所謂“ホタルエビ”の原因はルミネセンス産生性の *Vibrio cholerae* non-O1 である

島田 俊雄¹・荒川 英二¹・伊藤健一郎¹・小迫 芳正²
沖津 忠行³・山井 志朗³・西野麻知子⁴・中島 拓男⁴

¹ 国立予防衛生研究所 〒162 東京都新宿区戸山1-23-1
² 理化学研究所 〒351-01 埼玉県和光市広沢2-1
³ 神奈川県衛生研究所 〒241 神奈川県横浜市旭区中尾町52-2
⁴ 滋賀県琵琶湖研究所 〒520 滋賀県大津市打出浜1-10

〔受付：1995年2月7日，受理：1995年2月27日〕

1994年7月，琵琶湖の生け簀で青白く光るスジエビ（所謂ホタルエビ）が大量に発見され新聞やテレビで報道されるなど注目された。採取後発光したスジエビは次第に衰弱し，その殆どがその日のうちに死亡した（所謂エビの伝染性光り病）。死んだエビの甲殻から発光細菌が分離された。

同一のエビから分離された発光性4菌株は，TCBS 寒天培地上で白糖非分解性の青色集落，PMT 寒天培地上ではマンノース分解性の黄色集落を形成し，無塩ブイヨンおよび42°Cで发育した。トリプトソーヤ寒天およびブイヨンで，22°C培養で最も強い発光が見られたが，30°Cでは弱かった。これらの菌株はその形態・生理・生化学的性状が *Vibrio cholerae* non-O1 または *Vibrio mimicus* に類似していたが，その代表株（838-94）によるDNA相同性試験では *V. cholerae* の基準株（ATCC 14035）と高い相同性（79%）を示したが，*V. mimicus* のそれとは低い相関しか認められなかった。従って，これらの分離菌株はルミネセンス産生性 *V. cholerae* non-O1 と同定され，またその血清型はいずれも O28 と型別された。一方，該菌株はコレラ毒素（CT）を産生せず，また CT および NAG-ST のいずれの遺伝子も保有していなかった。

所謂発光細菌は世界中のどこの海にも存在しているが，その数が少ない場合には見ることは出来ず，海水中で大量に発生した場合やイカ，甲殻類等の海産魚類の体表で増殖したときに初めて光

として肉眼で観察することができる。その発光機序は全ての発光細菌で同様で，菌の産生する発光基質ルシフェリンがルシフェラーゼの酵素作用によって酸化されオキシンフェリンとなるときに発光する。

発光性（ルミネセンス産生性）海水細菌はその多くが *Vibrio* および *Photobacterium* 属に含まれるが（1），*Vibrio* 属でルミネセンス産生性の菌種には *V. cholerae*，*V. fischeri*，*V. harveyi*，*V. logei*，*V. mediterranei*，*V. orientalis* および *V. splendidus* が知られている。これらのうち，ヒトの症例からよく分離されるのは *V. cholerae* である。一方，腸内細菌科の一菌種である *Xenorhabdus*

Toshio SHIMADA¹，Eiji ARAKAWA¹，Kenichiro ITOH¹，Yoshimasa KOSAKO²，Tadayuki OKITSU³，Shiro YAMAI³，Machiko NISHINO⁴ and Takuo NAKAJIMA⁴
Causative Agent of the So-Called “Light Disease of Shrimps” Is Luminescent *Vibrio cholerae* Non-O1

¹ National Institute of Health, Shinjuku-ku, Tokyo 162

² Institute of Physical and Chemical Research, Wako 351-01

³ Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory, Asahi-ku, Yokohama 241

⁴ Lake Biwa Research Institute, Ohtsu 520

luminescens もルミネセンス産生性で、通常昆虫から分離されるが、極めて稀にヒトの創傷感染から分離された事例がある(2)。

1994年7月中頃滋賀県の琵琶湖の生け簀で青白く光るエビ、所謂ホタルエビ(12~14)が大量に発見され、新聞やテレビで報道されるなど多方面で注目された。これらのエビは体長3cm前後のスジエビ(*Palaemon paucidens* de Haan)で、最初は生け簀の中にごく少数しか居なかったものが、日を迫る毎に増え続けて行った。それらの発光エビの多くは発光していない個体に比べ行動が極めて緩慢で、採集したエビは数時間で全て死亡した。エビが死亡した後、発光は次第に衰えつつも1~2時間持続した。これらのスジエビは所謂エビの伝染性光り病(12~14)に罹ったものと思われ、死んだエビの甲殻から発光ビブリオが分離された。今回、これらの分離菌株の分類学的位置づけをすると共に、所謂ホタルエビに関する研究の歴史的経過も併せて考察する。

