

沖縄県における腸炎ビブリオの生態学的調査研究

IV. 河口域における腸炎ビブリオの分離状況

仲宗根民男・徳村勝昌・下地邦輝・岩永正明¹⁾

Ecological Studies of *Vibrio parahaemolyticus* in Okinawa Prefecture

IV. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from Estuary

Tamio NAKASONE, Katsumasa TOKUMURA, Kuniki SHIMOJI and Masaaki IWANAGA¹⁾

1) Department of Bacteriology, School of Medicine, University of the Ryukyus

I はじめに

沖縄県における細菌性食中毒の発生件数の中で腸炎ビブリオ（以下、腸菌と略する）の占める割合が全国のそれと比較して著しく少なく、また発例としての下痢症患者の発生も少ない^{1,2)}。腸菌はいわゆる marine bacteria であり、海の環境に常在する菌で海水温度の高い夏期には世界多くの地域の沿岸海水、感潮河川域、魚介類等から高頻度に検出されている^{3,4,5)}。そこで環境調査の一環として、沖縄本島の主要河川の河口域における腸菌の分離状況について DO、COD、BOD、大腸菌群数などの各種水質汚濁指標や塩

分濃度との関連性を知るために調査したので報告する。

II. 材料および方法

1. 調査期間および検査材料

昭和61年10月から昭和62年2月までの約5か月に渡って、随時沖縄本島の各河川（70箇所）の河口域の河川水（図1,2）の採取を行い、また昭和62年3月12日に国場川の河口域（明治橋下）から上流にかけての河川水（30箇所）をそれぞれ採取し、採水時に水温を測定した後、それらを検査材料とした。

