

=調査=

Vibrio vulnificus の清水港湾内における分布

永島江美子^{*1}・小田雄一郎^{*2}・小澤一弘^{*3}・
工藤由起子^{*4}・仁科徳啓^{*1, 3, †}・小沼博隆^{*2}

(*¹東海大学短期大学部食物栄養学科, *²東海大学海洋学部,

*³(株)中部衛生検査センター, *⁴国立医薬品食品衛生研究所)

(受付: 平成 19 年 6 月 8 日)

(受理: 平成 19 年 10 月 2 日)

Distribution of *Vibrio vulnificus* in Shimizu Harbor Areas

Emiko NAGASHIMA^{*1}, Yuuichiro ODA^{*2}, Kazuhiro OZAWA^{*3},
Yukiko HARA-KUDO^{*4}, Tokuhiro NISHINA^{*1, 3, †} and Hirotaka KONUMA^{*2}

(*¹Department of Food and Nutrition, Tokai University Junior College, 101,
Miyamae-cho Aoi-ku Shizuoka-shi, 420-8511; † Corresponding author)

(*²Department of Fisheries, Tokai University, 3-20-1 Orido Shimizu-ku Shizuoka-shi 428-8610)

(*³Chubu Food and Environmental safety Center, 663-3 Shima Shimada-shi 428-0007)

(*⁴Division of Microbiology, National Institute of Health Sciences,
1-18-1 Kamiyoga Setagaya-ku Tokyo, 158-8501)

Vibrio vulnificus は、腸炎ビブリオと同様に水温が 15°C 以上で増殖が可能になり、20°C を越す 6 月から 9 月では旺盛に増殖することが知られている。したがって本菌感染症はこの時期を中心に、多くの感染事例が報告される傾向にある。わが国では 1976 年に長崎で第一例が発生して以来、200 例余の感染事例が報告され、これらのうち九州地方、瀬戸内海北岸および東京湾沿岸での患者発生が目立ち、特に九州北部が全体の 50% ほどを占めている¹⁰⁾。

本菌が肝硬変などの基礎疾患有する主に 50 歳以上の男性に感染した場合は、進入門戸の創傷部において蜂巣炎等の皮膚病変が拡大し、病変部で増殖した菌は血行性に移行して敗血症を起こし、その 50% 程度が数時間で死の転帰をとることが報告され¹²⁾、社会的に注目されている。2001 年 7 月に熊本県内で 3 名が *V. vulnificus* 感染症を発症した事例では、うち 2 名が死亡、1 名は重症に陥ったことが報告されている。本事例では、感染者 3 名はいずれも 50 歳以上の男性で肝臓疾患有しており、発症前日にそれぞれコチの刺身、シャク味噌、シャクのしょうゆ漬けなどを喫食しており、これらが感染源

と考えられている³⁾。また 1999 年 6 月に岡山県倉敷において死亡した事例では、患者は毎日ビールを飲む 63 歳男性で肝機能の異常を呈し、発症前にニベ(スズキ目)の刺身を食べており、その後、敗血症に移行している⁷⁾。宮坂ら⁶⁾は熊本県内で *V. vulnificus* 感染症が毎年発生していることに注目し、同県内の環境汚染調査を行い、本感染症が発生する 6 月から 10 月には、海水および海泥から高率に本菌が分離されることを報告している。

V. vulnificus の感染経路は、生の魚介類の摂取による感染または潮干狩りや浜遊びなどの創傷感染と考えられている。工藤ら⁵⁾による魚介類の汚染調査では、近畿地方で 10^3 MPN/100 g 以上の汚染が 25~44%，九州地方では 10^7 MPN/100 g 以上の汚染が 22.2% に認められ、九州地方での汚染が高いことが報告されている。しかし全国的な規模の *V. vulnificus* に関する海水汚染調査が実施された報告は見られず、日本近海における本菌の分布は不明な点が多い。そこで海水浴、釣りなど住民が海水と接する機会が多い清水港の海水、カキおよび泥(海泥、川泥)を対象に *V. vulnificus* の汚染実態を調査した。

