

Vibrio vulnificus 感染症に関する疫学的検討

Epidemiological study of Vibrio vulnificus infection

大仲賢二¹, 古畑勝則², 福山正文²

¹麻布大学環境保健学部, ²麻布大学大学院環境保健学研究科

Kenji Oonaka¹, Katunori Furuhashi², Masafumi Fukuyama²

¹ College of Environmental Health, Azabu University, ² Graduate School of Environmental Health Sciences, Azabu University

Abstract. As a part of elucidation of the route and source of *Vibrio vulnificus* infection, antimicrobial drug sensitivity tests and molecular-epidemiological investigation by DNA analysis using PFGE of each serotype of environmental and human clinical strains were performed, and the following findings were obtained.

1. On serotyping of the strains from each source, 72.5 % of the environmental strains belonged to 18 types: the most frequent type was O7, accounting for 43.1 %, followed by O4 accounting for 6.1 %. As for the human clinical strains, 87.1 % belonged to 8 types: the most frequent type was O4, accounting for 43.5 %, followed by O7 accounting for 12.9 %.

3. On determination of MIC₉₀ for the strains from each source as drug sensitivity, the environmental strains were sensitive to ABPC, PIPC, CPZ, CTX, LMOX, MEPM, GM, EM, TC, DOXY, MINO, CP, NA, and CPFX, but there were strains resistant to CER, CET, CTX, CMZ, KM, and LCM. The human clinical strains were sensitive to EM, TC, DOXY, MINO, CP, NA, and CPFX, but there were strains resistant to ABPC, PIPC, CER, CET, CPZ, CTX, CMZ, LMOX, MEPM, KM, GM, AMK, and LCM.

4. DNA was cleaved with 2 enzymes, *Not* I and *Sfi* I, and DNA was analyzed by PFGE. The DNA pattern reading rate was 76.9 % on cleavage with *Not* I and 97.9 % with *Sfi* I, showing that *Sfi* I was superior in reading the DNA patterns.

5. When strains whose DNA patterns were read on cleavage with *Sfi* I were analyzed by the UPGMA method, the similarity was low, and various clusters were present, clarifying that this infectious disease is caused by multiple clones. Moreover, combinations of clinical and environmental strains with 89 % or higher similarity were noted, although the sources were different, showing a possibility of transmission from the environment to humans and vice versa.

1. 目的

著者らは、*Vibrio vulnificus* による感染症の感染経路や感染源解明の一環として、自然環境下における本菌の分布調査を行い、本菌が高率に分布していることを明らかにした¹⁾。しかし、本菌とヒトの感染症の感染源や感染経路との関連性についての疫学的検討はほとんどされていないのが実情である。そこ

で上述のことを加味して今回は、感染経路や感染源を解明するため、環境由来株とヒト臨床由来株について Shimada ら²⁾ が開発した血清型別に著者らが新たに追加した血清型を用いて血清型別、各種抗菌剤の系統別に薬剤感受性試験およびパルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis : PFGE) 法を用いて、両由来株について分子疫学的解析を試み UPGMA (unweight pair group method using

arithmetic averages) 法によりクラスター解析を行い感染源や感染経路の関連性について検討した。

2. 材料および方法

1) 供試菌株

供試菌株のうち、環境由来株は、1998年10月から2000年11月にかけて西日本地域および東日本地域の海水、海泥およびカキより分離した計859株とヒト臨床由来株は、わが国においてヒトの感染症から分離された臨床分離株および外国の菌株保存機関から分与されたヒト感染症由来62株の計921株を用いた。なお、薬剤感受性試験には環境由来133株とヒト臨床由来57株の計190株を、分子疫学的解析には環境由来355株とヒト臨床由来65株の計420株をそれぞれ用いた。

2) 血清型別

血清型O1～O23の各抗血清を用いてのセガラス凝集法で行った。なお、O17とO18は他の血清型と共通性が認められるので削除した。

3) 薬剤感受性試験

供試薬剤はβ-ラクタム系9剤、キノロン系2剤、マクロライド系1剤、クロラムフェニコール系1剤、テトラサイクリン系3剤、アミノグリコシド系3剤およびリンコマイシン系1剤の計20薬剤を用い、MICの測定は日本化学療法学会標準法³⁾に準拠して寒天平板希釈法で行った。

4) パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) による解析

PFGE法は、Schwartzら⁴⁾や満田ら⁵⁾の方法に準拠し、供試した菌株のDNAの切断に用いる制限酵素は八柳ら⁶⁾に準拠してSfi I (Toyobo) およびNot I (Toyobo) を用いた。また、PFGEパターンの解析はPFGEパターンを画像データ解析ソフト (BioNumerics ver3.5 : Applied Maths) で解析し菌株間の類似度をUPGMA法を用いてクラスター解析し系統樹を作成後、山田ら⁷⁾に準拠し類似度89%以上を同一群として分類した。

3. 結果

1. 各由来別における血清型別状況

環境由来株およびヒト臨床由来株における血清型別状況をTable 1に示した。海水由来では100株中73

株 (73.0%) が10菌型に型別され、O7が43株 (43.0%) と最も多く、次にO4が8株 (8.0%)、O19が4株 (4.0%) などであったが、残り27株 (27.0%) は型別不能であった。ヒト臨床由来では、62株中54株 (87.1%) が8菌型に型別され、O4が27株 (43.5%) と最も多く、次にO7が8株 (12.9%)、O6が7株 (11.3%)、O1が5株 (8.1%) などであったが、残り8株 (12.9%) は型別不能であった。また環境由来株とヒト臨床由来株を比較すると、環境由来株ではO7がヒト臨床由来株に比べ多く認められたが、ヒト臨床由来株ではO4とO6が環境由来株に比べ多く認められ、両由来株は血清型において差異が認められた。

2. 分離株の地域別における血清型別状況

地域別における血清型別状況をTable 2に示した。東日本地域では、供試した850株中588株 (69.2%) が18菌型に型別され、O7が359株 (44.6%)、O4が46株 (5.7%)、O19とO22が各33株 (4.1%)、O2が21株 (2.6%) などであったが、残り217株 (27.0%) は型別不能であった。西日本地域では、54株中35株 (64.8%) が8菌型に型別され、O7が11株 (20.4%) と最も多く、次にO4が6株 (11.1%)、O23が5株 (9.3%) などであったが、残り19株 (35.2%) は型別不能であった。このことから、両地域において共通してO7やO4に型別される菌株が多く認められた。

3. 環境由来株およびヒト臨床由来株に対する各種薬剤のMIC分布

環境由来133株と臨床由来株57株に対する各種薬剤のMIC分布とMIC₉₀をTable 3とTable 4に示した。環境由来株についてMIC₉₀値で比較すると、MEPMが0.025 μg/mlと最も高い抗菌力を、次にCPFXが0.05 μg/ml、DOXYとMINOが各0.2 μg/ml、CTXとTCが各0.39 μg/ml、LMOX、CPおよびNAが各0.78 μg/ml、PIPCが1.56 μg/ml、ABPC、GMおよびEMが各3.13 μg/ml、CPZが6.25 μg/ml、CER、CET、KM、CMZおよびAMKが各12.5 μg/mlと続き、LCMが50 μg/mlと最も低い抗菌力を示し、リンコマイシン系に耐性株が認められた。

ヒト臨床由来についてMIC₉₀値で比較すると、CPFXが0.05 μg/mlと最も高い抗菌力を、次にMINOが0.1 μg/ml、DOXYが0.39 μg/ml、TCとNAが各

Table 1 Serotype of *V. vulnificus* isolated from environmental and clinical specimens