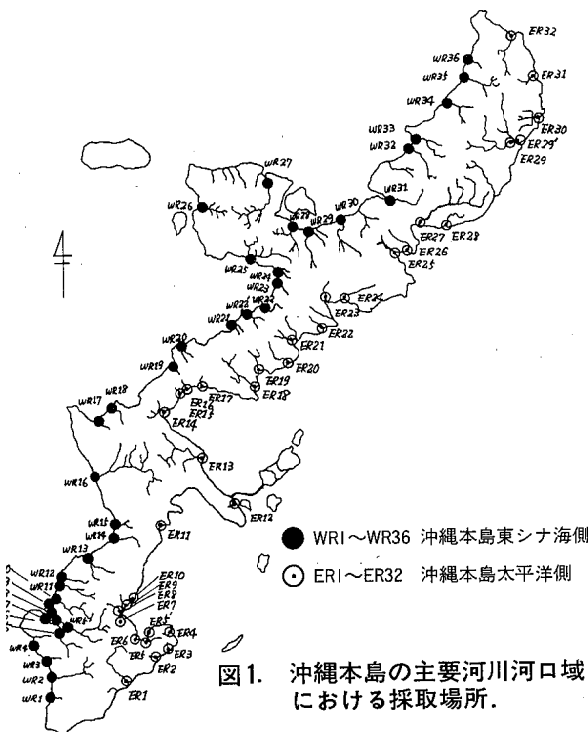


図1. 沖縄本島の主要河川河口域における採取場所。

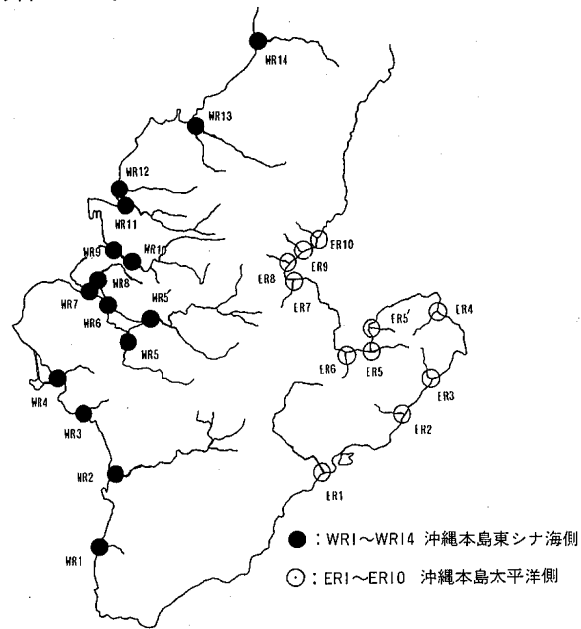


図2. 沖縄本島南部地区の主要河川河口域における採取場所。

2. 検査方法

- a) 各種水質汚濁指標の測定：D O、C O D、B O Dは下水試験法及び衛生試験法注解に従って滴定法により測定した。大腸菌群数については滅菌採水ビンに約100ml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検査した。
- b) 塩分濃度の測定：各検体の塩分濃度は標準海水によるモールの銀滴定法を用いた。
- c) 腸炎ピブリオの検査方法：各検査材料は滅菌採水ビンに約200mlを採取し、冷蔵することなく検査室に持ち帰った。TCBS 寒天培地（栄研）による直接培養を行なうと同時に、2倍濃度の2%食塩加コリスチンブイオン（栄研）と検体を等量に混ぜることによる増菌培養を併用した（図3）。

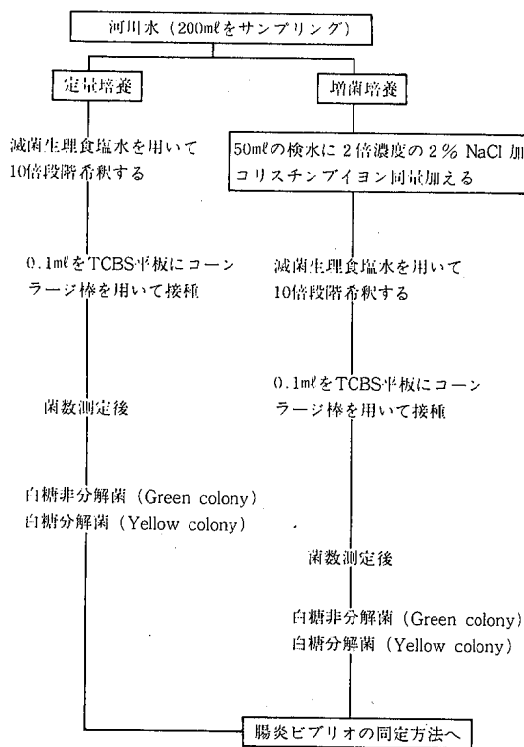


図3. 河川水における腸炎ピブリオの検査方法。

- d) 腸炎ピブリオの同定：腸菌の疑わしい白糖非分解の緑色集落（径2.0mm程度）菌を各平板より10~12個程度釣菌して、それぞれ1.5%食塩加普通寒天培地（純培養）に移植し、その後一般に行なわれている細菌学的検査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ピ菌と一致した菌株については腸ピ診断用免疫血清（デンカ生研）を用いてK型別及びO群別を決定した（図4）。
- e) 神奈川現象試験について：夫妻培地（栄研）にヒト及びウマの血球浮遊液を定法通り調整し、それぞれを10%の割合になるように加えた血液寒天培地を作成して実施した。

