIMOJI
Masaaki IWANAGA

I. はじめに

安謝川は2級河川で全長約4.8km、幅約20m(最大)、その流域面積は約8.2km²、1日平均約2万トンの流入量があり、那覇市と浦添市の境界を流れる沖縄県内では有数の都市型河川である。ところが流域周辺の近代化と共にその様相は大きく変化し、今日では上流から下流に至っては流域からの生活排水や産業排水に加え諸廃棄物の流入があり、その機能を大巾に低下させている。中流から下流にかけてはチリ・アクタや多量のヘドロが堆積している。また、満潮時には河口から1~2km上流まで海水が入って来るため、いわゆる感潮河川域を形成し、そこには生物相が単純で汚れに強い一部の種が大量に分布する特徴的な生態系を示している。

ビブリオ属の中でも特に腸炎ビブリオ(以下、腸ビと略する)は細菌性食中毒を引き起す重要な菌であるにも拘らず、本県においてはあまりその分布状況は知られていないし、本菌による細菌性食中毒発件数、および散発例としての急性下痢症の患者数も他の都道府県に比較して著しく少ない^{1,2,3)}。

そこで著者らは環境中の感潮河川域における腸ビ菌の分布状況を把握するため安謝川およびその河口海域における本菌の分離を試み、また併せて各種汚染指標および塩分濃度との関連性を考察したのでその結果を報告する。

II. 材料および方法

1. 検査材料

昭和60年1月から12月まで年間を通して安謝川に4か所の定点を設け、河川水および河口海水を採取した。また、7月には水質室の調査船『こんべきII』に乗り、安謝川の中央部および河口海域の約100mおきに34か所の定点を設定し、河川水および河口海水を採取し、それらを検体とした(図一)。

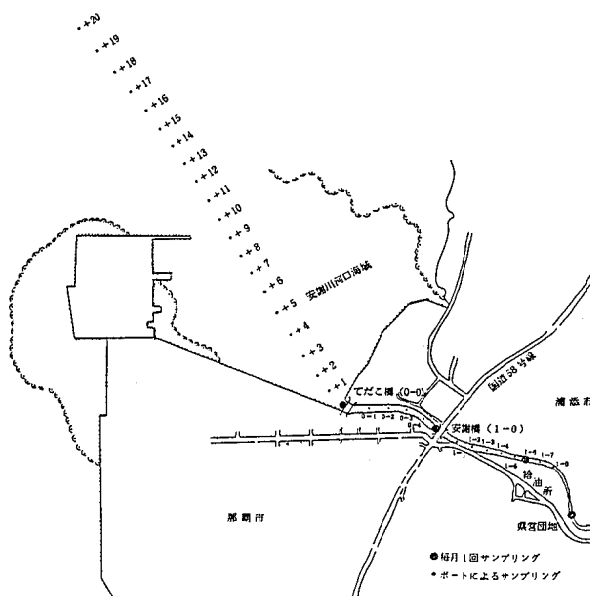


図1 安謝川およびその河口海域における採水場所

2. 腸炎ビブリオの検査方法

検体は滅菌採水ビンに約200mlを採取し、水温を測定した後、冷蔵することなく検査室に持ち帰った。各検体は TCBS 寒天平板培地（栄研）によって定量培養を行ない白糖分解菌・非分解菌の菌数測定後、2倍濃度の2% NaCl加コリスチンブイヨン（栄研）で増菌培養を行なった。

3. 腸炎ビブリオの同定

腸ビ菌の疑わしい白糖非分解菌の集落を各検体より10~12個程度釣菌し、それぞれ1.5% NaCl加普通寒天培地（栄研）に移植し、その後、一般に行われている細菌学的検査方法に基づいて同定を実施した。最終的に生物学的諸性状が腸ビ菌と一致した菌株は腸ビ診断用免疫血清（デンカ生研）を用いて、K型別およびO群別を決定し、また神奈川現象試験については我妻培地（栄研）にヒト洗浄血球液を10%になるように加えた血液寒天培地を作製して実施した（図-2）。

