

# 昭和44年秋田県内において検出した 赤痢菌の薬剤耐性について

秋田県衛生科学研究所

茂 木 武 雄

## I まえがき

秋田県内に於て検出した赤痢菌の薬剤耐性状況は、秋田県衛生科学研究所報にて、毎年報告しているが、今回は、昭和44年に県内で分離した赤痢菌について、Dihydrostreptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline, Kanamycinの4種類抗生物質に対する耐性度を調べたので、その結果を報告する。

昭和44年(1月~12月)に、県内各保健所及び秋田県寄生虫予防協会に於て分離した赤痢菌は、第1表のとおり合計16株である。これを菌型別にみた場合、Sh. sonnei(1相, 2相の計)が最も多く11株68%、次はSh. flexneri 3a と 4a が各2株で各12%、Sh. flexneri 2aは1株6%であった。施設別にみた場合は、湯沢保健所7株、寄生虫予防協会5株、大曲、横手保健所各2株の順になっている。

## II 赤痢菌々型, 供試菌株 及び使用薬剤

### (1) 赤痢菌々型

第1表 昭和44年(1月~12月), 衛生科学研究所・保健所及び協会に於て分離した赤痢菌々型成績

施設 菌型	衛研	秋田	能代	大館	花輪	本荘	矢島	大曲	角館	横手	湯沢	鷹ノ巣	五城目	男鹿	寄生虫 予防協 会	計 (%)
Sh. flexneri 2a															1	1 (6.25)
" " 3a											2					2 (12.50)
" " 4a															2	2 (12.50)
Sh. sonnei 1								2		2	5				1	10 (62.50)
" " 2															1	1 (6.25)
計								2	2	7					5	16

(2) 供試菌株

昭和44年分離した赤痢菌16株全部を用いた。即ち第2表のとおり、Sh.flexneri 2a-1株、3a-2株、4a-2株、Sh.sonnei 1-10株、Sh.sonnei 2-1株である。

第2表 試験に供した赤痢菌

菌 型	菌株数	内 訳
Sh.flexneri2a	1	寄生虫予防協会 1
" " 3a	2	湯沢 2
" " 4a	2	寄生虫予防協会 2
Sh.sonnei 1	10	大曲2,横手2,湯沢5, 寄生虫予防協会 1
" " 2	1	寄生虫予防協会 1
計	16	

(3) 使用薬剤

次の抗生物質4種を用いた。

- (イ) Dihydrostreptomycin Sulfate - 武田薬品「工業KK製品」(以下SMと記す。)
- (ロ) Chloramphenicol Powder - 三共KK製品(以下CMと記す。)
- (ハ) Tetracycline Hydrochloride Crystalline Powder - 日本レダリーKK製品(以下TCと記す。)
- (ニ) Kanamycin Sulfate - 三共KK製品(以下KMと記す。)

III 検査方法

使用薬剤を滅菌蒸留水で溶解し、Heart infusion 寒天培地を用いて、寒天平板稀釈法により実施した。判定は、37℃、20~24時間培養後、肉眼的に赤痢菌の発育を認めたものを耐性「+」とした。

IV 検査成績

抗生物質に対する耐性試験の結果は、第3表、第4表のとおりである。即ち、Sh.flexneri2aとSh.sonnei 2に於ては、SM、CM、TC、KMに対して低濃度の6.25, 3.125, 1.56, 0.787/mlに耐性を示したが、いずれの薬剤にも、12.57/ml濃度以上の耐性は認めなかった。Sh.flexneri3aは、供試菌2株とも、SM、TCの2種薬剤に対して、1007/ml濃度に耐性を示し、又、Sh.flexneri 4aに於ては、供試菌2株のうち1株が、3種薬剤SM、CM、TCの1007/ml濃度に耐性であった。Sh.sonnei 1に於ては、供試菌10株のうち5株が3種薬剤SM、CM、TCの1007/ml濃度に耐性を示し、他の5株は、SMの1007/ml濃度のみ耐性であった。然し乍ら、Sh.flexneri3a, 4a Sh.sonnei 1ともKMに対しては、12.57/ml濃度以上の耐性は認めなかった。

第3表 昭和44年分離赤痢菌の抗生物質に対する耐性検査成績

薬 剂	S M										C M										T C										K M									
	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	小計	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	小計	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	小計	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	小計
菌 型																																								
Shflemer2 a						1				1											1																			1
" " 3a	2									2		2																												2
" " 4a	2					1				2							1												1											2
Shsosomei 1	10	10								10		5					5												2	3										10
" " 2	1									1							1												1											1
計	16	13				1	1	1		16	6	2				6	1	1			8						3	5										16		
耐性率(%)	81.3%										37.5%										50.0%										100.0									
	↓										↓										↓										↓									
	100.0										100.0										100.0										100.0									

第4表 3種薬剤・2種薬剤及び1種薬剤耐性赤痢菌々株数(100  $\gamma$ /ml)

薬 剤		3 種			2 種		1 種	計
		SM・CM・TC	SM・CM	SM・TC	CM・TC	SM	CM	
菌 型	$\gamma$ /ml 株数	100	100	100	100	100	100	100
Sh.flexneri 2a	1							
" " 3a	2			2				2
" " 4a	2	1						1
Sh.sonnei 1	10	5				5		10
" " 2	1							
計	16	6		2		5		13
耐 性 率 (%)		37.5		12.5		31.3		81.3

### V まとめ及びむすび

昭和44年分離した赤痢菌16株について、抗生物質に対する耐性試験を実施した結果、所謂、耐性菌と思われる100 $\gamma$ /ml濃度に耐性を示した赤痢菌は、SMには13株(81.3%)、CMは6株(37.5%)、TCには8株(50.0%)あって、このうち、3種薬剤SM、CM、TCの100 $\gamma$ /ml濃度に耐性を示した赤痢菌は6株(37.5%)あった。2種薬剤SM、TCの100 $\gamma$ /ml濃度に対しては、2株(12.5%)が耐性を示し、1種薬剤SMの100 $\gamma$ /ml濃度には、5株(31.3%)が耐性であった。