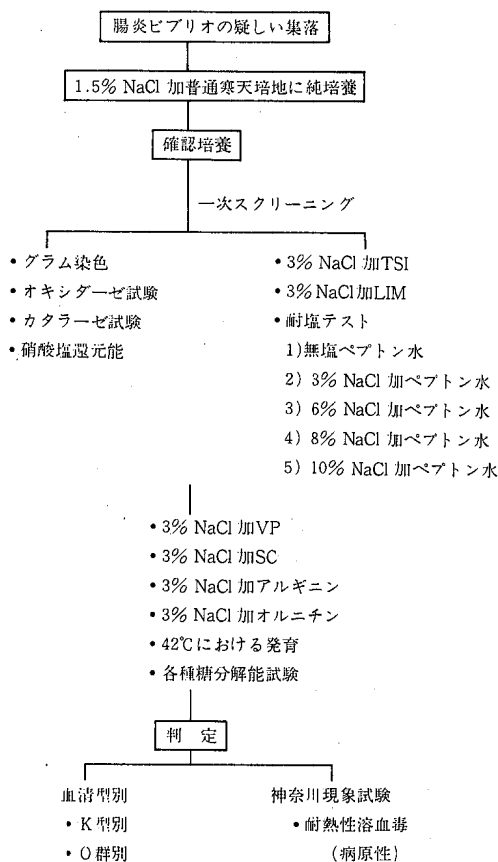


図4. 腸炎ピブリオの同定方法。

Ⅲ 結果

沖縄本島沿岸の東シナ海側河川 (38箇所) の河

口域の各種水質汚濁指標と塩分濃度及び腸ビ菌の分離状況を表1に示した。

表1. 沖縄本島河川河口域の水質汚濁と腸炎ビブリオの分離状況。

(昭和61年10月～62年2月 沖縄本島沿岸の東シナ海側)

検体番号	採水場所名 (河川名)	水温	DO	塩素濃度	COD (OH)	COD (acid)	BOD	大腸菌群数 (cfu/ml)	腸炎ビブリオ*
WR-1	真栄里海岸	27.0℃	10.7	1.67	0.2	1.8	☆	4.6×10	—
WR-2	報徳川 (川尻橋)	26.5℃	4.4	14.78	2.1	5.0	☆	2	04:K42
WR-3	保栄茂川	29.5℃	1.5	7.40	7.4	14.2	☆	1.5×10 ³	—
WR-4	具志川 (海中道路)	27.0℃	6.5	18.99	1.3	3.7	☆	0	—
WR-5	饒波川 (石火矢橋)	24.0℃	2.0	1.80	9.6	18.8	31.3	2.9×10 ⁴	—
WR-5'	国場川 (真玉橋)	23.0℃	0	10.75	7.2	14.5	16.0	2.2×10 ⁴	02:K3,01:K33
WR-6	国場川 (那覇大橋)	23.5℃	0.8	14.16	5.3	11.0	7.0	1.3×10 ²	02:K3,04:K47
WR-7	国場川 (明治橋)	27.5℃	5.1	17.64	1.2	3.5	☆	0	04:K37
WR-8	久茂地川 (旭橋)	23.0℃	2.2	17.70	1.8	4.6	2.0	2.0×10	—
WR-9	潮渡橋 (夫婦橋)	22.5℃	0.2	15.19	3.2	7.1	8.0	9.0×10 ²	03:K29
WR-10	安里川 (泊高橋)	22.5℃	1.2	12.43	4.1	8.8	11.0	4.6×10 ³	05:K17
WR-11	安謝川 (安謝橋)	27.0℃	3.4	13.71	2.3	5.4	☆	6.0×10	01:K33,04:K34
WR-12	小湾川	23.0℃	4.8	4.44	6.4	13.0	12.0	7.0×10 ⁴	—
WR-13	牧港・宇地泊川	28.0℃	3.6	13.71	1.7	5.2	2.3	2.4×10 ²	—
WR-14	普天間川	29.0℃	18.2	2.83	2.4	6.5	1.4	1.4×10 ³	—
WR-15	白比川	29.0℃	3.3	5.28	3.2	7.5	4.1	2.7×10 ²	—
WR-16	比謝川 (水釜港)	28.5℃	4.6	14.10	0.2	1.7	0.8	0	—
WR-17	長浜川	30.0℃	10.5	3.03	1.3	3.7	☆	5.0×10 ²	01:K33
WR-18	垂川	30.0℃	6.0	0.26	2.0	4.9	☆	1.0×10 ²	—
WR-19	屋嘉川	30.0℃	5.9	4.76	1.8	4.5	☆	2.0×10 ²	—
WR-20	新川	29.5℃	5.2	17.45	0.5	2.3	☆	3	—
WR-21	仲間川	29.5℃	6.9	18.09	0.5	2.3	☆	2.3×10	04:K29
WR-22	真謝川	29.5℃	6.8	18.86	0.3	2.5	1.0	0	04:K34
WR-22'	福地川 (名護)	29.5℃	7.7	18.99	0.5	2.3	☆	0	—
WR-23	世富慶川	26.5℃	7.8	13.07	1.4	3.8	☆	1.9×10	—
WR-24	幸地川	26.5℃	4.3	10.88	1.1	3.2	2.0	2.3×10 ³	—
WR-25	屋部川	26.5℃	4.7	11.59	1.8	4.5	☆	1.9×10 ²	—
WR-26	満名川	26.5℃	6.0	17.10	0.3	1.9	0.5	3	—
WR-27	大井川	25.0℃	7.4	1.29	1.5	4.0	☆	2.1×10 ³	—
WR-28	我部祖河川	25.5℃	6.3	9.40	2.3	4.4	2.0	2.0×10	05:K15
WR-29	羽地川	25.5℃	1.1	9.14	6.4	12.5	13.2	1.9×10 ²	01:K33
WR-30	源河川	25.5℃	6.7	15.58	0.8	1.9	0.4	7	—
WR-31	大保川	25.5℃	7.3	12.81	0.5	2.3	☆	2	03:K51
WR-32	田嘉里川	25.5℃	6.2	12.61	0.5	2.3	☆	3.8×10	—
WR-33	比地川	24.5℃	8.1	0.32	0.7	2.6	☆	4.0×10	—
WR-34	与根川	27.0℃	10.1	0.39	0.4	1.9	0	1.4×10 ²	—
WR-35	辺野喜川	27.0℃	7.2	6.57	0.3	1.9	0	4.0×10	—
WR-36	座津武川	24.0℃	9.0	0.13	0.6	1.5	0	2	—