Serotype	No. (%) of strains			
	environmental			clinical
	sea water	sea mud	oyster	
O1	1 (1.0)	1 (2.2)	1 (0.1)	5 (8.1)
O2			21 (2.9)	3 (4.8)
O3	2 (2.0)	1 (2.2)	9 (1.3)	2 (3.2)
O4	8 (8.0)	4 (8.9)	40 (5.6)	27 (43.5)
O5			1 (0.1)	1 (1.6)
O6	3 (3.0)	2 (4.4)	17 (2.4)	7 (11.3)
O7	43 (43.0)	14 (31.1)	313 (43.8)	8 (12.9)
O8	3 (3.0)		8 (1.1)	
O9				
O10				
O11			1 (0.1)	
O12				
O13			1 (0.1)	
O14		3 (6.7)	5 (0.7)	
O15			7 (1.0)	
O16	1 (1.0)		5 (0.7)	
O17				
O18				
O19	4 (4.0)	2 (4.4)	30 (4.2)	
O20			9 (1.3)	
O21	2 (2.0)		4 (0.6)	
O22	3 (3.0)	2 (4.4)	29 (4.1)	1 (1.6)
O23	3 (3.0)		20 (2.8)	
UT*	27 (27.0)	16 (35.6)	193 (27.0)	8 (12.9)
total	100 (100.0)	45 (100.0)	714 (100.0)	62 (100.0)

*untypable strain

0.78 $\mu\text{g/ml}$, EM が 3.13 $\mu\text{g/ml}$, GM が 12.5 $\mu\text{g/ml}$, CER, CET, KM および AMK が各 50 $\mu\text{g/ml}$ と続き, ABPC, PIPC, CPZ, CTX, CMZ, LMOX, MEPM および LCM が各 100 $\mu\text{g/ml}$ と最も低い抗菌力を示し, β -ラクタム系やリンコマイシン系に耐性株が多く認められた。

4. 制限酵素 *Sfi* I および *Not* I による供試菌株の DNA 切断状況

制限酵素 *Sfi* I および *Not* I による供試菌株の DNA の判読状況は Table 5 に示すとおり, *Not* I では 420 株中 312 株 (74.3 %) が判読されたが, 残りの 108 株 (25.7 %) はスメアとなり判読不能であった。その由

来別の内訳において, 環境由来では 355 株中 273 株 (76.9 %) が判読された。一方, 臨床由来は 65 株中 39 株 (60.0 %) が判読され, 環境由来株に比べ判読率が低い傾向であった。この両由来間の差について χ^2 検定を行ったところ, 両由来間に差異が認められた ($P < 0.05$)。また, DNA の泳動パターンの分子量は, 約 20 ~ 600 kbp の間に 15 本から 22 本のバンドが確認された。*Sfi* I では 420 株中 411 株 (97.9 %) が判読されたが, 残りの 9 株 (2.1 %) はスメアとなり判読不能であった。その由来別の内訳において環境由来では 355 株中 349 株 (98.3 %) が判読された。一方, 臨床由来株は 65 株中 62 (95.4 %) が判読され,

Table 2 Serotype of *V.vulnificus* isolated from east and west Japan

Serotype	Sampling area	
	east Japan	west Japan
O1	3 (0.4)	
O2	21 (2.6)	
O3	12 (1.5)	
O4	46 (5.7)	6 (11.1)
O5	1 (0.1)	
O6	19 (2.4)	3 (5.6)
O7	359 (44.6)	11 (20.4)
O8	9 (1.1)	2 (3.7)
O9		
O10		
O11	1 (0.1)	
O12		
O13	1 (0.1)	
O14	8 (1.0)	
O15	7 (0.9)	
O16	2 (0.2)	4 (7.4)
O19	33 (4.1)	3 (5.6)
O20	9 (1.1)	
O21	6 (0.7)	
O22	33 (4.1)	1 (1.9)
O23	18 (2.2)	5 (9.3)
UT	217 (27.0)	19 (35.2)
Total	805 (100.0)	54 (100.0)

Table 3 Susceptibility distribution of environmental isolates

drug	range($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ABPC	0.78 ~ 100<	1.56	3.13
HPC	≤ 0.006 ~ 12.5	0.05	1.56
CER	0.78 ~ 100<	6.25	12.5
CET	1.56 ~ 100<	6.25	12.5
CPZ	≤ 0.006 ~ 25	0.1	6.25
CIX	≤ 0.006 ~ 25	0.05	0.39
CMZ	1.56 ~ 100	12.5	12.5
IMOX	0.0125 ~ 25	0.2	0.78
MEM	≤ 0.006 ~ 0.05	0.0125	0.025
KM	1.56 ~ 50	6.25	12.5
GM	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
AMK	0.39 ~ 25	6.25	12.5
LCM	6.25 ~ 100<	50	50
EM	0.1 ~ 50	1.56	3.13
TC	0.1 ~ 3.13	0.2	0.39
DOXY	0.1 ~ 0.78	0.2	0.2
MNO	0.05 ~ 0.78	0.1	0.2
CP	0.2 ~ 25	0.39	0.78
NA	0.1 ~ 6.25	0.39	0.78
CHFX	≤ 0.006 ~ 0.1	0.025	0.05