昭和44年分離赤痢菌の100 $\gamma$ /ml濃度抗生物質に対する耐性率と、過去4年間(昭和40年~43年)

を比較すれば、第5表、第6表に示すように、昭和44年の耐性率は、CM、TCに対しては低いが、SMに対しては高い。3種薬剤SM、CM、TCに対する耐性率も、昭和43年よりは低くなっている。然し乍ら、SM、CM、TCそれぞれに対する100 $\gamma$ /ml濃度耐性菌は、供試菌16株のうち13株あって、81.3%を示し、最も高率である。

このように、相変わらずSM、CM、TCに対する高濃度耐性菌が、高率に検出されることは、今後とも注目すべきことと思う。

KMに対する100 $\gamma$ /ml濃度耐性菌は、昭和41年、42年、43年には、検出されなかった(第5表)が、今回実施した昭和44年分離赤痢菌にも認めなかった。

第5表 昭和40,41,42,43,44年分離赤痢菌の抗生物質に対する耐性検査成績

年 別	薬 劑 供試 菌株 数 >100γ/ml	S M		C M		T C		K M	
		耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)	耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)	耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)	耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)
40	94	33	35.1	50	53.2	49	52.1		
41	97	59	60.8	59	60.8	58	59.8	0	0
42	34	7	20.6	18	52.9	18	52.9	0	0
43	13	10	76.9	10	76.9	10	76.9	0	0
44	16	13	81.3	6	37.5	8	50.0	0	0

第6表 昭和40,41,42,43,44年分離赤痢菌の抗生物質に対する3種薬劑,  
2種薬劑及び1種薬劑耐性検査成績

年 別	薬 劑 供試 菌株 数 >100γ/ml	3 種		2 種						1 種						計		
		S C T	M M C	S C	M M	S T	M C	C T	M C	S M	C M	T C	耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)				
															耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)	耐 菌 性 株	耐 性 率 (%)
40	94	32	34.0	1	1.1			17	18.1								50	53.2
41	97	57	58.8	1	1.0			1	1.0	1	1.0						60	61.9
42	34	6	17.6					12	35.3	1	2.9						19	55.9
43	13	10	76.9														10	76.9
44	16	6	37.5			2	12.5			5	31.3						13	81.3

参 考 文 献

- 1) 茂木：秋田県衛生科学研究所報  
No.14, P115, 1970.

# Vibrio parahaemolyticusの越冬性について

秋田県衛生科学研究所

金 鉄三郎

## はじめに

腸炎ビブリオのふるさは海洋であると言われて来たが、夏季温暖の季節では海水から高率に検出されるのに、冬季の海からは検出されたという報告がなかった。そうなると腸炎ビブリオの越冬はどこでなされるかに疑問が湧くことになる。

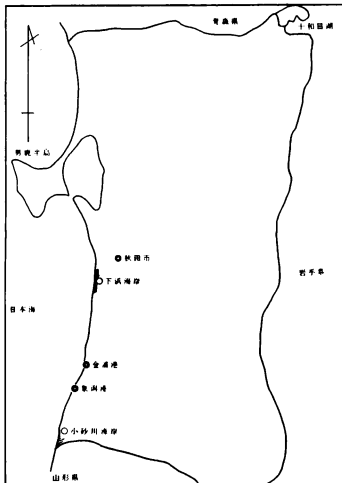
私共は1964年9月下旬から10月下旬に県内由利海岸の海水 500検体について調査したが腸炎ビブリオは 6.4%検出され、他に当時の分類方法による生物2型 (Vibrio alginolyticus) が 4.8%<sup>2)</sup> 検出された。引続き1965年5月から9月までの調査では 1,000検体から腸炎ビブリオは、0.19%に検出されたのに対して Vibrio alginolyticus は11%を占めた。更に1967年5月から翌2月まで日本海岸一帯の海水検査の結果では、腸炎ビブリオの検

出は平均 4.8%であった。しかしこの調査で腸炎ビブリオは殆んど金浦港のみから検出されたもので、金浦港のみに限ると12月の冬季に20%、2月の寒中に52%という高率な腸炎ビブリオを検出したことになるわけである。こうした金浦港の特殊性については既に触れたのであるが、今回更に腸炎ビブリオの越冬性の関係を、44年10月から1年間、4回にわたって検査を行ないその成績について検討を加えることにした。

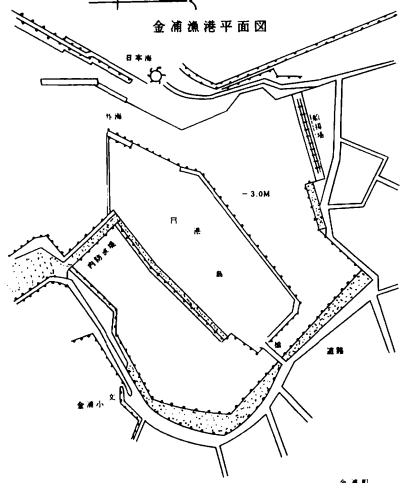
## I 被検材料および検査方法

金浦港は図(1)(2)のごとく、日本海に臨み、金浦町地域内湾を形成する。およその面積は沖へ向って二つの湾のうち、左湾が10,700平方m、右湾が18,700平方mで水深さは3mの漁港である。陸あ

図(1) 検体採取図



図(2)



げされた魚類等の処理水は陸上の排水溝から直接湾内に注ぎ込むので、したがって湾内は可成り汚濁している。水温は外海の影響を直接受けず、外海より高温であることが認められた。このような特殊条件がいくつか考えられるので検査実施に当って、他の海岸を対象として同時に検索を行なって比較することにした。