*検出はコリスチンブイコン (栄研) による増菌法を用いて行った。

DO, COD, BODの単位はmg/l、塩素濃度は%である。

☆検査を実施せず。

各検体の水温は秋季から冬季における検体採取にも拘らず平均 $26.5 \pm 2.4^\circ\text{C}$ を示した。腸ビ菌の分離された箇所は38箇所中、13箇所(分離率34.2%)計16株であった。特に、WR-13(牧港・宇地泊川)以南について見ると13箇所中7箇所(53.8%)で分離され、またDO、COD・BOD及び大腸菌群など水質汚濁指標によると本島南部地域河川の河口に汚濁が高く、腸ビ菌もその様な河口においては高頻度に分離された。北部地域

については名護湾に注ぐWR-21(名嘉真川)、WR-22(真謝川)の2箇所と羽地内海に注ぐWR-28(我部祖河川)、WR-30(源河川)の2箇所及び塩屋湾に注ぐWR-31(大保川)の1箇所それぞれ分離された。

太平洋側河川(32箇所)の河口域における各種水質汚濁指標及び塩分濃度と腸ビ菌の分離状況を表-2に示した。

表2. 沖縄本島河川河口域の水質汚濁と腸炎ビブリオの分離状況。

(昭和61年10月~62年2月 沖縄本島沿岸の太平洋側)