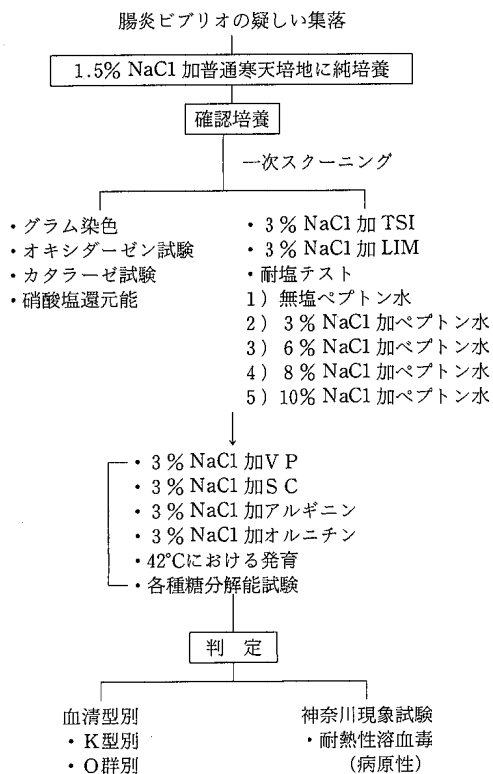


図-2. 腸炎ビブリオの同定方法

4. 各種汚染指標の測定方法

DO（溶存酸素量）、COD（化学的酸素要求量）は下水試験法および衛生試験法注解に従い、滴定

法により測定した。Coli form（大腸菌群数）については滅菌採水ビンに約100mlを採取後、冷蔵して検査室に持ち帰り、デソオキシコレート寒天培地（栄研）による混釈培養法によって実施した。

5. 塩素イオンの測定方法

各検体の塩素量の測定は標準海水によるモールの銀滴定法を用いて行った。

III. 調査結果

安謝川およびその河口海域における腸ビ菌の分離状況を表-1に示した。安謝川河口（てだこ橋付近）では腸ビ菌が年間を通して分離され、その生息が確認された。安謝橋下の河川水については3月、4月、5月、8月および10月、11月の各月に腸ビ菌が分離された。給油所後方の河川水からは6月と8月に分離されたが、県営団地後方の河川水からは腸ビ菌は分離されなかった。

表-1 安謝川およびその河口海域における腸炎ビブリオの分離状況（昭和60年1月~12月）

月	安謝川河口	安謝橋下	給油所後	団地後
1月	◎	—	—	—
2月	◎	—	—	—
3月	◎	◎	—	—
4月	◎	◎	—	—
5月	◎	◎	—	—
6月	◎	—	◎	—
7月	◎	—	—	—
8月	◎	◎	◎	—
9月	◎	—	—	—
10月	◎	◎	—	—
11月	◎	◎	—	—
12月	◎	—	—	—

注1 ◎印は腸炎ビブリオ菌を検出

注2 —印は腸炎ビブリオ菌を不検出

満潮時の安謝川および河口海域における腸ビ菌の分離状況を表-2に示した。水温はST1-5で最も高く35.5°Cであった。河口を下るに従って水温は低下していったが、ST+4付近からは28.5°Cと安定していた。定量培養に関しては、白糖非分解菌はST1-1で最も高く120個（1mlにつき）であり、白糖分解菌はST1-4で最も高く680個（1mlにつき）であった。増菌培養に関しては、非分解・分解菌共に10⁴~10⁵/mlであった。傾向として比較

表一 安謝川およびその河口海域の各サンプリングポイントにおける腸炎ビブリオの分離状況(河川水・海水)