Table 4 Susceptibility distribution of clinical isolates

drug	range($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ABPC	1.56 ~ 100<	3.13	100<
HPC	0.025 ~ 100<	0.39	100<
CER	1.56 ~ 100<	12.5	50
CET	3.13 ~ 100<	12.5	50
CPZ	0.05 ~ 100<	12.5	100<
CIX	0.025 ~ 100<	1.56	100<
CMZ	1.56 ~ 100<	12.5	100<
IMOX	0.2 ~ 100<	1.56	100<
MEM	0.0125 ~ 100<	0.05	100<
KM	1.56 ~ 100<	25	50
GM	1.56 ~ 25	6.25	12.5
AMK	6.25 ~ 100	25	50
LCM	12.5 ~ 100<	100	100<
EM	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
TC	0.05 ~ 0.78	0.39	0.78
DOXY	0.1 ~ 0.39	0.2	0.39
MNO	0.05 ~ 0.39	0.1	0.1
CP	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
NA	0.2 ~ 3.13	0.78	0.78
CHFX	≤ 0.006 ~ 0.05	0.025	0.05

環境由来株に比べ判読率が若干低かったが χ^2 検定を行ったところ差異は認められなかった ($P > 0.01$)。また、DNAの泳動パターンの分子量は20～500 kbpの間に15本から22本のバンドが確認された。これらのことから両酵素による判読率を比較すると *Sfi* I では97.9%が判読可能であったが、*Not* I では76.9%と低く、本菌のDNAパターンの判読には *Sfi* I が優れていた。

5. 供試菌株の解析状況

制限酵素 *Sfi* I により判読された411株（環境由来株349株、臨床由来株62株）のPFGE像を基に系統樹を作成し、UPGMA法によるクラスター解析を行ったところ解析パターンは多岐に渡っていた。さらに血清型が同一型にあっても菌株間の類似度が89%以上を示す株は少なかった。そこで材料採取日、採取場所、血清型が異なる菌株を選び、その菌株を用いてクラスター解析を行い、類似度を89%以上を認めた菌株の組合せで分類した結果、18組に複数の菌株が認められた。その組合せの中で同一血清型に該当したのは18組中4組（22.2%、3 [O7], 4 [O7], 11 [O4], 15 [O22]）であったが残りの14組（77.8%）の血清型は異なっていた。由来別において同一場所で採取した材料から分離されたものが18組中10組（55.6%、1 [稲毛], 2 [千葉], 3 [稲毛], 8 [稲毛], 9 [千葉], 11 [臨床由来], 13 [葛西],

Table 5 Readability of restriction enzyme for environment-derived strain and human clinical isolates

Source	No. of strains	Restriction enzyme	
		<i>Sfi</i> I	<i>Not</i> I
sea water	86	85 (98.8 %)	75 (87.2 %)
sea sediment	36	35 (97.2 %)	34 (94.4 %)
oyster	233	229 (98.3 %)	164 (70.4 %)
sub total	355	349 (98.3 %)	273 (76.9 %)
clinical isolate	65	62 (95.4 %)	39 (60.0 %)
total	420	411 (97.9 %)	312 (74.3 %)

14 [お台場], 15 [お台場], 18 [お台場]) であったが, 残りの8組 (44.4 %) は採取場所が異なっていた。なお, 同一組合せの菌株のうち10組中1組 (10.0 %, 6) は東日本地域の海水から分離されたものと西日本地域のカキから分離されたものであった。由来別では18組中15組 (83.3 %, 1~9, 12~16, 18) が環境由来株, 2組 (11.1 %, 11, 17) が臨床由来株, 1組 (5.6 %, 10) が環境由来株と臨床由来株であった。