検体番号	採水場所名(河川名)	水温	DO	塩素濃度	COD (OH)	COD (acid)	BOD	大腸菌群数 (cfu/ml)	腸炎ビブリオ*
ER-1	雄桶川(堀川橋)	27.5°C	6.5	15.39	1.3	3.7	☆	1	-
ER-2	志喜屋川	25.5°C	6.5	15.39	1.3	3.7	☆	1	-
ER-3	久手堅ワンジン川	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆
ER-4	知名大川	29.5°C	12.1	8.11	4.1	8.5	☆	6.1×10^2	-
ER-5	浜崎川	26.5°C	4.5	15.97	1.9	4.7	☆	3	05:K30
ER-5'	富祖川	25.0°C	6.0	17.51	1.8	4.5	☆	3.9×10	01:K32
ER-6	大井川	26.0°C	7.4	17.96	2.0	4.9	☆	0	-
ER-7	サイダー川(与那原町)	25.5°C	0	0.13	8.9	16.8	☆	8.0×10^3	03:K5
ER-8	兼久川	21.5°C	5.2	0.13	9.5	18.7	29.8	7.2×10^4	03:K51
ER-9	小波津川	35.5°C	0.7	17.96	4.9	10.2	11.6	1.8×10^2	-
ER-10	内間川	23.5°C	2.8	2.32	7.2	14.5	17.2	5.0×10^2	-
ER-11	渡口川	23.0°C	7.3	8.89	4.8	10.0	7.6	1.4×10^3	-
ER-12	屋慶名川	30.5°C	2.3	11.98	6.1	11.9	9.9	2.4×10^3	04:K34
ER-13	天願川	27.5°C	5.2	5.22	3.5	7.1	7.4	9.0×10^2	-
ER-14	石川川	29.0°C	6.6	18.74	0.2	1.9	1.0	1	-
ER-15	前田川	28.5°C	4.4	1.29	5.3	10.6	☆	3.0×10^2	-
ER-16	渡久比那川	28.0°C	4.1	0.64	3.7	7.8	☆	3.8×10^3	-
ER-17	美徳川	28.0°C	4.1	0.64	3.7	7.8	☆	3.8×10^3	-
ER-18	億首川(福花橋)	29.7°C	6.8	18.03	0.2	1.7	0.4	0	-
ER-19	漢那福地川	28.0°C	6.3	11.85	0.1	3.3	2.0	0	-
ER-20	宜野座福地川	30.5°C	6.9	18.29	0.3	1.9	☆	0	-
ER-21	松田鍋川	28.0°C	6.4	6.44	1.1	3.3	☆	3	-
ER-22	辺野古川	31.0°C	10.4	1.61	3.7	7.8	☆	7.0×10	-
ER-23	大蒲川	27.5°C	6.7	16.29	0.3	1.9	☆	0	010:K24,01:K33
ER-24	汀間川	28.0°C	7.2	17.45	0.5	2.3	☆	8	-
ER-25	有銘川	27.0°C	7.8	4.57	0.5	2.3	☆	7.0×10	07:K19
ER-26	慶佐次川	24.5°C	6.6	18.86	0.1	1.3	0.3	0	-
ER-27	福地川	24.5°C	6.2	0.32	0.8	2.8	☆	1.3×10^2	-
ER-28	古島川	20.5°C	7.0	0.06	1.4	3.8	☆	3.1×10	-
ER-29	安波川	22.5°C	6.8	1.67	1.1	3.3	☆	2.7×10	-
ER-29'	普久川	22.5°C	7.7	4.25	0.6	1.9	0.3	3.0×10	-
ER-30	安田川	23.5°C	7.0	12.88	0.2	1.8	☆	2.0×10	-
ER-31	楚州川	23.5°C	9.9	0.06	0.5	2.3	☆	4.5×10^2	-
ER-32	奥川	24.5°C	7.8	2.00	0.2	1.8	☆	4.3×10^2	-

*検出はコリスチンバイオン(栄研)による増菌法を用いて行った。

DO, COD, BODの単位はmg/l、塩素濃度は%である。

☆検査を実施せず。

均水温は28.2±7.3℃で腸ビ菌の分離された箇所は所中7箇所(21.9%)計8株であり、東シナ海側較して分離率は低かった。その内訳は中南部地域 ER-5 (浜崎川)、ER-5' (富祖川)、ER-7 (サイダー ER-8 (兼久川)、ER-12 (屋慶名川) の5箇所と

北部地域がER-23 (大浦川) 及びER-25 (有銘川) の2箇所であった。

国場川の河口から国場交叉点付近(30箇所)までの河川水における各種水質汚濁指標及び塩分濃度と腸ビ菌の分離状況を表-3に示した。

表3. 国場川河川および下流域の水質汚濁と腸炎ビブリオの分離状況.