場所	水温	定量培養		増菌培養		血清型
		Green	Yellow	Green	Yellow	
ST 1-8	33.0°C	<10	<10	<10	<10	—
ST 1-7	32.5°C	<10	<10	<10	50×10 ⁴ /ml	—
ST 1-6	32.5°C	<10	120/ml	<10	31×10 ⁴ /ml	—
ST 1-5	35.5°C	30/ml	480/ml	90×10 ⁴ /ml	54×10 ⁵ /ml	O1: K33
ST 1-4	35.0°C	80/ml	680/ml	19×10 ⁴ /ml	56×10 ⁵ /ml	—
ST 1-3	34.5°C	20/ml	320/ml	21×10 ⁴ /ml	42×10 ⁴ /ml	—
ST 1-2	35.0°C	100/ml	130/ml	16×10 ⁵ /ml	20×10 ⁵ /ml	O1: K32
ST 1-1	33.0°C	120/ml	320/ml	17×10 ⁵ /ml	12×10 ⁵ /ml	—
ST 1-0	32.0°C	60/ml	250/ml	25×10 ⁴ /ml	25×10 ⁵ /ml	—
ST 0-4	31.5°C	40/ml	150/ml	19×10 ⁵ /ml	24×10 ⁵ /ml	—
ST 0-3	31.0°C	50/ml	460/ml	17×10 ⁴ /ml	13×10 ⁵ /ml	—
ST 0-2	31.0°C	40/ml	90/ml	24×10 ⁴ /ml	45×10 ⁴ /ml	—
ST 0-1	30.5°C	70/ml	160/ml	22×10 ⁴ /ml	12×10 ⁵ /ml	—
ST 0-0	30.0°C	10/ml	40/ml	21×10 ⁵ /ml	17×10 ⁵ /ml	O5: K47
ST+1	29.5°C	20/ml	650/ml	38×10 ⁵ /ml	15×10 ⁵ /ml	O3: K5
ST+2	29.0°C	<10	170/ml	35×10 ⁴ /ml	26×10 ⁵ /ml	—
ST+3	29.0°C	<10	60/ml	15×10 ⁴ /ml	30×10 ⁴ /ml	—
ST+4	28.5°C	<10	30/ml	28×10 ⁴ /ml	50×10 ⁴ /ml	—
ST+5	28.5°C	<10	<10	23×10 ⁴ /ml	24×10 ⁴ /ml	—
ST+6	28.5°C	<10	<10	12×10 ⁴ /ml	17×10 ⁴ /ml	—

注 一印は腸炎ビブリオ菌不検出

的菌量は分解菌の方が多かった。分離された腸ビ菌の血清型は ST 1-5 で O1: K33、ST 1-2 で O1: K32 であった。ST 0-0 (てだこ橋) で O5: K47、ST+1 で O3: K5 であった。

表一 安謝川およびその河口海域の各サンプリングポイントにおける腸炎ビブリオの分離状況(河口海水)

場所	水温	定量培養		増菌培養		血清型
		Green	Yellow	Green	Yellow	
ST 0-1	31.0°C	120/ml	730/ml	28×10 ⁵ /ml	16×10 ⁵ /ml	O8: K22 O1: K32
ST 0-0	30.5°C	140/ml	110/ml	37×10 ⁴ /ml	17×10 ⁴ /ml	O7: K19 O1: K32
ST+1	30.0°C	<10	50/ml	10×10 ⁵ /ml	72×10 ⁵ /ml	—
ST+2	29.7°C	<10	60/ml	12×10 ⁵ /ml	65×10 ⁵ /ml	—
ST+3	29.0°C	<10	20/ml	10×10 ⁵ /ml	27×10 ⁵ /ml	—
ST+4	29.0°C	<10	10/ml	78×10 ⁴ /ml	12×10 ⁵ /ml	—
ST+5	28.5°C	<10	10/ml	12×10 ⁴ /ml	78×10 ⁵ /ml	—
ST+6	28.5°C	<10	40/ml	36×10 ⁴ /ml	55×10 ⁴ /ml	O1: K32
ST+7	28.5°C	<10	10/ml	50×10 ⁴ /ml	25×10 ⁴ /ml	—
ST+8	28.5°C	<10	<10	58×10 ⁴ /ml	12×10 ⁴ /ml	—
ST+9	28.5°C	<10	20/ml	70×10 ⁴ /ml	14×10 ⁴ /ml	—
ST+10	28.5°C	<10	50/ml	45×10 ⁵ /ml	11×10 ⁵ /ml	—
ST+11	28.5°C	<10	50/ml	80×10 ⁵ /ml	12×10 ⁵ /ml	—
ST+12	28.5°C	<10	<10	57×10 ⁴ /ml	20×10 ⁴ /ml	O7: K19
ST+13	28.5°C	<10	30/ml	95×10 ⁴ /ml	14×10 ⁴ /ml	—
ST+14	28.5°C	<10	10/ml	14×10 ⁴ /ml	13×10 ⁴ /ml	—
ST+15	28.5°C	<10	<10	66×10 ⁴ /ml	43×10 ⁴ /ml	—
ST+16	28.5°C	<10	<10	25×10 ⁴ /ml	10×10 ⁴ /ml	—
ST+17	28.5°C	<10	<10	24×10 ⁴ /ml	95×10 ⁴ /ml	O5: K17
ST+18	28.5°C	<10	<10	47×10 ⁴ /ml	96×10 ⁴ /ml	—
ST+19	28.5°C	<10	<10	48×10 ⁴ /ml	23×10 ⁴ /ml	—
ST+20	28.5°C	<10	<10	32×10 ⁴ /ml	25×10 ⁴ /ml	—