材料および方法

供試菌株：発光スジエビ(図1)の死骸の甲殻から分離された発光ビブリオ4株(838-94, 892-94, 893-94, 894-94)を供試した。また、*V. cholerae* O1-O155の参考菌株およびR(ラフ型)の参考菌株(CA385)、*V. cholerae*の基準株(ATCC 14035)および*V. mimicus*の基準株(ATCC 33653)も併せて使用した。

形態・生理・生化学的性状および薬剤感受性テスト：これらの性状テストは常法に準じて行ない(8)、薬剤感受性テストは米国臨床検査標準委員会(NCCLS)の基準に基づき、センシ・ディスク(コトリムキサゾール、カナマイシン、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール、アンピシリン；BBL)を用いて実施した。発光性(ルミネセンス産生性)は供試菌をトリプトソーヤ寒天培地およびグイヨン(日水)に接種し、22°C、30°Cおよび35°Cで1夜培養したのち暗室で観察し、ポラロイド写真で撮影した。

DNA 相同性テスト：供試菌をハートインフュージョンブロス(Difco)で1夜培養後、DNAの抽出を従来で行なった(5)。標識DNAはフォトビオチン・ラベリング・システム(Gib-

coBRL)を使用した。マニュアルに従って、838-94, *V. cholerae* ATCC 14035 および *V. mimicus* ATCC 33653 をラベリングした。DNA相同値は江崎の方法(4)によって、マイクロプレートを使用し、40°Cで6時間反応後、蛍光分光光度計(Titertek Fluoroscanner II)で蛍光を測定することにより求めた。

血清型別および凝集素吸収テスト：*V. cholerae*の血清型別はShimadaら(9, 10)の方法によって行なったが、抗O血清は全てR抗体を吸収したものを使用した。また、必要に応じて凝集素吸収テストを実施した。凝集テスト用の抗原は加熱抗原(100°C, 1時間)を使用した。

コレラ毒素(CT)産生性テストおよび毒素遺伝子検出：CT産生性はBTテスト「ニッスイ」CT(ビーズELISA法)で検討した。また、CTおよびNAG-ST(耐熱性エンテロトキシン)遺伝子の保有検査は、それぞれMiyagiら(6)およびTakedaら(11)の記載した特異DNAプローブ(東洋紡)を用いたコロニー・ハイブリダイゼーションによって行なった。

成 績

供試菌4株はいずれもTCBS寒天培地(日水)上で*V. mimicus*に似た白糖非分解性の青緑色集落を作り(図2)、またPMT寒天培地(日水)上ではマンノース分解性のコレラ菌に類似した黄色集落を形成した(図3)。電子顕微鏡での観察では、コレラ菌と同様なやや湾曲した空豆状の形態を示し、一端に1本の鞭毛をもっていた(図4)。

供試した4株の生理・生化学的性状を表1に示した。全株とも*V. cholerae*の定義に一致する性状を示したものの、これらの菌株は白糖非分解性、VP反応陰性かつルミネセンス産生性であることからDesmarchelierら(3)が指摘しているように、*V. mimicus*とのDNA相同性試験による鑑別が必要となった。

供試菌の代表株838-94と*V. cholerae*および*V. mimicus*の基準株(それぞれATCC 14035およびATCC 33653)とのDNA/DNAハイブリダイゼーションの成績を表2に示した。838-94株は*V. cholerae*の基準株と高い相同性(79%)を示

図1. 所謂ホタルエビの写真 (朝日新聞社提供)

したが、*V. mimicus* とは低い (45%) 相関しか認められなかった。一方、*V. cholerae* の基準株は 838-94 株とその相同性が82%であったが、*V. mimicus* とのそれは40%に過ぎなかった。また、*V. mimicus* の基準株は両者との DNA 相同性は約40%で、これら二者との関係は薄かった。以上

の結果から、ホタルエビ由来の発光細菌は *V. cholerae* に該当することが明らかになった。

一方、分離菌の全株ともトリプトソーヤ寒天培地 (日水) 上で、22°C で1夜培養した菌で強い発光が見られたが、30°C では極めて弱く、それ以上の温度ではあまりよくその発光は観察できな

図2. 838-94 株の TCBS 寒天培地上の集落 (37°C, 24時間培養)