4. 考 察

著者らは, 前報で自然環境下の海水, 海泥およびカキに本菌が高率に分布していることを明らかにした¹⁾。しかし, 本菌に関する疫学的な検討や各種薬剤に対する系統的な検討については行われていないのが実情である。そこで, 今回環境由来株とヒト臨床由来株について本菌の血清型別, 薬剤感受性試験および分子疫学的手法である PFGE 法を行い, 両由来株の疫学的検討を試みた。

両由来株について血清型別を行ったところ, 既存の血清型 (O1~O18) において, 環境由来株では60.0 %, 臨床由来株では85.5 %がそれぞれ型別されたが, 環境由来株では型別不能が多く認められた。そこで著者らは型別不能株の中から菌株を無作為に選り新たにO19~O23の5菌型の血清型を追加し型別を行ったところ, 環境由来株は新たに12.6 %が型別された。型別された内訳において環境由来株ではO7に43.1 %と最も多く, 次にO4が6.1 %であった。一方, ヒト臨床由来株ではO4が43.5 %と最も多く, 次にO7が12.9 %であり, 両由来株はともにO7や

O4が多く認められることから, 両血清型と起病性との関連性が考えられた。ヒト臨床由来株の血清型別については, 宮坂ら⁸⁾ が熊本県内で集団発生した患者から分離した株について型別を行い, O4 (55.6 %), O7 (30.0 %) およびO3・O6 (11.1 %) の3菌型に型別している。この成績と比較すると著者らが環境由来から分離した血清型とはほぼ同様な成績であることから, 環境由来株が起病性に密接に関連しているものと考えられた。

20薬剤について薬剤感受性試験を行い, MIC₉₀で比較したところ, 環境由来株では全薬剤に対して比較的感受性を示したが, ヒト臨床由来株ではβ-ラクタム系抗菌剤およびアミノグリコシド系抗菌剤において耐性株が認められた。ヒト臨床由来株について, 健山ら⁹⁾ の成績ではCEZが12.5 μg/ml, CEXが25 μg/ml, CMZが25 μg/mlおよびCTXとCPZが各<3.13 μg/mlを示していたが, 著者らの成績ではCMZのMIC₅₀は, 健山らに比べ1管高い12.5 μg/mlを示したが, CTXは健山らに比べ低い感受性を示し, 若干異なっていた。また, 伊東ら¹⁰⁾ の成績ではPIPCとCPZのMICが≤0.025 μg/ml, CMZが6.25 μg/mlを示していたが, 著者らのヒト臨床由来株の成績と比べると, 著者らの成績は高い耐性を示し, 伊東らとは異なっていた。この要因として, この20年近くの間に菌が耐性化したことが考えられた。今回, 供試した環境由来株とヒト臨床由来株をMIC₉₀で比較すると, ABPC, PIPC, CER, CEZ, CPZ, CTX, CMZ, LMOX, MEPM, KMおよびAMKの計11薬剤は環境由来株では感受性を示したがヒト臨床由来株では耐性を示す株が多く両由来間で差が認められた。しかし, EM, TC, DOXY,

MINO, CP, NA および CPFY の計7剤に対して両由来株は共通して感受性が高く、本菌感染症の治療薬として有効な抗菌剤であることが考えられた。今回供試した薬剤の MIC₉₀ を出口ら¹¹⁾ がヒト臨床由来の *V. parahaemolyticus* で検討した成績と比較するとほぼ同様の成績であった。しかし、テトラサイクリン系の MINO において、出口らは 1.56 µg/ml を示していたが、著者らの成績では、出口らに比べ4管高い値であった。