## 1 検体採取方法

### ① 海 水

検体採取は44年10月下旬、12月中旬2月下旬、翌年10月下旬の4回で、表(1)のとおり気温、水温等を計測して、検体は海岸提防の波打際より予め定めた地点を選び長柄ひしゃくで水面下1 mより海水を汲みあげ、滅菌コルペンに500mlを採水した。

表(1) 気 象 状 況

採水月日	天 候	地 区 名	気 温	水 温	備 考
44. 10. 22	晴	金 浦 港	24.5℃	19.5℃	漁 港
"	"	小砂川海岸	"	17.0	海水浴場
44. 12. 16	風 雪	金 浦 港	2.0	7.0	漁 港
"	"	象 潟 港	"	5.0	"
45. 2. 24	時々雪	金 浦 港	4.0	7.0	"
"	"	下 浜 港	2.0	6.0	海水浴場
"	"	象 潟 港	4.0	6.0	漁 港
45. 10. 27	(初あられ) 小 雨	金 浦 港	9.0	17.0	"
"	"	象 潟 港	10.0	15.0	"
"	"	小砂川海岸	11.0	15.0	海水浴場

### ② 海 底 泥

海底泥の採取は空缶等利用によって採取出来るものと考えたが、港内の深さや岩石の障害で容易でなく金浦港1カ所50g程度に終わった。

## 2 培 養 法

### ① 海 水

検査室に運搬した検体はそのまま静置し沈澱部分を駒込ピペットで2ml吸いあげ、予め作製した2%食塩コリスチンブイオン10mlに注加、37℃に8時間増菌培養後BTBティーボール寒天培養に分離、発生したコロニーについて定められた検査

法<sup>4)</sup>によって腸炎ビブリオであることを確認同定した。

② 海泥については、コリスチンブイオン10mlに3gを加えて、海水同様増菌、分離培養を行ない、そのコロニーについて検査した。

## II 実 験 成 績

腸炎ビブリオ分離成績は表(2)(3)のとおりで金浦港では、いずれの地点からも100%の検出率となった。またK抗原血清型別は44年10月、45年2月はK-32で占めたが44年12月にはK-22, 32, 34

表 (2) 腸炎ビブリオ検出表

採 取 年 月 日	金 浦		小 砂 川		象 潟		下 浜	
	検体数	陽性数	検体数	陽性数	検体数	陽性数	検体数	陽性数
44. 10. 22	10	10	10	(-)				
44. 12. 16	10	10 (2)			10	(-) (2)		
45. 2. 24	10	10			10	(-)	10	(-)
45. 10. 27	20	20 (1)	20	17	20	18		
" (泥)	1	10 (3)						

参考( ) *Vibrio alginolyticus*

表 (3) 腸炎ビブリオの血清型別および溶血現象成績表

地 区	採 取 年 月	項 目 K 型 No.	K 抗 原 型 別 分 類 表													神奈川現象			
			3	8	17	18	22	25	28	32	33	34	38	42	46	51	U	計	陽 性 株
金 浦	海	44 10							3								7	10	0
		44 12				2			7		1							10	0
	水	45 2							10									10	0
		45		1	2					4	1				1	1	10	20	1
小 砂 川	海	10						1			2						14	17	1
							1		2				3					12	18
合 計			2	2	2	1	5	1	2	25	1	3	3	1	1	1	45	95	2

と、45年10月は海水、海泥から6種の型となり、K抗原の多様性を見ることが出来た。又、対照とした他の海岸、海水からは44年の2回および45年

2月には全く腸炎ビブリオは分離されなかったが、最終回の10月には県内としては暖地にあたる小砂川、象潟海岸の海水からも高率に分離された。



更に44年是不検出に終った神奈川現象の陽性株が金浦港と小砂川海岸から、それぞれ1株ずつ検出出来た。

### 抗生物質に対する感受試験

各種の抗生物の腸炎ビブリオに対する抗菌性に

ついては柳沢の報告があるが、この実験で海水から分離株と食中毒株の一部についてアスク法(栄研)を試みた成績は表(4)のとおりで、その結果海水株、食中毒との間に著変が認められなかったし、また腸炎ビブリオの薬剤に対する耐性獲得はペニシリンを除き弱いことが確かめられた。

### 考 察

(4) 抗生物質感受性試験	検査No	分離年	検体	占株名	K抗原	溶血性	C M			S M			K M			T C			O M			C E R			P C		
							5	10	30	2	10	50	5	10	30	5	10	30	2	5	15	4	10	25	2	5	20
	1	44	海水	金浦	22	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
	2	"	"	"	34	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
	3	"	"	"	32	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
註 使用アスク 栄研。 薬剤濃度 MCG。 薬剤名 CM クロラムフ エニコール SM ジビドロス トマイ KM カナマイシ ン TC テトラサイ クリン OM オレアンド マイシン CER セファロリ ジン PC ペニシリン	4	45	海泥	"	42	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	
	5	"	"	"	8	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	6	"	"	"	3	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
	7	"	海水	"	/	(+)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
	8	"	"	小砂川	/	(+)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
	9	44	Kot	湯沢	32	(-)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+
	10	"	"	"	34	(-)	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
	11	"	"	"	7	(+)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
	12	"	"	"	44	(+)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
	13	"	"	横手	12	(+)	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
	参考	42	海水	土崎	V <sub>5</sub> antigen lyticus	(+)	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+

腸炎ビブリオの越冬性についてはこれまで特殊な地帯が想定されていたが、今回の調査で漁港などの特殊性にあることが、つきとめることが出来た。と同時に潮流やその他の条件では広く海水中に分布することが考えられるもので、この金浦港に近似する漁港が全国に相当数存在することが思われる。それと同様に海水のみならず泥土等に可成り多くの腸炎ビブリオの棲息が可能であると考えられるもので、腸炎ビブリオは冬季中でも温存されつつ、気温の上昇・水温が高まると共に附近海域に流出するものと考えられるものである。尚