注 一印は腸炎ビブリオ菌不検出

干潮時に同様な調査を行った結果を表一 3 に示した。水温は河口海域に行くに従い低下し、ST+

5 付近から 28.5°C になりその後、安定していた。定量培養については ST+1 以降からは非分解菌は検出されなかった。また、白糖分解菌は比較的多く ST+14 付近まで検出された。増菌培養を実施したところ、非分解菌・分解菌共に 10³~10⁵/ml の菌量であった。腸ビ菌は ST 0-1 で O8: K22、O1: K32 の 2 株、ST 0-0 (てだこ橋) では O7: K19、O1: K32 の 2 株がそれぞれの場所で分離され、また ST+6、ST+12、ST+17 で O1: K32、O7: K19、O5: K17 の腸ビ菌がそれぞれ分離された。これらの事より安謝川においては安謝橋付近の河川水から、てだこ橋およびその河口海域において腸ビ菌が生息していることが伺えた。

表一 安謝川およびその河口海域の各サンプリングポイントにおける各種汚染指標と塩分濃度(満潮時)

場所	DO	COD	昭和60年7月7日	
			塩分濃度	大腸菌群数
ST 1-8	0.35	7.83	0.24	11×10 ⁴ /ml
ST 1-7	0.50	6.46	0.72	12×10 ⁴ /ml
ST 1-6	0.55	5.65	1.93	20×10 ⁴ /ml
ST 1-5	3.50	9.85	6.09	21×10 ⁵ /ml
ST 1-4	2.17	10.10	8.79	30×10 ⁵ /ml
ST 1-3	4.20	8.24	10.03	13×10 ⁵ /ml
ST 1-2	4.05	4.36	12.45	260/ml
ST 1-1	4.60	2.74	15.85	80/ml
ST 1-0	5.85	1.37	18.68	30/ml
ST 0-4	6.90	0.96	18.82	75/ml
ST 0-3	7.30	0.96	18.89	37/ml
ST 0-2	7.05	0.80	18.89	41/ml
ST 0-1	6.65	0.64	19.13	48/ml
ST 0-0	7.05	0.48	19.10	33/ml
ST+1	6.60	0.72	18.96	<10
ST+2	6.69	0.56	19.10	<10
ST+3	6.69	0.64	19.10	<10
ST+4	6.70	0.16	19.13	<10
ST+5	6.70	0	19.24	<10
ST+6	6.70	0	19.13	<10

注 1 DO=mg/l 注 2 COD=mg/l 注 3 塩分濃度=%

各サンプリングポイントにおける各種汚染指標と塩分濃度との関係については表一 4、5 に示した。満潮時と干潮時によって同一場所の各種汚染指標はかなり異なっているが、総じて ST 1-8 から ST 0-0 (てだこ橋) 付近までは著しく汚染されていることが分った。DO、COD に関しては満潮時と干潮時で大きな差が認められた。塩分濃度は ST+1 付近から 19.00±0.42% と比較的安定してい