分子生物学的手法である PFGE 法を用い、環境由来株と臨床由来株について、酵素別 (*Not* I, *Sfi* I) における DNA の判読率と泳動パターンの類似性を検討した。その結果、*Not* I では 76.9 %, *Sfi* I では 97.9 % に DNA パターンが判読され、本菌の判読には *Sfi* I が優れていることが明らかとなった。制限酵素による判読不能の原因の1つとして、大谷¹²⁾ は同一感染と考えられる患者由来株を用いて *Xba* I の制限酵素で切断後、泳動を行っているが供試した菌株のすべてがスミア状態になり切断バンドのパターンが得られないことを報告している。また、坂田ら¹³⁾ は大腸菌 O111, O26 において、*Apa* I の制限酵素を用いて、泳動を行ったところ判読可能なバンドを得ているが *Not* I では DNA の消化が出来ず、バンドを確認出来なかったことを報告している。さらに、八柳ら⁶⁾ は、腸炎ビブリオで *Sfi* I と *Not* I の両制限酵素を用いて検討を行ったところ、*Sfi* I より *Not* I の方が優れていると報告している。しかし、今回の成績においては八柳らと異なり本菌の DNA パターンの判読には *Sfi* I が優れていた。この原因として菌種間の差によるものと考えられた。泳動パターンにおいて、*Sfi* I では分子量が約 20 ~ 600 kb の間に 15 本から 22 本のバンドが、*Not* I では分子量が約 20 ~ 500 kbp の間に 15 本から 22 本のバンドがそれぞれ認められた。宮坂ら⁸⁾ はヒトの *Vibrio vulnificus* 感染症から分離された *V. vulnificus* を制限酵素 *Sfi* I を用いて検討したところ、分子量が約 20 ~ 500 kbp の間に 12 本から 15 本のバンドを、*Not* I では分子量が約 20 ~ 700 kbp の間に 11 本から 15 本のバンドをそれぞれ認めている。著者らの成績と比較すると、*Sfi* I では宮坂らのバンドの位置範囲とほぼ一致したが、バンド数にやや差異が認められた。この原因として、菌株間の差による可能性が考えられた。

PFGE 法により得られた成績を基に UPGMA 法を用いてクラスターを試みたが、制限酵素 *Sfi* I や *Not* I において各由来間にバラツキが認められ明確な差異は認められなかった。Ryang ら¹⁴⁾ は韓国で分離された臨床由来株について、PFGE 法を用いて疫学的検討を行ったが類似度 89 % 以上を示す株は認めていない。わが国においても宮坂らが熊本で集団発生したと思われる臨床由来株について PFGE 法で検討を行ったが遺伝子型が異なっていた。しかし、著者らは同一時期に熊本県近隣で発生した事例から分離された臨床由来2株について、血清型別を行い、O4 群に型別された菌株 (11039, 11040) を PFGE 法により分子疫学的解析を試みたところ、類似度 90 % 以上を示し、同一クローンから感染した可能性が示唆された。しかし、今回供試した菌株の成績は、全般的に Ryang らや宮坂らと同様に多種のバンドを示すものが多く、関連性が低いことで一致した。また、一部ではあるが類似度 89 % 以上で一致する 18 組のクラスターを認め、その中には分離時期が異なっているが血清型と採取場所が一致しているものも認められていることから本菌が定着していることが考えられた。

謝 辞

稿を終えるに当たって貴重な菌株を分与いただいた各研究機関の諸先生方、また実験に協力頂きました麻布大学環境保健学部微生物学研究室々員各位に深謝します。

5. 要 約

Vibrio vulnificus 感染症の感染経路や感染源を解明する一環として、環境由来株とヒト臨床由来株について血清型別、各種抗菌剤の薬剤感受性試験および PFGE 法により DNA 解析を行い分子疫学的検討を行ったところ、以下の成績が得られた。

1. 由来別に血清型を検討したところ、環境由来では 72.5 % が 18 菌型に型別され、O7 が 43.1 % と最も多く、次に O4 が 6.1 % などであった。ヒト臨床由来では 87.1 % が 8 菌型に型別され、O4 が 43.5 % と最も多く、次に O7 が 12.9 % などであった。その地域別において、東日本地域では 69.2 % が 18 菌型に型別され、O7 が 44.6 %, O4 が 5.7 % などに、西日本地域では 64.8 % が 8 菌型に型別され、O7 が 20.4 % と最も多

く、次に O4 が 11.1 % などにそれぞれ型別された。

2. 由来別に薬剤感受性を MIC₉₀ で比較検討したところ、環境由来では ABPC, PIPC, CPZ, CTX, LMOX, MEPM, GM, EM, TC, DOXY, MINO, CP, NA および CPFX に感受性を示したが, CER, CET, CTX, CMZ, KM および LCM に対して耐性株が認められた。ヒト臨床由来では EM, TC, DOXY, MINO, CP, NA および CPFX に感受性を示したが, ABPC, PIPC, CER, CET, CPZ, CTX, CMZ, LMOX, MEPM, KM, GM, AMK および LCM に対して耐性株が認められた。