この実験で金浦港・小砂川海岸から1株ずつ神奈川現象の溶血陽性株を分離したことは注目される。これは10月下旬から11月下旬に宮城県内で「生かき」による食中毒が発生、その污染源追求の結果、自然界から溶血性を示す腸炎ビブリオが高頻度に検出されたとの我妻らの発表で裏付けられるように、冬季中でも腸炎ビブリオによる食中毒が発生する可能性に注目しなければなるまい。

(本実験は第19回東北公衆衛生学会において、そのあらましを報告した。)

## 文 献

- 1) 金・他：由利海岸に於ける腸炎ビブリオの調査研究（第1報）。秋田県衛生科学研究所報。No.10, 19～20. 1966。
- 2) 金 鉄三郎：由利海岸に於ける腸炎ビブリオの調査研究（第2報）。秋田県衛生科学研究所報。No.11, 40～42. 1967。
- 3) 金 鉄三郎：秋田県沿岸海水中の腸炎ビブリオ分布調査。秋田県衛生科学研究所報。No.12, 52～54. 1968。
- 4) 腸炎ビブリオ食中毒検査要領。1963年6月公示。厚生省。
- 5) 柳沢文穂：化学薬剤による腸炎ビブリオの増殖阻害。腸炎ビブリオ第II集。357～359。1967。（納谷書店）
- 6) 我妻・他：カキによる腸炎ビブリオ食中毒の発生とその汚染経路の追求。第19回東北公衆衛生学会口演。1970. 7. 17日仙台。

# 土壌中のClostridium Welchiiの 耐熱性菌とそのHobbs Typeについて

## 第3報 — 十和田湖周辺 —

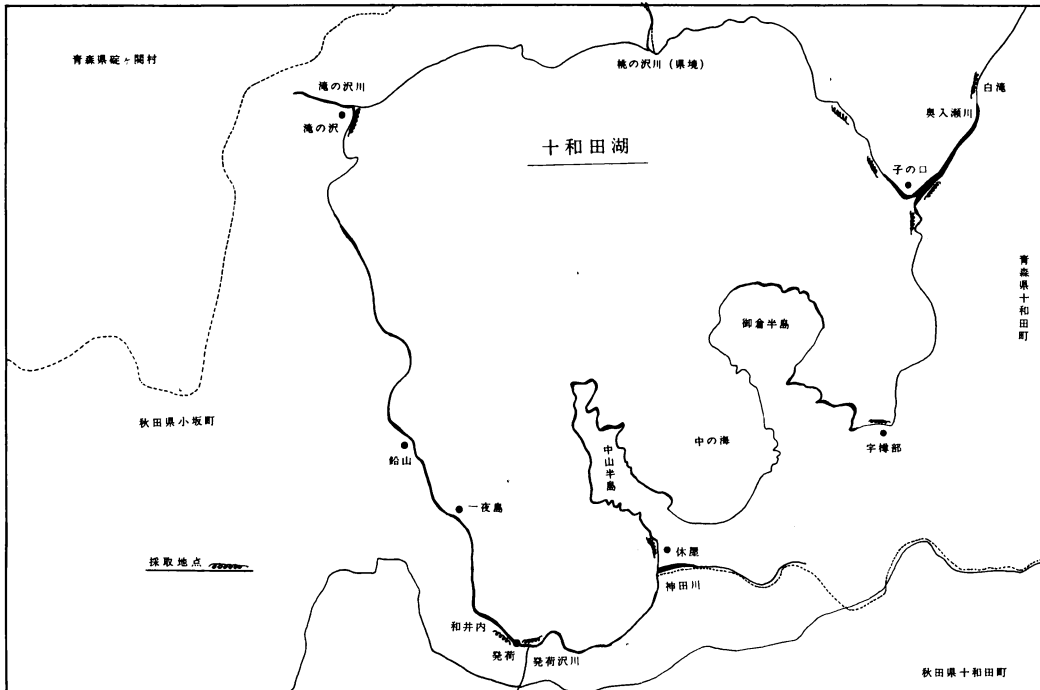
秋田県衛生科学研究所

金 鉄 三 郎

### はじめに

十和田湖水が鉱山排水等による有害金属によって汚染されていることは、東京水産大、森田助教授などによって新聞に報道されたところである。環境衛生面から重金属によって著しく損なわれていることは各方面から憂慮されておる。これとは別

に弘前大の山本<sup>1)</sup>らは、この十和田湖岸の土壌より食中毒原因菌としてのClostridium botulinum菌の検出を報告しておるところで、細菌学的汚染も又、見逃すことが出来ない現状である。このボトリヌス菌や大腸菌群による汚染については、当所の小林らの調査研究で別に発表される予定である



が1967年以来秋田県内における Clostridium Welchii (Clostridium Perfringens) による食中毒原因追求のため、その保有母体とみられる土壤<sup>2)3)</sup>についてこれまで報告して来たところである。今回はこの、ウエルシュ菌の分布調査の一環として、1970年5～8月まで十和田湖周辺の10地点即ち図表の地区において採取した550の検体の土壤を検査した結果、その成績について報告したい。

### 実験方法

#### 1 土壤採取について

検体採取は表(1)のとおり、5、6、8月の3回にわたり10地域について行なった。採取場所は、湖岸の他に、奥入瀬川岸、和井内孵化場付近から地表十糎下の土壤約200gをポリエチレン袋に採取実験室に運び込み検体とした。

表(1) 検体採取表

月日	地名	採取箇所	検体数	P. H
5. 13	滝の沢	湖岸	50	5.8
"	発荷	"	50	5.8
"	宇樽部	船付場	50	5.8
6. 18	奥入瀬川	白絹の滝前	50	6.0
"	子の口	川口	50	5.8
"	青撫	湖岸	100	5.9
"	子の口	キャンプ前	30	5.9
"	東湖	小笠原島前	50	5.9
"	休屋	船付場	70	5.8
8. 4	発荷	和井内フ化場	50	5.2
合計	10地区		550	