材料および方法

1. 材料採取方法

検体採取は 2006 年 7 月 10 日、8 月 1 日、9 月 14 日、10 月 10 日、11 月 13 日、12 月 11 日に行い、海水は 10

† 連絡先

*¹ 〒420-8511 静岡市葵区宮前町 101

*² 〒424-8610 静岡市清水区折戸 3-20-1

*³ 〒428-0007 島田市島 663-3

*⁴ 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

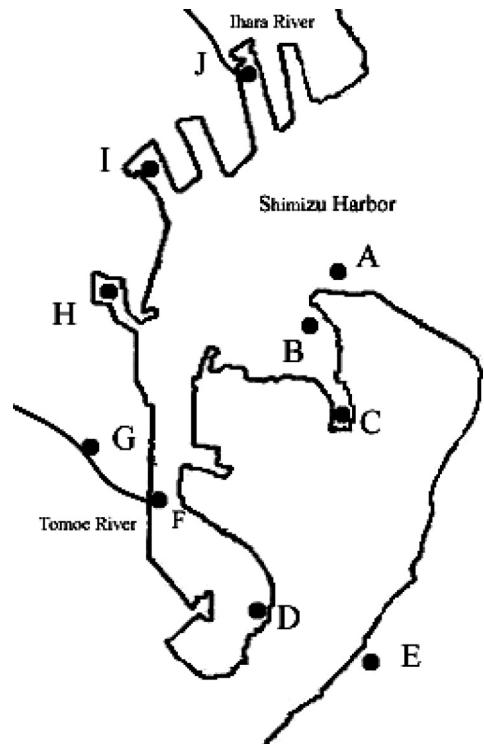


Fig. 1. Sampling points in Shimizu Harbor area.
A: Masaki beach for sea bathing, B: Miho beach for sea bathing, C: The coast of 3797 Miho, D: The coast of Orido 4 chome, E: The coast of Orido 3 chome, F: The estuary of Tomoe river, G: Upper stream of Tomoe river, H: The coast of Minato-cho 1 chome, I: The coast of 149 Shimazaki-cho, J: The estuary of Ihara river.

カ所 A: 真崎海水浴場, B: 三保海水浴場, C: 三保 3797 番地海岸, D: 折戸 4 丁目海岸, E: 折戸 3 丁目海岸, F: 巴川河口, G: 巴川上流, H: 港町 1 丁目海岸, I: 島崎町 149 番地海岸, J: 廉原川河口の表層海水, カキは D および H の岸壁, 泥は海底 2 カ所および川底 1 カ所から採取し, 海泥は D および H の海底, 川泥は F の上流 300 M 付近 G の川底からそれぞれ採取した (Fig. 1). このうち C 地点の採取場所には, 净水場からの淨水が流入していた. また G の巴川上流の検体採取場所は, 巴川の河口から 300 M 程度の上流であるが, 清水港湾の潮の干満の影響を受け易く, 海洋生物も生息していることから本調査報告では港湾の一部として扱った.

検体の採取時に海水はポリバケツを用いて 3 回ほど共洗いした後にくみ取り, カキは港湾の岸壁に付着しているものをはぎ取り, 泥は柄杓でくさり取ったのち, それぞれ滅菌ボリ瓶および滅菌ボリ袋に入れ検体とした. 検体はクーラーボックスで 10°C 前後に保冷して研究室に持ち帰り, 直ちに供試した. 採取時の海水は, 採取直後の水温(積水化学, SS-31A), pH(新電元, KS701)および塩分濃度(積水化学, SS31-A)について測定した.

2. 海水, カキおよび泥の MPN 値による汚染菌数の測定法

海水, 泥およびカキの菌数は, 10 ml のアルカリペプトン水を用い MPN 法(3 本法)により測定した.