図3. 838-94 株の PMT 寒天培地上の集落

図4. 838-94 株の電子顕微鏡写真

かった(図5)。その発光性はブイヨン培養でも同様の傾向がみられた。

また、これらの菌株は表1に示した6薬剤に全て感受性を示した。

V. cholerae と同定された発光菌4株は *V. cholerae* O28 の抗血清に凝集を示したが、その他の既知の抗O血清(O1-O27, O29-O155)には反応しなかった。一方、分離菌株はそれらの代表菌株838-94で作製した抗O血清(R抗体を吸収済み)にそれぞれ強く凝集を示した。抗O28血清を838-94菌株で吸収した場合、O28菌株に対する抗体価は残ったが、逆に抗838-94血清をO28菌株で吸収したときには、全ての凝集素は完全に吸収された(表3)。

これらの4菌株でCTを産生したものはなく、CT遺伝子もまたNAG-ST遺伝子も保有していなかった。

考 察

今回琵琶湖で発生したスジエビの伝染性光り病、所謂ホタルエビから分離された発光細菌はその形態・生理・生化学的性状から *V. cholerae* または *V. mimicus* が疑われたが、DNA相同性の結果から *V. cholerae* non-O1 と同定された。該菌株は白糖非分解性でかつVP反応陰性であることか

ら、通常その表現型から *V. mimicus* と同定されるが、Desmarchelierら(3)は白糖非分解性の *V. mimicus* および *V. cholerae* について、それらのDNA相同性を検討し、ルミネセンス産生性の白糖非分解性でVP陰性菌株はすべて *V. cholerae* に該当することを立証したが、*V. mimicus* で発光性を有する菌株は全くなかった。また、白糖非分解性でVP反応陽性のものは全て *V. cholerae* non-O1 であった。従って、今回の琵琶湖のホタルエビから分離された菌株も白糖を発酵せず、かつルミネセンス産生性であることから、その表現型のみでルミネセンス産生性(luminescent) *V. cholerae* と同定することができる。今までに *V. mimicus* を同定する上で発光性のテストを実施することはまずなかったことから、*V. mimicus* とされた菌株の中にルミネセンス産生性 *V. cholerae* が誤って紛れ込んでいた可能性は否定できない。今後、所謂ナグビブリオ(*V. cholerae* non-O1 および *V. mimicus*) の同定においては必ず発光性を調べなければならないであろう。

分離菌株の代表株838-94と *V. cholerae* O28 との交差凝集素吸収テストの結果、両者のO抗原はa-a,b型の抗原関係にあることが認められた。しかしながら、抗838-94血清をO28菌株で吸収した場合には、全ての凝集素が完全に吸収される

表 1. ルミネセンス産生性 *Vibrio cholerae* non-O1 (4株)*の生理・生化学的性状

テスト (基質)	反応
オキシダーゼ	+
ルミネセンス	+
発育: TCBS 寒天	+
42°C	+
食塩 (%) 0	+
4	+
5	—
O/129 (10 µg) 感受性	+
インドール	+
フォゲス・プロスカウエル	—
クエン酸 (シモンズ)	+
硫化水素 (TSI)	—
リシンデカルボキシラーゼ	+
オルニチンデカルボキシラーゼ	+
アルギニンジヒドロラーゼ	—
フェニルアラニンデアミナーゼ	—
ウレアーゼ	—
マロン酸	—
溶血性	+
硝酸塩還元	+
ONPG	+
エスクリン分解	—
発酵: ブドウ糖, 酸	+
ブドウ糖, ガス	—
アラビノース	—
マンノース	+
ラフィノース	—
ラムノース	—
白糖	—
アドニトール	—
イノシトール	—
ソルビトール	—
マンニトール	+
CT 産生性および CT 遺伝子	—
NAG-ST 遺伝子	—
コレラ菌 (O1) 抗血清に対する凝集	—
抗生物質感受性:	
コトリムキサゾール	+
カナマイシン	+
テトラサイクリン	+
ストレプトマイシン	+
クロラムフェニコール	+
アンピシリン	+