表(2) 分離成績表

区分地名	検体数	耐熱性株	Hobbs株数	Hobbs検出%	型不別能	Hobbs Type												
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
滝の沢	50	9	7	7.1	2	5				1								1
発荷	50	24	8	6.2	16				2		1	1	1		1			2
宇樽部	50	6	1	2.0	5	1												
奥入瀬川	50	20	5	10.0	15	1		1	1		1						1	
子の口川口	50	38	5	10.0	33	3			1									1
青撫湾	100	0	0	0														
子の口キャンプ	30	3	1	3.3	2				1									
東湖小笠原島	50	1	0	0	1													
休屋船着場	70	20	6	8.5	14	2			1		1						1	1
発荷フ化場	50	2	1	2.0	1				1									
合計	550	123	34	6.1	89	12	0	1	7	1	3	1	1	0	1	2	0	5

採取時の土壌のPHを測定した結果、5.2~6.0を示した。

## 2 培養方法

### 1 培養基

① 耐熱性菌の増菌培養基としては、前回と同様に自家製馬肝タ片ブイオンを使用した。

② 嫌気性菌分離培養基として、前回と同じく市販のCW寒天基礎培地（ニッサン）に卵黄液を加えて使用した。

### 2 嫌気性培養法

真空ポンプ吸引法による Novy's Jar の方法によった。

### 3 耐熱性菌の分離法

検体それぞれを約5gあて肝タブイオンに投入、直ちに100℃1時間加熱急冷後37℃フラン器内で20時間以上培養観察し、明らかに増殖を示し、かつガス発生と溷濁を認めたものについて、CW卵黄寒天平板に分離37℃に18時間嫌気性培養を行ない、その発育コロニーについて諸性状を検査し *C. welchii* 菌と同定した。

### 4 分離菌株の形態および生化学的

#### 性状の検査法

分離菌株の諸性状検査については、辺野喜のテキスト<sup>4)</sup>、および微生物検査必携によったがその主なるものを記述して見ると、

① グラム染色陽性の大桿菌で好気性培養では発生が認められないもの。

② 嫌気性培養のCW卵黄培地では乳光反応が見られ、 $\alpha$  抗毒素試験では抑制されること。

③ Zeisslerの血液寒天培地でも良く発育して、そのコロニーを空気に晒すことによって、コロニーが緑色に変色することが著明であること。

④ 鉄加牛乳培地では凝固醗酵、共に陽性であること。

⑤ インドール反応は陰性である。

⑥ 運動性はない。

⑦ 炭水化物のラクトーゼ、白糖、ブドウ糖など、いずれも分解する。

### 5 血清型別法

分離し得た耐熱性ウエルシュ菌の血清学的型別

法は、市販の耐熱性ウエルシュ菌（A型）抗血清東芝製を用いた。方法はZeissler寒天に純培養の被検菌液を作製し、のせガラス上において凝集反応を実施し、そのHobbs型別を分類した。

### 6 毒素試験法

Hobbs Typeの血清型別の出来た34株について、マウスを用いて毒素試験を行なった。

#### ① 試験法

Hobbs Type血清型別出来たコロニーを予め作製したプロテオーゼペプトン加肝タブイオンに接種して、30℃5日間培養のその培養液を3,000回転30分遠心沈澱して、その上清液0.5mlを成熟マウス（20g以上）腹腔内に注射してその経過を観察した。供試株と対照のためHobbs標準株についても同時に実施した。

#### ② 実験の結果

腹腔注射後、約2時間経過頃よりマウスの運動が鈍り、3-4時間後に至り戦慄様身震い、或いは腹壁呼吸、後肢曳歩等各様の症状を見たが、其の後漸次回復、翌朝に至って症状全く消失するに至った。これは対照株においても同様に遂にマウスを倒すに至らなかった。

## 3 実験成績

1 実験結果は表(2)のとおり湖岸および奥入瀬川岸等の10地区 550検体から100℃1時間の耐熱性を有する菌株 123株を分離することが出来た。

2 100℃1時間に耐えた 123株について、Hobbs血清型を調べたが分類出来たのは34株で、これは検体 550件の 6.1%にあたる。

## 考 察

第1回の土壤検査は日本海岸および秋田市周辺<sup>5)</sup>の河岸調査で耐熱性（100℃1時間）株は、 $\frac{187}{310}$ 、そのHobbs型は5.86%の陽性であった。第2回の土壤採取は晩秋から冬期にかけて海岸および八郎潟付近の検査を実施した結果、 $\frac{187}{310}$ の耐熱性株を分離、Hobbs型はその中、4株で0.83%と低く前回と比較して季節的条件によつての検出率の相違を確認することが出来た。今回の十和田湖岸の採取期は陽春と盛夏にわたるので観光客も多く比較

同湖岸の汚染が濃厚と考えられる時期でもあった。しかし結果は青撫湾の100検体、奥入瀬川口南方の湖岸（東湖小笠原島付近）の50検体からは全く耐性株が検出されなかった。比較的汚染濃厚地区は奥入瀬川口、休屋船付場、滝の沢、発荷等の湖岸、それに奥入瀬川の白絹の滝付近がウエルシュ菌の検出率が高かった。

このことは前報でも指摘したように、ウエルシュ菌の汚染はその常在者たる人間の介在が大きな役割を果していることが、うかがえるように思える。人間の常在菌としてのウエルシュ菌については、赤真らやその他の報告が多く見られるところであって、健康者から高率にHobbs菌が認められるものとするれば、環境の如何によって其の汚染はまぬがれ得ないものと言えよう。

## む す び

1 国立公園十和田湖岸および奥入瀬川岸等について5月から8月に、10地区 550検体の土壤検査の結果22.3%の検体にCl.welchiiの耐熱性菌を分離出来た。

2 123株の耐熱性株の中、Hobbs Typeの型別出来たのは34株で1型が12株の最高、4型が7株、13型が5株とこれに次ぎ6型が3株、11型が2株で、その他の順となった。