表-5 安謝川およびその河口海域の各サンプリングポイントにおける各種汚染指標と塩分濃度 (干潮時)

場所	DO	COD	塩分濃度	大腸菌群数
ST 0-1	0.70	2.50	15.36	12×10 ² /ml
ST 0-0	0.40	2.26	15.78	800/ml
ST+1	1.55	0.72	18.58	15/ml
ST+2	3.60	0.56	18.58	<10
ST+3	5.45	0.64	18.93	<10
ST+4	6.55	0.16	19.03	<10
ST+5	7.00	0	19.03	<10
ST+6	6.55	0	19.03	<10
ST+7	6.35	0	☆	<10
ST+8	6.50	0	19.03	<10
ST+9	6.65	0	☆	<10
ST+10	6.65	0	19.10	<10
ST+11	6.65	0	19.10	<10
ST+12	☆	0	☆	<10
ST+13	6.65	0	19.06	<10
ST+14	☆	0	☆	<10
ST+15	6.65	0	19.03	<10
ST+16	☆	0	☆	<10
ST+17	6.65	0	19.03	<10
ST+18	☆	0	☆	<10
ST+19	6.65	0	19.03	<10
ST+20	☆	0	☆	<10

注1 DO=mg/ℓ
 注2 COD=mg/ℓ
 注3 塩分濃度=%。
 注5 ☆印は測定せず

た。また、ST+6付近から19.10±0.03%とほとんど同一であった。大腸菌群数についてはST+1以降の場所からは検出することは出来なかった。

各種汚染指標および塩分濃度と腸ビ菌の分離状況についての関連性を図-3、4に示した。腸ビ菌に関しては中流から下流、および河口海域にかけて良く分離された。ST 1-5、ST 1-2などは塩分濃度が低い場所であるにも拘らず腸ビ菌が分離された。大腸菌群の検出ができなかったST+6、ST+11、ST+17の各ポイントにおいては、腸ビ菌も直接培養によって分離することは出来なかったが、増菌培養を実施する事によって分離された。特にST 0-0(てだこ橋)付近では両日に亘って腸ビ菌が分離された。

尚、今回分離された腸ビ菌について神奈川現象試験を実施したところ全て陰性であった。

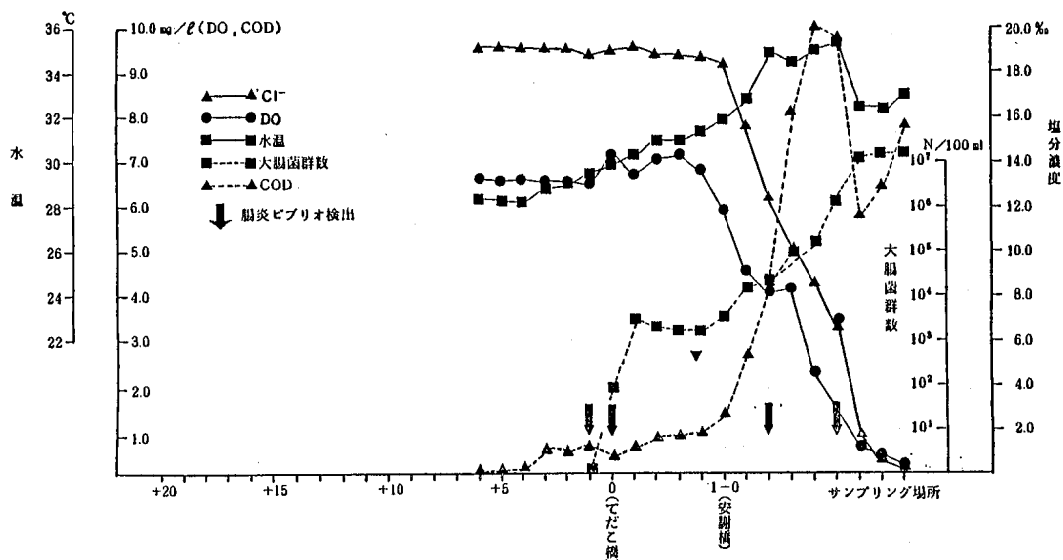


図-3 各種汚染指標および塩分濃度と腸炎ビブリオの関連性 (満潮時)