*これらの 4 株は同一の性状を示した。

ことから, 838-94 菌株は独立した O 群とはせず
に O28 群に統合した。

一方, 琵琶湖で捕獲した48匹のスジエビの甲
殻下に分離菌株 (838-94) の新鮮培養菌を約 10⁵
個接種したところ, 接種後 2 日以内に41匹のエ
ビが死亡し, それらのうちの 3 匹に鮮やかな発
光を認めた (中島ら, 1995, 未発表)。このこ
とから, 該菌のスジエビに対する病原性および発
光性が一応再現されたが, 死亡した全てのエビに発
光が観察されなかった。その理由としては, エビ
の発光が死亡後速やかに衰退し, 各個体の発光性
の観察はエビの死亡直前後に行なう必要があっ
たが, 今回はその点の考慮が十分なされていないこ
と等があげられ, 現在さらに詳細な実験を計画
中である。

今回のホタルエビから分離された菌株はいず
れも CT を産生せず, また CT および NAG-ST 遺
伝子をも保有していないことから, これらの菌株
がコレラ様下痢症や胃腸炎に係わることは少ない
ものと思われる。また, 琵琶湖のスジエビは主
に釣りの餌や佃煮にされ, ヒトがそのまま生で食
べることはまずないということから, それらに起
因するヒトの疾病は余り考慮に入れる必要はな
いであろう。

魚介類の所謂ビブリオ病 (敗血症) は主に *V.*
anguillarum に起因し, *V. cholerae* が淡水魚のビ
ブリオ病の原因とされた報告は少なく, *V.*
cholerae non-O1 (O 群不詳) が琵琶湖の天然およ
び養殖アユに感染 (敗血症) を起こし甚大な被害
を起こしたことや (7), また栃木県的那珂川で
天然アユが *V. cholerae* O9 による全身に出血斑を
伴う敗血症で大量に死亡した報告がみられている
に過ぎない (15)。これらの事例は何れも夏期に
発生し, 特に後者の例では当時記録的な猛暑によ
って川の水温が異常に上昇し, さらに水不足が疾
病の発生に強く影響していたものと推定された。

一方, ナグビブリオは海水由来のエビからかな
り高頻度に分離されるが, 淡水のエビからの分離
例は余り知られていない。しかし, 我が国の汽水
域や河川等の環境にはナグビブリオは既に定着し
ており, そこに棲息している生物はそれらの汚染
を必然的に受けているものと思われる。従って,
淡水のエビも前記のアユと同様に条件がそろえば

表2. ルミネセンス産生性, *Vibrio cholerae* non-O1 838-94 株, *V. cholerae* および *V. mimicus* の基準株との DNA/DNA 相同性

未標識 DNA	標識 DNA との相同性 (%)		
	838-94株	<i>V. cholerae</i> ATCC 14035*	<i>V. mimicus</i> ATCC 33653*
838-94 株	100	79	45
<i>V. cholerae</i> ATCC 14035	82	100	48
<i>V. mimicus</i> ATCC 33653	40	42	100

*基準株

ナグビブリオの被害を受けることはありえよう。今回の事件が発生した琵琶湖でも、この年(1994年)は例年にない異常気象で水温がかなり上昇し、また湖の水位もかなり低下していた。このような悪条件の基で、さらに生け簀という自然条件とは著しく異なる環境に置かれたスジエビがルミネセンス産生性の *V. cholerae* の感染を受け敗血症を起こし、それが今回の大流行を起こしていったものと考えられる。しかしその後、水温が下がった10月後半に入ってから、ホタルエビの発生は全く見られなくなった。今後、琵琶湖のエビ、アユ等の淡水魚および湖水や泥土等の環境についての年間を通した連続的な *V. cholerae* に対する詳細な生態調査を踏まえた監視が必要であろう。

エビの伝染性光り病、所謂ホタルエビの原因菌に関しては、既然大正の終わりに東京慈恵会医科

大学細菌衛生学教室の矢崎芳夫博士によって詳細な研究がなされている(12~14)。

大正3年信州の諏訪湖で美しい磷光を放つヌカエビ(*Paratya compressa improvisa*)が発見され、当時淡水に蛍以外の発光生物がいたことに驚き学会報告がされた。その後、大正15年矢崎博士によってこの発光エビの原因追求が詳細になされ、これはある種の発光細菌がヌカエビに寄生したものであって、エビ自身には発光する能力はないことを突き止めた。さらに、この感染をうけた発光エビは早晚死を免れないというエビにとっては恐るべき伝染性光り病であった。その発光細菌の形態・生理・生化学的性状はコレラ菌に極めて類似しているが、コレラ菌抗血清には凝集を示さなかったことを指摘し、それらを *Microspira phosphoreum*(Yasaki 1926)と命名し(12, 14), その和名として蝦発光菌と名づけた(12)。本学名は Index Bergeyana (1966), p 710 に掲載されているものの、現在では彼の命名した菌属種名は既に廃棄名とされている。しかしながら、矢崎論文(12, 14)に記載されている性状から該菌種が