3. Not I と Sfi I の 2 種類の酵素を用いてそれぞれ DNA 切断を行い, PFGE 法で DNA 解析を検討したところ, 酵素別の DNA パターン判読率は, Not I では 76.9 %, Sfi I では 97.9 % を示し本菌の DNA パターン判読率は Sfi I が優れていた。

4. Sfi I によって DNA パターンが判読された菌株を UPGMA 法で解析を行ったところ, 類似度が低く多岐のクラスターを示し, 本菌感染症は複数のクローンから発生していることが明らかとなった。また, 由来等が異なるが類似度が 89 % 以上の類似度で, 臨床株と環境株の組合せが認められることから, 環境からヒト, ヒトから環境への感染の可能性が考えられた。

文 献

- 1) 大仲賢二, 古畑勝則, 井口光二, 原元宣, 福山正文: *Vibrio vulnificus* 感染症に関する基礎的研究: 海水, 海泥及びカキからの本菌分離状況. 感染症誌, 76: 528-35, 2002.
- 2) Shimada T, Sakazaki R: On the serology of *Vibrio vulnificus*. Jpn J Med Sci Biol, 37: 241-46, 1984.
- 3) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. Chemotherapy, 29: 76-9, 1981.
- 4) Schwartz D.C. and Cantor C.R.: Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed-field gradient gel electrophoresis. Cell, 37: 67-75, 1984.
- 5) 満田年宏, 荒井一二, 川本進, 横田俊平: パルスフィールドゲル電気泳動法による感染症の分子疫学的解析. 日細誌, 50: 1077-86, 1995.
- 6) 八柳潤, 斉藤志保子: 腸炎ビブリオ (O3:K6) のパルスフィールドゲル電気泳動による解析. 日食微誌, 17: 107-108, 2000.
- 7) 山田三紀子, 武藤哲典, 北爪晴恵, 鈴木正弘: 横浜市内で発生した *Shigella sonnei* による集団発生事例由来株の分子疫学的解析. 感染症誌, 73: 923-28, 1999.
- 8) 宮坂次郎, 徳永晴樹, 甲木和子: 1) 熊本県で発生した *Vibrio vulnificus* 感染症事例の細菌学的検討. 熊本保健研所報, 31: 31-6, 2001.
- 9) 健山正男, 比嘉昌文, 嘉数朝一, 宮城睦子, 志喜屋孝伸, 新垣民樹, 他: 肝硬変患者に合併した *Vibrio vulnificus* 敗血症の 2 例. 感染症誌, 63: 156-61, 1989.
- 10) 伊東秀夫, 加悦みわ子, 佐伯裕二, 田中真一, 永沢善三, 南雲文夫, 他: ショック, DIC, 壊死性筋膜炎を伴う *Vibrio vulnificus* 敗血症の一救命例. 感染症誌, 60: 695-700, 1986.
- 11) 出口浩一, 鈴木由美子, 石原理加, 石井由紀子, 中澤ありさ: ペロトキシン産生性大腸菌 O-157 を含む感染性腸炎原因菌の薬剤感受性パターン. Jpn J Antibiotics, 5: 829-43, 1997.
- 12) 大谷勝実: 鹿肉の生食による腸管出血性大腸菌 (O157:H7) 感染事例について—山形県. 病原微生物検出状況, 18: 5, 1997.
- 13) 坂田慎治, 福山正文, 古畑勝則, 松田基夫, 鈴木潤, 山本静雄他: ヒト下痢症および乳牛から分離された Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分子疫学的検討. 感染症誌, 76: 96-101, 2002.
- 14) Dong Wook Ryang, Suck Bong Koo, Myung Geun Shin, Jong Hee Shin and Soon Pal Suh: Molecular Typing of *Vibrio vulnificus* Isolated from Clinical Specimens by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. Jap J Infect Dis, 52: 38-41, 1999.