(昭和62年3月12日実施 沖縄本島東シナ海側)

番号	採水場所名(河川名)	水温	DO	塩素濃度	COD (OH)	COD (acid)	BOD	大腸菌群数 (cfu/ml)	腸炎ビブリオ*
1-1	明治橋下	20.6℃	5.2	18.67	2.7	4.2	3.2	7.0×10	-
1-2		20.6℃	4.9	17.45	2.6	7.6	・	1.0×10	05:K17
1-3		20.6℃	4.2	16.42	2.9	8.4		1.0×10	-
1-4		20.6℃	3.8	17.13	2.8	6.7	1.7	4.0×10 ²	-
1-5		20.6℃	4.2	17.51	2.6	7.6	・	1.0×10 ²	05:K17
1-6		20.6℃	4.2	17.06	3.3	9.4	・	1.1×10 ²	-
1-7		20.6℃	4.3	17.06	2.4	8.1	0.9	1.6×10 ²	-
1-8		20.6℃	3.9	16.87	2.9	8.4	・	2.0×10	-
1-9		20.6℃	3.5	16.80	3.3	9.4	・	7.0×10	01:K38,01:K38
1-10		20.6℃	3.1	15.90	3.1	8.9	・	2.0×10 ²	-
1-11		20.6℃	・	16.61	2.9	13.9	2.0	6.0×10 ²	-
1-12		20.8℃	2.4	14.29	3.7	10.5	・	2.0×10 ²	-
1-13		20.8℃	・	13.78	4.0	11.2	・	8.0×10 ²	-
1-14		20.7℃	1.5	12.75	4.3	12.0	・	1.4×10 ³	04:K37,04:K37
1-15		20.8℃	・	12.30	4.9	14.9	3.6	2.3×10 ³	-
1-16		20.8℃	1.5	10.88	6.0	16.4	・	3.0×10 ³	05:K19
1-17		21.3℃	・	7.92	8.3	22.3	・	4.1×10 ⁴	-
1-18		21.5℃	0.6	8.05	9.2	22.6	8.7	3.0×10 ³	-
1-19	真玉橋下	21.3℃	・	7.40	8.6	23.0	・	2.1×10 ⁴	-
1-20		21.3℃	0	5.99	10.5	27.9	・	1.7×10 ⁴	05:K19
1-21		21.0℃	・	5.15	11.2	29.7	・	7.0×10 ⁴	05:K19
1-22		21.0℃	0	4.64	11.3	31.6	22.9	2.8×10 ⁵	-
1-23		21.0℃	・	4.12	11.3	31.0	・	1.0×10 ⁴	-
1-24		21.0℃	0	3.93	11.5	30.5	・	2.0×10 ⁴	-
1-25		20.5℃	・	4.50	10.9	28.9	・	4.0×10 ⁴	-
1-26		20.4℃	0	3.61	12.1	33.0	26.0	4.0×10 ⁴	-
1-27		20.4℃	・	3.48	11.8	31.2	・	5.0×10 ⁴	-
1-28		20.5℃	0	1.42	12.6	33.0	20.9	1.5×10 ⁵	-
1-29		20.5℃	・	0.26	11.8	31.2	・	1.7×10 ⁵	-
1-30	国場交叉点下	20.5℃	2.6	0.19	12.4	33.3	20.9	1.6×10 ⁶	-