## 文 献

- 1) 山本耕一, 工藤平治, 他: 青森県一湖水におけるボトリヌス菌検索。第23回日本細菌学会東北支部総会, 1967。
- 2) 金 鉄三郎: 土壤中のClostridium Welchiiの耐熱性菌とそのHobbs Typeについて。秋田県衛生科学研究所報, No.13, 51~54, 1969。
- 3) 金 鉄三郎: 土壤中のClostridium Welchiiの耐熱性菌とそのHobbs Typeについて(第2報)。秋田県衛生科学研究所報, No.14, 103~106. 1970。
- 4) 辺野喜正夫: 昭和40年度食品衛生特殊技術講習会。(厚生省)。
- 5) 微生物検査必携: 日本公衆衛生協会編. 1966。
- 6) 赤真, 他: 健康人糞便中常在菌としてのウエルシュ菌に関する研究。日本細菌学雑誌, 21, 619~624. 1966。

# 十和田湖畔周辺土壤および同湖生息魚類についての *Clostridium botulinum* の分布調査

秋田県衛生科学研究所  
小林 運蔵・金 鉄三郎

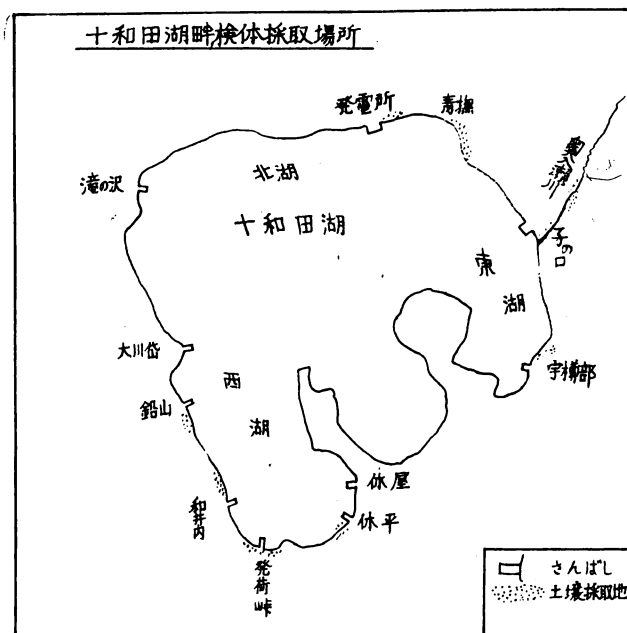
## 緒 言

近年秋田県における土壤中のボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*, 以下ボ菌と呼ぶ)の分布状況は、1965年~1969年までの5ヶ年間にわたる調査でほぼ明らかにし、前に報告したところでありますが、<sup>1) 2) 3)</sup>

1967年6月青森県十和田町に発生したボツリヌス中毒の原因食品が十和田湖でとれた「ひめます

にあったことなどから、我々は同湖は秋田と青森の両県にまたがり、殊に国立公園として脚光を浴び年々発展をとげ、県民生活とも極めて関係深いところから食中毒防止の一端として同湖畔の周辺土壤および同湖生息の魚類についてボ菌分布調査をしたのでその結果を報告する。

図. 1



## 1 検体採取

### 1) 土 壤

十和田湖は岩壁、岩盤、砂利質のところが多く、土壌(砂、土)の採取できる場所は極めて少い、又北岸一帯は道路や地形の関係から採取困難で調査しなかった。

土壌は湖畔ぞい水際から約20米前後の湖岸において地表より約10~20cmの下層数ヶ所から約200gをポリエチレン袋に採りこれを1検体として、5月~10月までの期間に850検体を採取検索を行った。

検体採取場所を図1に示した。

### 2) 魚 類

8月5日十和田西湖から漁獲された「ひめます」30匹を購入し、又10月1日井内湖岸で漁師の引網により漁獲した雑魚(ゴリ、とげ魚、その他)100匹の分与を受けて検索を行った。

## 2. 菌検索の概要

### 1) 増菌培養

#### A 土 壤

##### イ、直 接 法

採取した土壌1検体から5~7g宛、Bacto P epton (Difco) 加、肝タピオン培地数本に検体を直接投入して雑菌抑制のため60°C水浴中で60分間加熱した後急冷して28°Cふら器内で5~7日間培養観察して、その菌液について分離培養ならび毒素試験を実施した。

##### ロ、遠心沈殿法

上記直接法と並行して遠心沈殿法を行った、即ち、土壌約50gを取り、滅菌食塩水を2倍量に加え、よく攪拌して2~3分間静置した後その上清全量を3,500rpm 30分間遠心沈殿をしてその沈査を前記の肝タピオンに取り、以下直接法に準じた。

#### B, 魚 類

「ひめます」は頭部と腹部(内臓を含む)の2つに分ち、雑魚はそのままとし、それぞれに滅菌食塩水を加えながら乳鉢でよくすりつぶし乳液としたものを肝タピオンにとり、加熱処理(60°C~60分)と、非加熱の2通りとして28°C~5~7日

間増菌培養を行った。

### 2) 毒素試験

#### ①定性試験

増菌培養した前記の各検体培養液をとり、3,500rpm 30分間遠心沈殿その上清0.5ml宛マウス腹腔内に接種して3日間毒素の有無を観察して、マウスを倒した毒素産生菌液については更に80°C~15分加熱処理後マウス腹腔内接種して易熱性であることを確認した。

#### ②分離培養

動物実験によりマウスを倒し、ボ菌症として疑はしい菌株については更に、Lecith· Vitellin· Agar(以下LV培地と呼ぶ)および緬羊血液加B rain Heart Infusion Agar(以下B·H·I寒天培地と呼ぶ)に塗抹してNovy's Jar法により、30°C~48時間の嫌気性培養を行った。

