

|              |   |            |         |
|--------------|---|------------|---------|
| 氏名 (本 (国) 籍) | Tran Thi Hong To (ベトナム社会主義共和国)  |            |         |
| 主指導教員氏名      | 東京農工大学 准教授 林 谷 秀 樹  |            |         |
| 学位の種類        | 博士 (獣医学)  |            |         |
| 学位記番号        | 獣医博甲第529号   |            |         |
| 学位授与年月日      | 平成31年3月13日  |            |         |
| 学位授与の要件      | 学位規則第4条第1項該当  |            |         |
| 研究科及び専攻      | 連合獣医学研究科<br>獣医学専攻   |            |         |
| 研究指導を受けた大学   | 東京農工大学  |            |         |
| 学位論文題目       | Epidemiological Studies on <i>Vibrio parahaemolyticus</i><br>in the Mekong Delta of Vietnam<br>(ベトナム・メコンデルタにおける <i>Vibrio</i><br><i>parahaemolyticus</i> に関する疫学的研究) |            |         |
| 審 査 委 員      | 主査  | 東京農工大学 教授  | 白 井 淳 資 |
|              | 副査  | 帯広畜産大学 教授  | 小 川 晴 子 |
|              | 副査  | 岩手大学 教授    | 寺 嶋 淳   |
|              | 副査  | 東京農工大学 准教授 | 林 谷 秀 樹 |
|              | 副査  | 岐阜大学 教授    | 浅 井 鉄 夫 |
|              | 副査  | 岐阜大学 教授    | 朝 倉 宏   |

### 学位論文の内容の要旨

*Vibrio parahaemolyticus* は食品媒介性疾病の代表的な病原体であり、その感染は主に海産物を介して起こることが知られている。最も重要な病原因子は *tdh* 遺伝子にコードされる耐熱性溶血毒 (TDH) と *trh* 遺伝子にコードされる耐熱性毒素関連溶血毒 (TRH) である。ベトナムでは、人の *V. parahaemolyticus* 感染は、1983 年から報告されている。ベトナムでは人の *V. parahaemolyticus* 感染については報告がみられるものの、環境における本菌の分布についてはほとんど報告がみられない。また、近年、*V. parahaemolyticus* はエビの急性肝臓炎壊死症 (AHPND) の重要な病原体であることが特定された。この病気は、世界のエビ養殖産業に、約年 1 億ドルの経済的損失を与えている。ベトナムにおいては、AHPND は 2010 年に初めて発生がみられ、2011 年と 2012 年にメコンデルタにおいてそれぞれ 52, 200 ha および 39, 000 ha のエビ養殖場で発生した。研究者は、*V. parahaemolyticus* のプラスミドにコードされている、*Photobacterium* が産生する昆虫に関係する *pir* 毒素に類似した毒素を産生する *pir<sup>v</sup>* 遺伝子が AHPND に関与していることを指摘している。しかし、メコンデルタで AHPND に関与する *V. parahaemolyticus* の分布についてはよくわかっていない。

本研究では、メコンデルタにおける海産物や水における人やエビに病原性を示す *V. parahaemolyticus* の分布について検討した。また、さらに、人やエビに病原性を示す *V. parahaemolyticus* の分離菌株について、遺伝学的並びに生物学的な検討を加え、以下の結果を得た。

### 1. ベトナム・メコンデルタにおける海産物と水環境からの人に病原性を示す *V. parahaemolyticus* の分離

2015～2016年に、海産物385検体ならびに水64検体、計449検体について、人に病原性を示す *V. parahaemolyticus* の検出を行った。海産物385検体のうち、332(86.2%)検体は *V. parahaemolyticus* 陽性で、25(6.5%)検体は、*tdh* または *trh* 遺伝子を持つ病原性 *V. parahaemolyticus* であった。*tdh* 陽性 *V. parahaemolyticus* は22(5.7%)検体から、*trh* 陽性 *V. parahaemolyticus* は5(1.3%)検体から検出された。人病原性 *V. parahaemolyticus* 25菌株のうち、2株は *tdh* と *trh* の両方の遺伝子を保有しており、それ以外の23菌株は *tdh* か *trh* のいずれかを保有していた。水64検体のうち、50(78.1%)検体から *V. parahaemolyticus* が検出されたが、*tdh* 陽性の菌株は検出されず、1検体(1.6%)から *trh* 陽性の菌株が検出された。病原性を示す26菌株は、6種の0抗原に型別され、03:K6が4菌株検出された。これらの結果から、人に病原性を示す *V. parahaemolyticus* は、ベトナム・メコンデルタで広く海産物や水環境に分布しているものと思われた。

### 2. ベトナム・メコンデルタにおけるエビ、貝ならびに水環境からの急性肝臓壊死症(AHPND)起因 *V. parahaemolyticus* の分離

2015～2017年に、市販エビ330検体、養殖エビと貝87検体ならびに水64検体、計481検体からAHPND起因 *V. parahaemolyticus* の分離を行った。*pir<sup>vp</sup>* 遺伝子陽性 *V. parahaemolyticus* は市販の貝298検体中2(0.7%)検体から、養殖エビ71検体中7(9.9%)検体ならびにエビ養殖場の水42検体中2(4.8%)検体から分離された。これらの菌株は、血清群01と03に型別され、01が最も多かった。これらの結果から、AHPND起因 *V. parahaemolyticus* は、ベトナム・メコンデルタの環境に広く分布しているものと思われた。