海水は, 試料の原液あるいはリン酸緩衝生理食塩水(PBS: 日水製薬)で調整した希釈液 10 ml, 1 ml, 0.1 ml および 0.01 ml(0.1 ml 以下は各希釀段階の希釀液 1 ml を用いた)を各々 3 本のアルカリペプトン水に接種した. カキと泥はそれぞれ 10 g に滅菌 PBS 90 ml を加えて 10 倍希釀したものを試料原液とした. 10 ml の試験管系列に試料 10 ml を接種する場合はアルカリペプトン水の濃度を常用の倍濃度としたものを用いた.

接種した各々のアルカリペプトン水は, 37°C, 24 時間培養後, 1 白金耳を CHROMagar Vibrio 培地(CV 培地: 関東化学)に画線塗抹し, 発育した疑わしい集落について後述の方法によって生化学的性状を確認した. 生化学的性状検査の結果, *V. vulnificus* の性状に一致した各集落を用いて方法 4 に示す PCR 法に供試し, *V. vulnificus* が特異的に保有する溶血毒遺伝子(*V. vulnificus* cytotoxin-hemolysin: *vvh* 遺伝子)の有無を確認した. *vvh* 遺伝子の保有が確認された MPN 試験管は, *V. vulnificus* 陽性試験管とし, それらの試験管の本数を MPN 表に照らし合わせて MPN 値を算定し, 試料の希釀倍数を乗じて菌数を求めた.

3. 分離菌株の生化学的性状試験

CV 培地上に発育した鮮やかな青色を呈し, 表面が盛り上がり, 辺縁がスムースな *V. vulnificus* が疑われる集落を釣菌し, これを 1% 食塩加 Triple Sugar Iron 寒天培地(TSI 培地: Oxoid)に移植して 37°C, 24 時間培養した.

培養後, 斜面部赤~黄変, 高層部黄変, ガスおよび硫化水素陰性の性状を示した菌株を, 食塩濃度を 0%, 1%, 8%, 10% に調整した Nutrient Broth 培地(NB 培地: Becton Dickinson)に移植し, 食塩耐性試験を実施した. その結果, *V. vulnificus* が疑われた株は, カジトン培地へ移植し, PCR 用供試菌株として室温に保存した.

4. PCR による *vvh* 遺伝子の確認

PCR 用保存菌株は, *vvh* 遺伝子(增幅産物: 519 bp)を標的遺伝子として Hill ら⁸⁾の法に従って PCR を行った. PCR 用に供試した DNA の抽出は, 保存菌株を標準寒天培地で再培養し, 発育した集落から釣菌し PBS に浮遊させた. 浮遊液は 95°C で 10 分間加熱後, 12,000 rpm, 10 分間遠心し, 得られた上澄みを抽出 DNA 液として PCR に供試した.

結果

1. *V. vulnificus* の MPN 値

V. vulnificus の MPN 値および採取場所別平均 MPN

値(AV)をTable 1に示した。

*V. vulnificus*は、7月から12月の海水の51.6% (31/60), カキの75% (9/12)および泥の94.4% (17/18)から検出された。

海水から検出された*V. vulnificus*の菌数は、検出下限値(<3 MPN/100 ml)以下を除き、最も少ない検体はB(三保海水浴場)とD(折戸4丁目海岸)の3 MPN/100 mlで、最も多い検体はG(巴川上流)の280 MPN/100 mlであった(Table 1). *V. vulnificus*は、8月が7ヵ所、10月が8ヵ所、11月が6ヵ所から検出され、12月は4ヵ所、7月および9月が3ヵ所から検出された。採取場所別では、J(庵原川河口)5回、B(三保海水浴場)、F(巴川河口)およびI(島崎町149番地海岸)から各4回検出された。またA(真崎海水浴場)、C(三保3797番地海岸)、D(折戸4丁目海岸)およびH(港町1丁目海岸)から各3回、G(巴川上流)から2回検出された。一方、湾外のE(折戸3丁目海岸)の海水からは検出されなかった。