*腸炎ビブリオの検出はコリスチンブイオン(栄研)による増菌法を用いて行った。

DO, COD, BODの単位はmg/l、塩素濃度は%である。

満潮時に明治橋下 (KR-1) から出発して真玉橋下 (KR-19) 及び国場交差点付近 (KR-30) までの河川表層水をボートから約200m間隔で採水したが、各種水質汚濁指標や大腸菌群数を見ると河口から上流方向へ行くに連れて汚濁指標値の増加傾向があり、かなりの水質汚濁のあることが分かった。国場川の河口域は干潮時になると大きな干潟が出現し、野鳥などの飛来場所としても良く知られている。また時々、漁師が小船を浮かべてノコギリガサミなどの魚介類を採取しているのが見られる。

平均水温は $20.5 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ であり変動幅は他の河川河口域に比べて少なかった。腸ビ菌は下流から中流にかけて比較的良く分離されたが上流に行くにつれて分離されなくなった。腸ビ菌が分離されたのは30箇所中6箇所 (20.0%) 計8株であり、8株の血清型については比較的一定していた。

今回分離した腸ビ菌の32株について神奈川現象試験を実施した結果は全て陰性であった。

IV 考察

腸ビ菌は海の環境に由来する菌で海産魚介類に付着して陸揚げされた本菌が増殖を繰返し、それを人間が生食すると食中毒を起こす事で知られる我が国の代表的な食中毒の原因菌である。腸ビ菌の至適条件下における一世代時間 (菌が1個から2個に分離する時間) は大腸菌やその他の一般細菌に比べて約2倍の速度を持っており、例えば1個の細菌が倍数分裂 (binary fission) を繰返し、6時間後には他の細菌が 2.6×10^5 個になるのに対して腸ビ菌の場合はそれが実に 6.8×10^{10} 個に到達する⁶⁾。

著者らは河川の河口域における水質汚濁 (有機物質) の存在と腸ビ菌の生息状況を把握するために河口域の河川水を調査したが、前回の本島沿岸海域 (陸地より約500m程度の距離) に110箇所の観測点を設定し、船上から採取した海水について腸ビ菌の分離を試みた調査では1株も分離されず、腸ビ菌が生息するだけの十分な栄養素が存在しないことを報告したが、今回の調査では河口域の70箇所中、20箇所 (28.6%) から合計24株の腸ビ菌を分離した。これらの結果から河口域には腸

ビ菌が高頻度で生息する事が分かった。東シナ海側に注ぐ河川の河口域では38箇所中13箇所 (34.2%)、また太平洋側に注ぐ河川の河口付近では31箇所中7箇所 (21.9%) であり、その分離率の相違はCODやBOD及び大腸菌群数など有機物質の存在を示す汚濁指標値が東シナ海側に注ぐ河川の河口付近で比較的高いことによるものと推察出来る。特に、都市型河川の集中する中南部において分離率の高いことが伺えた。従って、これらの河川の河口付近は腸ビ菌の格好の生息場所となっていることが考えられる。また、国場川の河口域から上流にかけて同様な調査を行ったところ、30箇所中6箇所 (20.0%) の河川水から計8株の腸ビ菌が分離されたが、下流から中流にかけては比較的良く分離されるが、上流に行くに従って分離されないことが分かった。腸ビ菌にとっては有機物質の存在は十分であるが、塩分濃度が5%以下になると生息が困難になる⁸⁾ので、その影響もあるのではないかと思われる。

今回実施した本島河川の河口域 (70箇所)、国場川 (30箇所) 及び過去に実施した安謝川 (20箇所) の合計120箇所について、COD値を縦軸に塩分濃度を横軸にとり腸ビ菌の検出箇所及び非検出箇所をプロット (図5) してみると、県内の河川河口域における腸ビ菌の生息場所としての条件が分かってきた。すなわち、破線で囲まれた箇所がその条件に一致する箇所であると思われる。このような調査は1回だけの調査なので、断定することは避けたいが、破線で囲まれた条件下にある河口域には腸ビ菌が生息している事が考えられる。