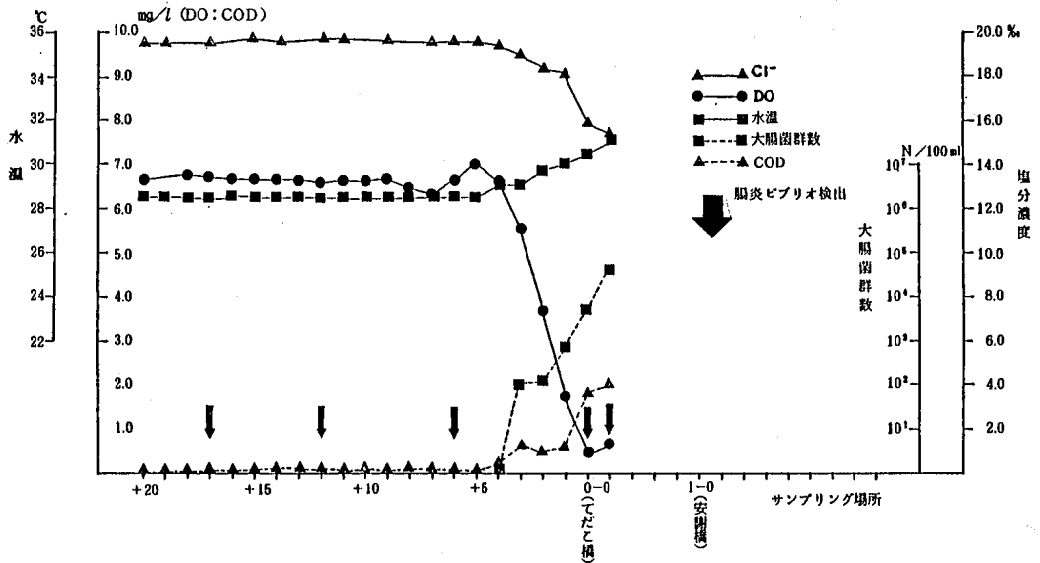


図-4 各種汚染指標および塩分濃度と腸炎ビブリオの関連性（干潮時）

IV. 考 察

安謝川は人口30万の那覇市と8万の浦添市の境界を流れる2級都市型河川で、今日では多量のチリ・アクタやヘドロが堆積しその浄化問題が大きくクローズアップされている。多くの関係者が努力し、また協力し合っているところであり、護岸工事なども進み、遠からず浄化問題も解決されるものと期待されている。

ビブリオ属の細菌はエロモナス属、プレジオモナス属などと共にビブリオ科 (Family vibriaceae) を構成しており、このような感潮河川、海水域における主要な従属栄養細菌の一つで、有機物の分解菌として大きな役割を果たしている^{4,5)}。特にその中でも腸ビ菌は細菌性食中毒を引き起こす重要な菌であり、サルモネラや赤痢などがヒトおよび動物の腸管に生息する下痢起因菌であるのに対し、その生息域は自然環境(海水由来)であることにより際だった特徴を示している。

このような観点から著者らは、本県における河川および河口海域の腸ビ菌の生息状況を把握するために、昭和60年の1年間、安謝川に4か所の定点を設定し腸ビ菌の分離を行ったところ、河口域(てだこ橋付近)においては、年間を通して腸ビ菌が分離され、また安謝橋下の河川水からも本菌が分離された。このことは本県においてもこのような河口域および河口海域には腸ビ菌が普遍的に