カキから検出された*V. vulnificus*の菌数は、最も多い検体ではH(港町1丁目海岸)およびD(折戸4丁目海岸)の150 MPN/100 gであったが、検出下限値以下の検体もあった(Table 1)。

泥から検出された*V. vulnificus*の菌数は、最も多い検体は8月のG(巴川上流)600 MPN/100 gであったが、10月のH(港町1丁目海岸)の検体においては、検出下限値以下(<30 MPN/100 g)であった(Table 1)。

2. 検体採取時の海水の水温、塩分濃度およびpH

海水温、塩分濃度およびpHは、変動を見るために調査月のデータ、標準偏差値および平均値をTable 1に示した。7月から10月までの20°C以下の海水温は、7月のA(真崎海水浴場)の15.1°Cで、ほかは20°Cを超えており、F(巴川河口)では9月に30.8°Cに達した。11月以降はすべての場所において20°C以下で推移した。

海水温が最も変動した場所は、F(巴川河口)で21.7±6.8°Cであり、次いでC(三保3797番地海岸)20.6±5.8°C、D(折戸4丁目海岸)の順であった。全採取場所では、月別に3.6°Cから6.8°Cの変動幅が見られた。

塩分濃度に大きな変動を示した検体採取場所は、J(庵原川河口)2.0±0.6%で、次いでC(三保3797番地海岸)2.3±0.5%、G(巴川上流)1.0±0.4%であった。その他の採取場所では、0.1%から0.3%の変動幅で推移した。

検体採取場所のpHは、G(巴川上流)のpH 8.1±0.4からJ(庵原川河口)の9.1±0.1の範囲に推移した。全採取場所の月別最低値は12月のG(巴川上流)のpH 7.5で、それ以外の場所は、pH 8.1~9.2の間で変動した。

考 察

*V. vulnificus*の全国的な分布については、限局的な環境中の調査報告があり、これらの報告では、本菌が汽水

域などの塩分濃度が低い海水に多く存在すること⁶⁾、水温が20°C以上になると旺盛に増殖すること^{1, 6)}、貝類や泥で多く検出されること^{1, 6, 9)}、および九州地方で汚染が高いことが報告されている^{5, 6)}。

清水港湾には、巴川、庵原川、その他の小河川等が注ぎ込んでおり、これらの河川の存在により海水の塩分濃度が低下している。また清水港湾は深く切れ込んだ形状であるために外海からの海水が流入する度合いが少ないので外洋の海水温の影響による冷却効果が少ないとから外気温度の影響を受け海水温が上昇しやすい。したがって、清水港湾内には、*V. vulnificus*の生存に好適な環境が存在すると考えられる。

今回の調査ではE(折戸3丁目海岸)を除き、夏期を中心清水港湾内全体から*V. vulnificus*が検出されており、港湾の本菌による汚染が明らかにされた。また、汚染菌量が多い地域では塩分濃度は総じて低い傾向にあることが示され、D(折戸4丁目海岸: 塩分濃度2.4±0.3%)のカキと泥、F(巴川河口: 塩分濃度2.0±0.2%)、G(巴川上流: 1.0±0.3%)の海水と泥においては菌数が100 MPN/100 ml(g)を超える月も見られた。しかし、塩分濃度と菌数の増減についての直接的な関連性を示すデータは得られなかった。一方、E(折戸3丁目海岸)では、いずれの検体からも菌が検出されなかった。その原因としてE(折戸3丁目海岸)は、常に新鮮な外洋海流の影響を受けて有機物、プランクトンの死骸等が海底に蓄積されず、菌の増殖に適した場ではないこと、ならびに菌が増殖しても、その場に停滞することなく拡散されることなどが考えられる。