本県における環境中の腸ビ菌の生息に関しては陸上からの有機物質の存在が重要な要因となる事が指摘されたが、著者ら^{7,9)}の那覇港沿岸海域における調査では海水153検体中7検体 (4.6%) であり、また陸上から約500m程度離れた海上からの調査では100箇所の海域から1箇所も腸ビ菌が分離されていない事を合わせ考えると、河口付近で生息している腸ビ菌が沿岸海域に影響を及ぼしていないことが考えられた。沖縄本島の河川や海域における腸ビ菌の生息は、有機物質汚濁のある感潮域 (下流・河口域) の一部水域に限られ、有

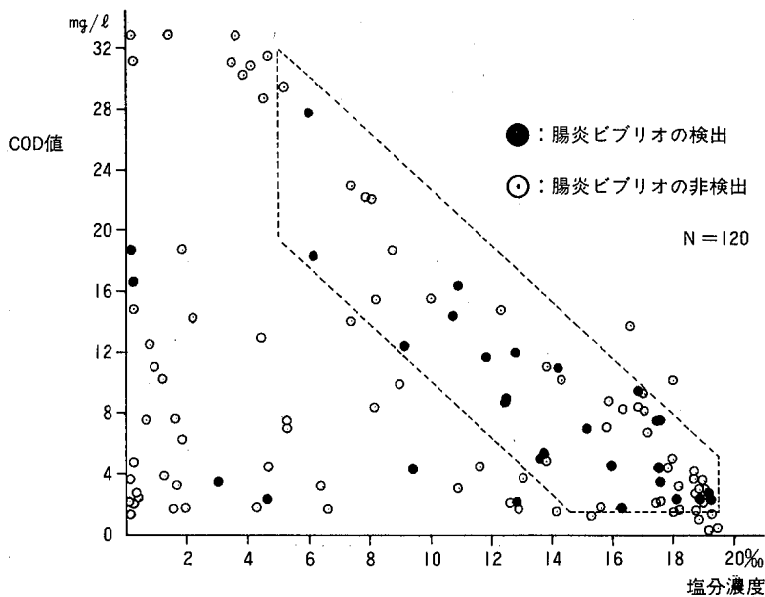


図5. 河川河口域からの腸炎ビブリオの検出状況.

養質汚濁や栄養塩類濃度の低いとされるサンゴ礁海域には希少であると思慮される。

V まとめ

沖縄本島河川の河口域について、各種水質汚濁指標や塩分濃度と腸菌の生息実態の関連性について検討した。

1. 本島東シナ海側の河口域では38箇所中13箇所(分離率34.2%)であり、都市型河川の集中する南部地域において比較的多く分離された。
2. 本島太平洋側の河口域では32箇所中7箇所(21.8%)であり、東シナ海側に比較して分離率の低いことが分かった。
3. 国場川については河口付近よりボートで遡り約200m間隔で30箇所を検査したところ、6箇所(20.0%)から分離された。
4. 沖縄本島河川の河口域について腸菌の生息に関与する有機物質質量(COD値)と塩分濃度の関連性について検討したところ、腸菌の生息実態を把握することが出来た。

VI 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~61年)”
- 2) 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~62年)”.
- 3) Fujino T., Sakaguchi G., Sakazaki R., and Takeda Y., “International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*”. Saikon Publishing Co., (1974)
- 4) 竹田義文, 三輪谷俊夫. “ビブリオ感染症” 医歯薬出版. P1~97. (1982)
- 5) 坂崎利一編. “食中毒I”. 中央法規出版, p.85~87, (1984)
- 6) 川端俊春他. “実務食品衛生”中央法規出版. p.20~21. p.130~131. (1987)
- 7) 仲宗根民男他. “沖縄県における腸炎ビブリオの生態学的調査研究I”. 沖縄県公害衛生研究所報. 第20号. p.56~61. (1986)
- 8) 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”環境科学研究所報告書, B261~R22-11. p.50~55. (1985)
- 9) 仲宗根民男他. “沖縄県における腸炎ビブリオの生態学的調査研究III”. 沖縄県公害衛生研究所報. 第21号. p.25~31. (1987)