図5. 838-94 株のブイヨン培養菌で寒天培地に「ホタルエビ」となぞって1夜, 22°C, 30°C および 35°C で培養したもの。上部は室内で撮影し, 下部は暗室で撮影したもの。

表3. *Vibrio cholerae* O28 および 838-94 の交差抗原関係

抗 O 血清*	O 抗原 (100°C, 1 時間)	
	O28	838-94
O1-O27	—	—
O28	640	320
吸収菌 838-94	320	—
O29-O155	—	—
838-94	640	1,280
吸収菌 O28	—	—

*これらの抗 O 血清中に含まれている R 抗体は完全に吸収されている。—: 10倍希釈で陰性。

Vibrio cholerae non-O1 に相当することには疑う余地がない。さらに、それらの発光細菌の病原性および発光性も各種淡水エビを用いた実験で再現し (12, 14), 実験的に感染を受けたエビは敗血症を起こして短期間に死亡し、またそれらのエビが発光することを観察している。一方、博士自身が重曹で胃酸を中和したのち分離菌を約 2 mg 飲んだが、発症しなかったことから、本菌は人体には無毒であろうと考察している。

一方、大正10年以来千葉県の水郷として有名な佐原地方で夏から秋にかけて光るエビが発生することを地元の人々がみつづけていたが、当時その本体は不明のままであった。大正15年、矢崎博士はその原因がかつて諏訪湖で発見したスカエビの伝染性光り病の原因菌と全く同一のものであることを凝集試験およびカステラニーの吸収試験によって証明した (13)。

なお、千葉県佐原市のホタルエビは昭和9年8月11日付けで国の天然記念物に指定されたものの、その後の工業排水等による水質の悪化のためスカエビそのものが激減し、昭和46年以降ホタルエビの発生を全く見なくなり、昭和57年10月7日付けでその指定が解除された。

上記の2例では感染したエビはいずれもスカエビであったが、今回初めてスジエビも発光細菌に感染することが明らかになった。

これまで述べてきたように、今回琵琶湖で発生したエビの伝染性光り病、所謂ホタルエビの原因はルミネセンス産生性の *V. cholerae* non-O1 であることが明らかにされたが、該菌が古くは諏訪湖や佐原の水郷で、また今回は琵琶湖で分離されていることから、国内の他の環境にも存在している可能性もあり、今後このホタルエビが他の湖や河川あるいは養殖池でその発生が見られ、淡水魚や甲殻類に被害をもたらすことがあるかも知れない。

これまで我々は所謂ナグビブリオは本来コレラ流行地にのみに存在し、戦前には我が国には定着しておらず、最近になって初めて常在してきたものと考えていた。しかしながら矢崎博士の論文から推察して、該菌は少なくとも大正3年には既に我が国でその存在が推定され、*V. cholerae* non-O1 はかなり以前から我が国に生存していたのか

も知れない。

本来 *V. cholerae* はヒトの下痢症に係わり、CT産生性の O1 および O139 はコレラの原因菌であり、またそれ以外の所謂ナグビブリオは我が国では食中毒菌に指定されている。しかしながら、琵琶湖のエビやアユ、那珂川のアユに発生した *V. cholerae* non-O1 に起因する敗血症の集団発生事例等を考えると、今後該菌による淡水産の魚や甲殻類の疾病にも十分注意を払う必要があるものと思われる。

謝 辞

ここに掲載したホタルエビの写真 (図1) は朝日新聞社の提供によるものであり、同社に厚くお礼申し上げます。また、電子顕微鏡写真は国立予防衛生研究所病態病理室長鈴木健之博士のご好意によるものであります。本研究にあたり、有益なご助言を賜りました国立国際医療センター研究所長竹田美文先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Baumann, O., Schubert, R.H.W. (1984): Family II. *Vibrionaceae*. p. 516-550, In Krieg, N., Holt, J.J. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, Baltimore, Williams & Wilkins Co.
- 2) Colepicolo, P., Cho, K.-W., Poinar, G.O., Hastings, J.W. (1989): Growth and luminescence of the Bacterium *Xenorhabdus luminescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 2601-2606.
- 3) Desmarchelier, P.M., Reichelt, J.L. (1984): A phenotypic and genetic study of sucrose nonfermenting strains of *Vibrio mimicus* and *Vibrio cholerae*. *Curr. Microbiol.* **10**, 41-48.
- 4) 江崎孝行 (1992): DNA 相同性試験; マイクロプレートハイブリダイゼーション法, 放線菌学技術叢書2, 東京, 日本放線菌学会編.
- 5) Kosako, Y., Sakazaki, R., Yoshizaki, E. (1984): *Yokenella regensburgei* gen. nov, sp. nov.: a new genus and species in the family *Enterobacteriaceae*. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* **37**, 117-124.
- 6) Miyagi, K., Matsumoto, Y., Hayashi, K., Takarada, Y., Shibata, S., Yoh, M., Yamamoto, K., Honda, T. (1992): Cholera diagnosed in clinical laboratory by DNA hybridisation. *Lancet* **339**, 988-989.