### 3. ベトナム・メコンデルタで分離された人病原性ならびAHPND起因 *V. parahaemolyticus* の遺伝的ならびに生物学的特徴

人病原性ならびにAHPND起因 *V. parahaemolyticus* について、遺伝的ならびに生物学的特徴を解析した。人病原性 *V. parahaemolyticus* については、streptomycin(84.6%)、ampicillin(57.7%)ならびにsulfisoxazole(57.7%)に対して耐性を示した。また、26菌株中23菌株が多剤耐性を示した。分離された03:K6の4菌株はいずれも汎流行株であることを示すGS-PCR陽性であった。また、これらの菌株はPFGE解析で遺伝的に多様性を示し、日本由来株とは遺伝的に異なっていたが、中国由来株とは類似していた。一方、AHPND起因 *V. parahaemolyticus* については、colistin(100.0%)、ampicillin(93.8%)ならびにstreptomycin(87.5%)に対して耐性を示し、すべての菌株は、多剤耐性であった。供試した5菌株は、実験的にエビにAHPNDを起こした。これらのことから、ベトナム・メコンデルタで分離された人病原性ならびにAHPND起因 *V. parahaemolyticus* は、人やエビに病原性を示す可能性が高く、人やエビ養殖のリスクになることが示された。

以上のように、本研究はベトナム・メコンデルタには人病原性ならびにAHPND起因 *V. parahaemolyticus* が広く海産物や環境に分布すること、ならびにその遺伝学的ならびに生物学的特性を明らかにしたものである。本研究で得られた成績は、ベトナムにおける人ならびにエビにおける *V. parahaemolyticus* 感染症の予防対策を確立する上で貴重な知見を提供し得るものである。

## 審査結果の要旨

本研究は、ベトナム・メコンデルタにおける海産物や水における人やエビに病原性を示す *Vibrio parahaemolyticus* の分布について検討した。また、さらに、人やエビに病原性を示す *V. parahaemolyticus* の分離菌株について、遺伝学的並びに生物学的な検討を加えた。

申請者は、まず、ベトナム・メコンデルタで海産物 385 検体ならびに水 64 検体、計 449 検体から人に病原性を示す *V. parahaemolyticus* の検出を行った。その結果、病原性遺伝子である *tdh* または *trh* 遺伝子を持つ病原性 *V. parahaemolyticus* は、26 検体 (5.8%) から分離された。また、病原性を示す 26 菌株は、6 種の O 抗原に型別され、O3:K6 が 4 菌株検出された。これらの結果から、人に病原性を示す *V. parahaemolyticus* は、ベトナム・メコンデルタで広く海産物や水環境に分布していることが明らかになった。

次いで、市販エビ 330 検体、養殖エビと貝 87 検体ならびに水 64 検体、計 481 検体からエビ急性肝臓炎壊死症 (AHPND) 起因 *V. parahaemolyticus* の分離を行った。*pir<sup>vp</sup>* 遺伝子陽性 *V. parahaemolyticus* は市販の貝 298 検体中 2 (0.7%) 検体から、養殖エビ 71 検体中 7 (9.9%) 検体ならびにエビ養殖場の水 42 検体中 2 (4.8%) 検体から分離された。これらの菌株は、血清群 01 と 03 に型別され、01 が最も多かった。これらの結果から、AHPND 起因 *V. parahaemolyticus* は、ベトナム・メコンデルタの環境に広く分布しているものと推測された。

最後に、人病原性ならびに AHPND 起因 *V. parahaemolyticus* について、遺伝的ならびに生物学的特徴を解析した。人病原性 *V. parahaemolyticus* については、streptomycin (84.6%), ampicillin (57.7%) ならびに sulfisoxazole (57.7%) に対して耐性を示し、ほとんどの菌株が多剤耐性を示した。また、分離された O3:K6 の 4 菌株はいずれも汎流行株であることを示す GS-PCR 陽性であった。また、これらの菌株は PFGE 解析で遺伝的に多様性を示した。一方、AHPND 起因 *V. parahaemolyticus* については、colistin (100.0%), ampicillin (93.8%) ならびに streptomycin (87.5%) に対して耐性を示し、すべての菌株は、多剤耐性であった。供試した 5 菌株は、実験的にエビに AHPND を起こすことを確認した。

以上のように、申請者はベトナム・メコンデルタには人病原性ならびに AHPND 起因 *V. parahaemolyticus* が広く海産物や環境に分布すること、ならびにその遺伝学的並びに生物学的特性を明らかにした。本研究で得られた結果は、ベトナムにおける人ならびにエビにおける *V. parahaemolyticus* 感染症の予防対策を確立する上で貴重な知見を提供しうるものであると考えられる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

### 基礎となる学術論文

題 目 : Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood and water environment in the Mekong Delta, Vietnam

著 者 名 : Tran T.H.T., Yanagawa, H., Nguyen K. T., Hara-Kudo, Y., Taniguchi, T. and Hayashidani, H.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 80(11):1737-1742, 2018