生息しているという可能性を示唆する重要な知見と思われる。7月7日(満潮時)、8日(干潮時)の両日に亘ってエンジン付のグラスボートを安謝川に浮かべ、満潮時にはできるだけ河川をさか昇り約100mおきに河川水および河口海水を採取して、各種汚染指標および塩分濃度と腸ビ菌の分離状況との関連性について検討したところ、ST 1-6から河口のST+4付近までは各種汚染指標による有機物質の存在を確認し、また、腸ビ菌の生存に必要な塩分濃度も適度に存在しているため、腸ビ菌の絶好の生息域であることが分った。篠田らは太田川河口域において、腸ビ菌がその増殖至適塩分濃度(20~30%)よりも遙かに低い塩分濃度(5%以下)でも検出されたと報告しているが、今回の調査でも、ST 1-5のような塩分濃度が低い場所で分離されたことは、この事実を裏付けるものであると思われる。また同時に沿岸海域とこのような感潮河川域を比較した場合、感潮河川域の塩分濃度は低い、リン酸塩や窒素塩などの栄養塩類が多いために沿岸海域よりむしろ腸ビ菌数が高いことも報告しているが、ST+5以下の場所は各種汚染指標による有機物質もほとんど存在せず、また塩分濃度も比較的安定しているため沿岸海域であると言えるが、この場合はむしろ感潮河川域の一部であると考えた方が良いのかもしれない。自然環境中(海水)においては栄養素(有

機物質)の絶対量が少なく食塩濃度よりも、むしろ栄養素が腸ビ菌にとっては増殖の制限因子となることが考えられているので^{7,8)}、本県のように周匝を全て海に囲まれ、年間を通して海水温度が15°Cを下ることのない亜熱帯地方においては、海水中における栄養素の含有量が腸ビ菌の生息に極めて重要な要因となる可能性が示唆される。このような事実は山田⁹⁾らも水質の悪い海域から腸ビ菌が検出され易いことを報告しているし、また仲宗根らの行なった沿岸海域の調査(私信)でも指摘されている。

安謝川のような感潮河川域およびその河口海域には腸ビ菌が常に生息すると言う事実は、河川の水質汚濁が河口海域および沿岸海域の汚染に結び付く可能性を示唆し、腸ビ菌の生息条件と密接に関連性のあることが思慮される。従って、今後環境中における腸ビ菌の生息状況を論ずる場合には、河口域や河口海域等の陸上からの影響を受け易い海域とそうでない海域とを分けて考慮する必要があることを痛感させられる。

V. まとめ

安謝川およびその河口海域における腸ビ菌の分離を試み、併せて各種汚染指標や塩分濃度との関連性について検討したところ、次のような結果を得た。

1. 昭和60年の1年間、安謝川に4か所の定点を設け腸ビ菌の分離を行ったところ、河口域(てだこ橋)においては腸ビ菌が普遍的に生息していることを確認した。

2. その中流から河口海域にかけて各種汚染指標により有機物質の存在を認め、併せて腸ビ菌の

生存に必要な塩分濃度も適度に存在しているため、絶好の生息域であることが分かった。

3. 本県は日本々土では見られない亜熱帯気候下にあり唯一の海洋県であることによって、年間を通して海水温度が15°Cを下ることがなく、従って、海水中の栄養素(有機物質)の含有量が腸ビ菌の生息に重要な要因となる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 厚生省環境衛生局食品衛生課編,“全国食中毒事件録(昭和46年~58年)”。
- 2) 厚生省大臣官房総計情報部編,“食中毒統計(昭和52年~57年)”。
- 3) 沖縄県環境保健部環境衛生課,“沖縄県食中毒発生状況(昭和46年~60年)”。
- 4) 清水 潮,“海洋の生態系と微生物”,日本水産学会編,恒星社厚生閣,東京, P 50~60 (1975)。
- 5) 林 則博、橋本秀夫他,日細菌, 38;583 (1983)。
- 6) 篠田純男,“河口域における汚染指標菌および下痢起因性ビブリオの分布”環境科学研究報告書, B261-R12-11, P50~55 (1985)。
- 7) 小原 寧,“微生物の生態, 5”,東京, P 175~196 (1978)。
- 8) 今野二郎、我妻正三,“微生物の生態, 5”,微生物生態研究会編,学会出版センター,東京, P 165~176 (1978)。
- 9) 山田光一他,“沖縄における腸炎ビブリオの分布調査”,第10回沖縄県衛生監視員研究発表記録集, P 15~19 (1979)。