*V. vulnificus*の清水港湾内における分布は、検体によって異なる傾向を示した。すなわち海水から検出された月別の検出頻度は、J(庵原川河口)、B(三保海水浴場)、F(巴川河口)およびI(島崎町149番地海岸)の順で多かった。カキは、H(港町1丁目海岸)よりもD(折戸4丁目海岸)で菌数が多い傾向を示した。泥は、汽水域のG(巴川上流)、D(折戸4丁目海岸)およびH(港町1丁目海岸)の順に菌の検出検体数および平均検出菌量が多かった。

汽水域において*V. vulnificus*が多く検出される傾向は、宮坂らの報告⁶⁾と一致した。

*V. vulnificus*の検体別の汚染菌数は、海水で10 MPN/100 mlに満たないことが多かった。カキでは30~150 MPN/100 g、泥は100 MPN/100 gを超えるもののが多かった。

清水港湾における*V. vulnificus*の検出率は、泥から94.4%、カキから75.0%および海水から51.6%であった。このことから清水港湾内の海水における*V. vulnificus*は、Knekoら^{13, 14)}が報告した腸炎ビブリオの生態と同様に海水よりも泥・カキで多く検出された。海水、カキおよび泥の検出率に差が見られる原因としては、海水では増殖の場となるプランクトンが拡散される

Table 1. The number of *V. vulnificus* in seawater, oyster and sea mud, and environmental data in the sampling area

Sampling area	Parameter	Month in 2006						SD (AV)
		Jul.	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	
A (Masaki beach for sea bathing)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	16	<3	6.1	<3	9.2	(5.2)
	Temperature of seawater (°C)	15.1	20.5	27.7	23	18.8	15.4	20.1±4.8
	Salinity of seawater (%)	3	2.9	2.7	2.8	2.7	2.7	2.8±0.1
	pH of seawater	8.7	9.1	8.9	8.5	8.1	8.7	8.7±0.3
B (Miho beach for sea bathing)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	3	120	6.2	<3	6.1	<3	(25.6)
	Temperature of seawater (°C)	24	23.1	27	23.2	16.8	15.7	21.6±4.4
	Salinity of seawater (%)	2.8	2.5	2.9	2.8	2.6	2.6	2.7±0.2
	pH of sea water	8.8	9.1	8.8	8.7	8.4	8.9	8.8±0.2
C (The coast of 3797 Miho)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	23.5	<3	4	9.1	9.1	(5.1)
	Temperature of seawater (°C)	2.7	22.5	27.6	22.8	12.7	14.2	20.6±5.8
	Salinity of seawater (%)	8.6	8.7	2.7	1.8	2.5	2.5	2.3±0.5
	pH of seawater	8.5	8.8	8.6	8.3	8.1	8.6	8.5±0.3
D (The coast of Orido 4 chome)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	14	<3	3	3	<3	(3.3)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in oyster (MPN/100 g)	30	92	93	150	91	<30	(76.0)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in sea mud (MPN/100 g)	27.0	91	150	420	40	30	(166.8)
	Temperature of seawater (°C)	25.5	23.5	28.2	22.7	16.3	14.1	21.7±5.4
E (The coast in Orido 3 chome)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	22.2	<3	<3	<3	<3	(<3)
	Temperature of seawater (°C)	2.8	22.4	26.9	22.8	19.4	16.3	21.7±3.6
	Salinity of seawater (%)	2.8	2.8	3	2.9	2.9	3	2.9±0.1
	pH of seawater	8.7	9	8.7	8.8	8.6	8.9	8.8±0.4
F (The estuary of Tomoe river)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	6.1	4	<3	14.0	7	<3	(26.2)
	Temperature of seawater (°C)	24.2	23.4	30.8	24.2	14.1	13.2	21.7±6.8
	Salinity of seawater (%)	1.7	2.1	2.5	1.9	1.9	1.6	2.0±0.3
	pH of seawater	8.3	9.1	9	8.4	8.3	8.5	8.6±0.4
G (Upper stream of Tomoe river)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	91	600	300	160	<3	(51.7)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in sea mud (MPN/100 g)	24.7	23	28.9	22.5	17.2	13.5	(220.1)
	Temperature of seawater (°C)	0.5	0.5	1	0.7	1.8	0.9	21.6±5.4
	Salinity of seawater (%)	8.1	8.1	8.8	7.9	8.4	7.5	1.0±0.4
H (The coast of Minato-cho 1 chome)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	<3	7.3	7	60	<3	<3	(12.4)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in oyster (MPN/100 g)	30	36	<30	150	<30	40	(42.7)
	Number of <i>V. vulnificus</i> in sea mud (MPN/100 g)	61	61	150	34	40	30	(57.0)
	Temperature of seawater (°C)	25.2	24	29.6	24	19.5	13.8	22.7±5.4
I (The coast of 149 Shimazaki-cho)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	2.6	2.4	2.6	2.9	2.9	2.6	2.7±0.2
	Temperature of seawater (°C)	8.5	8.9	8.7	8.7	9	8.9	8.8±0.2
	Salinity of seawater (%)	8.5	8.9	8.7	8.7	9	8.9	8.8±0.2
	pH of seawater	24.7	23.7	28.3	23.7	20	14.8	22.5±4.6
J (The estuary of Ihara river)	Number of <i>V. vulnificus</i> in seawater (MPN/100 ml)	9.2	9.1	3.6	7.3	<3	6	(5.9)
	Temperature of seawater (°C)	24.7	23.3	27.8	23.8	1.9	15.5	22.4±4.4
	Salinity of seawater (%)	1.2	2.5	2.2	1.2	2.3	2.8	2.0±0.6
	pH of seawater	9.1	9.1	8.9	9	9.2	9	9.1±0.1