- 7) Muroga, K., Takahashi, S., Yamanoi, H., Nishibuchi, M. (1979): Non-cholera vibrio isolated from diseased ayu. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. **45**, 829-834.
- 8) 島田俊雄 (1987) : その他の腸炎起病性ビブリオ, 微生物検査必携, 細菌・真菌検査第3版 p. D-98-106, 東京, 日本公衆衛生協会.
- 9) Shimada, T., Arakawa, E., Itoh, K., Okitsu, T., Matsushima, A., Asai, Y., Yamai, S., Nakazato, T., Nair, G.B., Albert, M.J., Takeda, Y. (1994): Extended serotyping scheme for *Vibrio cholerae*. Curr. Microbiol. **28**, 175-178.
- 10) Shimada, T., Arakawa, E., Itoh, K., Nakazato, T., Okitsu, T., Yamai, S., Kusum, M., Nair, G.B., Takeda, Y. (1994): Two strains of *Vibrio cholerae* non-O1 possessing somatic (O) antigen factors in common with *V. cholerae* serogroup O139 synonym "Bengal". Curr. Microbiol. **29**, 331-333.
- 11) Takeda, T., Peina, A., Ogawa, S., Abe, H., Nair, G.B., Pal, S.C. (1991): Detection of heat-stable enterotoxin in a cholera toxin gene positive strain of *Vibrio cholerae* O1. FEMS Microbiol. Lett. **80**, 23-28.
- 12) 矢崎芳夫 (1926) : 所謂信州諏訪湖産発光蝦に就て. 1. 発光蝦の発光本態に関する研究. 成医会雑誌 **45**, 143-165.
- 13) 矢崎芳夫 (1926) : 光る蝦とコレラ病. 日本医事週報1609号, 18-19.
- 14) Yasaki, Y. (1927): Bacteriologic studies on bioluminescence. 1. cause of luminescence in the fresh water shrimp, *Xiphocaridina compressa* (De Haan). J. Infect. Dis. **40**, 404-407.
- 15) 八嶋 努, 小田島 忠 (1992) : 天然アユにおけるビブリオ病の発生と分離菌の性状. 日本獣医師会雑誌 **45**, 203-206.

Causative agent of the so-called "light disease of shrimps" is luminescent *Vibrio cholerae* non-O1

Toshio SHIMADA¹, Eiji ARAKAWA¹, Kenichiro ITOH¹, Yoshimasa KOSAKO²,
Tadayuki OKITSU³, Shiro YAMAI³, Machiko NISHINO⁴, and Takuo NAKAJIMA⁴

¹ National Institute of Health, Shinjuku-ku, Tokyo 162

² Institute of Physical and Chemical Research, Wako 351-01

³ Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory, Asahi-ku, Yokohama 241

⁴ Lake Biwa Research Institute, Ohtsu 520

A number of luminous fresh-water shrimps were found in a fish preserve in Lake Biwa, Shiga Prefecture, in the middle of July, 1994, and most of them died within several hours after collection (the so-called "light disease of shrimp").

Four luminous organisms were isolated from a dead shrimp. Although the phenotypic properties of these strains were similar to those of *V. cholerae* or *V. mimicus*, a representative strain, 838-94, was shown to have a high level (79%) of DNA homology with *V. cholerae* type strain, ATCC 14035 and a low level (45%) of relatedness to *V. mimicus* type strain, ATCC 33653. Therefore, these isolates were identified as *V. cholerae*. The four strains fell into serogroup O28 of *V. cholerae*. On the other hand, none of the isolates had CT nor NAG-ST genes.

The results obtained herein clearly demonstrate that these organisms isolated from luminous shrimps are luminescent *V. cholerae* serogroup O28.