#### ③抗血清凝集試験

LV培地およびBHI培地の48時間培養で發育したボ菌疑いの集落数個を釣菌して、A·B·E·Fの4種混合血清を用いスライド法で凝集試験を行うと共にボ菌疑いの集落についてはProteose P epton(Difco)加、肝タピオンに純粋培養を行った。

#### ④中和試験

前記培養菌液を用い、ボ菌抗毒素血清A·B·E·Fにより中和試験を行った。即ち、各血清0.5mlに対して等量の培養菌液を加え、37°C~20分間静置した後、その0.5ml宛を2匹のマウス腹腔内に接種して3日間観察して中和の有無を調べた。

抗毒素血清はすべて国立予研より分与されたものを用いた。

## 3 実験成績

### 1), 土 壤

採取した土壌件数は850で、十和田湖周辺湖岸は岩壁、岩盤、又は砂利等の地質が多く、採取土壌の多くは細かな砂利、荒砂でよい検体は得られなかった。PHは概ね5.0~6.0の酸性土壌であった。

培養の方法は前記の直接法と遠心沈殿法を併用して比較した結果、直接法では4株、遠心沈殿法で10株、計14株のE型ボ菌が分離された。両法の比



較実験成績は、直接法のみ(+)が2株、遠心沈殿法のみ(+)が8株、両法(+)が2株で、今回の比較実験では遠心沈殿の方が検出率が高かった。  
(表1、2参照)

表1、土壌中におけるClostridium botulinum の調査成績

			培養件数および毒素試験					
			直接法			遠心沈殿法		
			件数	マウス 斃死株	E型 中和株	件数	マウス 斃死株	E型 中和株
5. 13	50	十和田湖畔滝ノ沢湖岸	50	0	0	0	0	0
"	50	発荷峠 "	50	1	0	0	0	0
5. 13 10. 1	200	宇樽部 "	200	2	1	150	6	1
6. 18	50	奥入瀬川流域白絹の滝付近	50	0	0	50	0	0
"	50	子ノ口橋付近	50	0	0	150	0	0
6. 19	180	十和田湖畔子ノ口湖岸	180	1	0	180	2	0
"	70	休平 "	70	0	0	70	0	0
8. 4	70	和井内ふ化場いけす周辺	50	0	0	50	0	0
10. 1	10	魚処理排水溝	10	1	0	10	3	1
"	20	和井内〇〇漁師宅排水溝	20	0	0	20	2	2
"	40	和井内湖岸	40	0	0	40	0	0
"	30	鉛山 "	30	0	0	30	0	0
10. 2	50	青撫 "	50	3	3	50	18	6
計	850		850	8	4	700	31	10

表2 土壤の直接培養法と遠心沈殿法の比較

方法	実験成績 検査件数	検査成績				陽性率 (%)
		直接法のみ (+)	遠心沈殿法のみ (+)	両法 (+)	陽性件数 (E型)	
直接法	850	2	0	2	4	0.47
遠心沈殿法	700	0	8	2	10	1.43

2), 魚類

魚類は十和田西湖（秋田県側）から捕れたひめ  
ます30匹と、和井内湖岸（秋田県側）での引網で  
捕れた雑魚 100匹について検索したもので、ひめ  
ますは頭部と、腹部とに分けて検索したが細菌は

認めず、雑魚 100匹中、ゴリから2株のE型細菌  
が分離された。  
(表3, 参照)

表3, 魚類における Clostridium botulinum の調査成績

検体採取月日	採取検体数	採取場所	検体名	検査数	マウス斃死株	E型中和株
8.5	30	十和田西湖	ひめます頭部	30	0	0
		"	腹部	30	0	0
10.1	60	和井内	ごり	60	3	2
"	30	"	とげ魚	30	1	0
"	10	"	雑魚	10	0	0
計	130			160	4	2

考 察

十和田湖岸周囲の土壤ならび同湖の魚類につい  
ての細菌の検索結果から、その場所によってはか  
なり細菌が分布されていることが推定される、即  
ち、秋田県側湖畔の西湖岸一帯における土壤検索  
では細菌が認められなかったが、和井内ふ化場の  
魚処理場排水溝泥土から1株、同和井内〇〇漁師  
宅調理場からの排水溝土砂から2株のE型細菌が  
分離された。又、魚類については、ひめますから  
は分離できなかったが引網でとれた数種の雑魚か  
ら2株のE型細菌が分離され、青森県側湖畔では

北東湖岸の青撫湾から9株、宇樽部湖岸から2株  
のE型菌が分離された。

青森県弘前大医学部の文献によっても青森側湖  
畔でかなり濃厚に細菌が分布されていることが報  
告されている。今回の我々の調査の限りではやは  
り青森県側土壤に多く秋田県側土壤にはがづが3株  
であった、又、本県の西湖でとれた雑魚から細菌が  
分離されたことなど、ボツリヌス菌の分布は十  
和田湖畔全域にわたるものと推定される。

又、前記の土壤培養方法として我々は従来直接  
法を行って来たのだが、弘前大学等で行つおる遠

心沈殿法と比較実験の結果遠心沈殿法がより検出率が高く良好であると考えられた。

## む す び

近年秋田県内におけるボツリヌス菌の土壌分布は1965年～1969年の5ヶ年間の調査と、45年度の十和田湖畔等の調査結果からほぼ明らかになった。即ち、旧八郎潟残存湖と大潟村を中心とする周辺の地域と、十和田湖を中心とする湖岸周辺等の内陸地帯と、日本海にのぞむ男鹿半島周辺沿岸地帯等に極限される。本県における過去のボツリヌス中毒症例は22例（推定症例8を含む）で、その70%が旧八郎潟でとれた魚の飯ずしによるもので、20%は男鹿半島周辺で水揚げされた魚の飯ずしであった。従って我々は魚飯ずしについては再三警告して来たのであるが、1971年（S.46.1月）仙北郡太田町で「はたはた」飯ずしを食べた5名の内3名が発症した中毒事件が発生している。殊にこの事件は「はたはた」飯ずしが甘かったので味付けのため煮て（加温の程度）食べているが、不完全な加熱では毒素は完全に無毒化されず魚飯ずしはまことに危険な食品と云わねばならない。