SD: Standard deviation, AV: Average value of MPN

こと、カキではプランクトンが消化管内に濃縮されること、および泥では菌が付着したプランクトンなどが堆積している量が多いことが考えられる。また、これらの有機物を利用して腸炎ビブリオと同様に泥の中で菌が増殖¹⁵⁾することも考えられる。したがって、今後は有機物が多い海泥、川泥、カキならびに底生動物などを採取し、それらが *V. vulnificus* の増殖の場になることを明らかにする必要があると考えられる。

V. vulnificus の分離培地に用いた CV 培地では、本菌が強く疑われる鮮やかな青色集落として釣菌されたものが 349 株あった。このうち TSI 培地による性状試験および NB 培地による食塩耐性試験で *V. vulnificus* の性状と一致した株は、181 株(51.8%)みられ、そのうち PCR で *vhv* 遺伝子の保有を確認できたのが 73 株(40.3%)であった。*V. vulnificus* は、増菌培養の温度や使用する選択分離培地の違いによって、検出率に影響を及ぼすことが工藤らによって報告⁵⁾されており、今後はこれらの方法を考慮した調査が必要であろう。

今回の調査において、海水温が 26°C 以上あった 9 月の A(真崎海水浴場), F(巴川河口), I(島崎町 149 番地海岸)の海水および H(港町 1 丁目海岸)のカキでの菌量が少なかったが、その原因を明らかにすることはできなかった。しかし、静岡地方気象台は、検体採取日を含め、9 月 11 日から 4 日間に渡り、清水地区に毎日降雨があったことを公表しており、それらが影響したのかもしれない。さらに分離培地によっては *V. vulnificus* を疑う集落の釣菌に個人差を生ずる恐れも考えられることから、今後は SDS-polymixin B sucrose agar⁹⁾ や Cellobiose-polymixin B-collistin agar^{8, 11)} など有効性が認められている選択分離培地⁴⁾ を併用し、データのばらつきの原因を検証したいと考えている。

今回の調査で清水港湾内における *V. vulnificus* の汚染実態が明らかにされた。しかし、調査期間が短かったこと、および海水温が高いにもかかわらず *V. vulnificus* の検出率が低くデータにばらつきが見られたことなど、季節的な変動については解明できなかった。今後は年間を通して降雨と菌数の関係および増菌方法や分離培地を検討し、清水港湾内の *V. vulnificus* の消長を明らかにしたいと考えている。

文 献

- 1) 福島 博: 島根県沿岸における *Vibrio vulnificus* の分布および市販魚介類の *V. vulnificus* 汚染状況. 感染症学雑誌, **80**, 220–229 (2006).
- 2) Hill, W. E., Keasler, S. P., Trucksess, M. W., Feng, P.,

- Kaysner, C. A. and Lampel, K. L.: Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters. Appl. Environ. Microbiol., **57**, 707–711 (1991).
- 3) 小野友道, 井上雄二, 横山真為子, 栄 仁子, 後藤和枝, 河津俊彦, 平野芳久, 南 龍一, 松井珠乃, 小松崎 貞, 大山卓昭, 岡部信彦: 熊本県で発生した *Vibrio vulnificus* 感染症の集積. 病原体検出情報, **22**, 9 (2001).
 - 4) Kitaura, T., Doke, S., Azuma, I., Imaida, M., Miyano, K., Harada, K. and Yabuuchi, E.: Halo production by sulfatase activity in *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* O1 on a new selective sodium dodecyl sulfatecontaining medium: a screening market in environmental surveillance. FEMS Microbiol. Lett., **17**, 205–209 (1983).
 - 5) 工藤由起子: ビブリオ・バルニフィカスの検査法の検討と汚染実態, 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進研究事業「細菌性食中毒の予防に関する研究」報告書, 105–111 (2006).
 - 6) 宮坂次郎, 八尋俊輔, 荒平雄二, 濱洲大輔, 甲木和子, 德永春樹: 熊本県内の *Vibrio vulnificus* の環境分布と *Vibrio vulnificus* 感染症発生状況(2001~2004), 熊本県保健環境科学研究所報, **34**, 37–43 (2004).
 - 7) 大澤 真, 橋 洋正, 有田真知子, 橋本 徹, 石田 直, 本郷敏治, 藤井寛之: *Vibrio vulnificus* による敗血症の 1 部検例. 感染症学雑誌, **76**, 63–66 (2002).
 - 8) Oliver, J. D., Guthrie, K., Preyer, J., Wright, A., Simson, L. M., Siebeling, R. and Morris, Jr., J. G.: Use of colistin-polymyxin B-cellociose agar in the isolation of *Vibrio vulnificus* from the enviroment. Appl. Environ. Microbiol., **58**, 737–739 (1992).
 - 9) 斎藤紀行, 山田わか, 渡邊 節, 小林妙子, 川野みち, 田村広子, 三品道子, 菅原直子, 佐藤由美, 畠山 敬, 谷津壽郎, 秋山和夫, 川向和雄: 宮城県内の海水及び市販貝類からのビブリオ・バルニフィカスの検出. 宮城県保健環境センター年報, 第 23 号 (2005).
 - 10) 篠田純夫: ビブリオ・バルニフィカスについて. 日食微誌, **17**, 155–161 (2000).
 - 11) Sun, Y. and Oliver, J. D.: The value of CPC agar for the isolation of *Vibrio vulnificus* from oyster. J. Food Prot., **58**, 441–442 (1995).
 - 12) 山本茂貴: ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な感染症について. 食品衛生研究, **56**, 25–28 (2006).
 - 13) Kaneko, T. and Colwell, R. R.: Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J. Bacteriol., **113**, 24–34 (1973).
 - 14) Kaneko, T. and Colwell, R. R.: Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. Appl. Microbiol., **30**, 251–257 (1975).
 - 15) Kumazawa, N. H. and Kato, E.: Survival of Kanagawa positive strains of *Vibrio parahaemolyticus* in a brackish-water area. J. Hyg. Camb., 299–307 (1985).