ところが本県では毎年「はたはた」魚の期節になると多くの家庭で飯ずしを作る習慣があるが、これを作らない様にすることは県民の食生活の上からみて問題があると考えられるので、我々はこれらの事情に鑑みて、今後安全な魚の飯ずしを作る、と云うことを研究の課題としてすすめている。

1971年秋田県仙北郡太田町に発生したボツリヌス中毒の発生経過は、後のページに別記した。

## 文 献

- 1) 藤沢、小林、金、秋田県衛生科学研究所々報 13, 46, 1969
- 2) 小林、金、児玉、秋田県衛生科学研究所々報 13, 46, 1969
- 3) 小林、金、児玉、秋田県衛生科学研究所々報 14, 111, 1970
- 4) 弘前大学医学部、細菌、山本、工藤、他、日本細菌学雑誌 25, 115～116, 1970

秋田県仙北郡太田町に発生した、

「はたはた」いずしに因る、ボツリヌス  
食中毒について。 (経過報告)

秋田県衛生科学研究所

小林 運 蔵 金 鉄三郎

### A 食中毒発生の概要

- |                |  |  |
|----------------|--|--|
| 1 発生年月日        | 昭和46年1月24日                             | 度加熱し a を除く 3 人が食べた。 a は 24 日 20 時頃                     |
| 2 発生場所         | 秋田県仙北郡太田町駒場字寺田66                       | から (潜伏時間32hr) 腹痛嘔吐に始まり翌25日朝                            |
| 3 摂食者及び<br>患者数 | 摂食者 4 名、患者 3 名、<br>患者数 (発病率75%)、死亡 0 名 | は視力鈍り全身倦怠、眩暈、嚥下困難、歩行困難<br>となり入院した。                     |
| 4 原因食品         | はたはたいずし                                | b は 25 日 朝 从 (潜伏時間22hr) 腹痛嘔吐に始                         |
| 5 病原菌          | E 型ボツリヌス菌                              | まり視力障害、複視、呼吸困難 (特に吸気) 全身<br>倦怠、眩暈、両手足不自由、26 日 朝 意識不明とな |

### B 食中毒発生の探知

昭和46年1月26日午前10時30分、大曲市通町仙北総合組合病院より「ボツリヌス菌による食中毒らしい患者が発生した」旨、秋田県大曲保健所に電話連絡があり、直ちに係員が現地に急行して調査の結果、原因食品並び患者の発病状況などからボツリヌス菌による食中毒と推定された。

c は 26 日 午後 4 時頃から (潜伏時間52hr) 不快感あり嘔吐 2 回程あったが、ボツリヌス中毒の特異症状はなかったが、老令のため入院したものであるが、その 2 ~ 3 日後軽い嚥下障害等あるも軽症であった。

d はつまみ程度の少量を食べたが特別な症状が起らなかった。(表 1 参照)

### C 患者の状況

発病者は調査時症状が意識正常でなく、詳細な調査はできなかったが、医師から聴取した諸症状は次のとおりであった。

患者 3 名に共通症状として眩暈、口渇、嚥下困難、言語障害、視力障害、眼症状 (瞳孔散大)、呼吸困難等が認められ 発熱、下痢はともなわなかった。その後患者の恢復を待ち事情聴取したが、それによると患者 a は 1 月 23 日 昼、すしの漬桶に残っておったはたはたいずし約 500 g の全量を鍋にとり、味付けのため水としょう油を少量加えて煮た (若干加熱の程度)。 a はその少量を食べ、残りは翌日昼食時まで保存した。24 日 昼食時に再

表1 摂食者、摂食時間、発病時間

患者記号	年齢	性別	摂食日時	発病日時	潜伏時間
患者 a	55	♀	1/23. 12. 00	1/24. 20. 00	32h
" b	59	♂	1/24. 12. 00	1/25. 10. 00	22h
" c	75	♀	1/24. 12. 00	1/26. 16. 00	52h
摂食者 d	33	♀	1/24. 12. 00		

発病率75% 潜伏時間最短22時間 最長52時間 (平均35時間)

### D 原因食品及び汚染経路の追及

事件発生前の摂食状況を調査するに、患者の共通食品摂食状況は表2のとおりである。

表2 食品別摂食状況

摂食者及び 非摂食者	23日昼食	24日昼食				24日夕食				発病者	潜伏時間
	はい たず はし	い ず し	漬 物	み そ 汁 (白菜)	ご は ん	鶏 肉 煮 込	漬 物	み そ 汁 (白菜)	ご は ん		
患者 a	◎	×	○	○	○	○	○	○	○	○	32h
" b	×	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	22h
" c	×	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	52h
摂食者 d	×	◎	○	○	○	○	○	○	○	×	/
非摂食者 e	×	×	×	×	×	○	○	○	○	×	/
" f	×	×	○	○	○	○	○	○	○	×	/
" g	×	×	○	○	○	○	○	○	○	×	/

◎原因食品として疑われるもの

### E 細菌学的検索

#### 1 検査材料

中毒発生前の摂食状況調査から我々は、いずれしを第1の原因食品と推定して検査に重点をおき、次に鶏肉の煮込みを疑ったが食べ残りがないため、

一緒に煮た塩蔵の茸(なめこ、むきだけ、さわぼたし)を検体とした。又患者からの検体として、嘔吐物は廃棄され検査できなかったが、血液、糞便について毒素ならび細菌の検索を行った。(検査

表3 ポツリヌス毒素及び細菌検査

検査目的 検体名		ポツリヌス E 型		
		毒 素 (M. Cフィルター濾液)	肝々培養液	
			毒 素	細 菌
食 品	はたはたいずし	(-) 1月 28日	(+) 1月/31日	(+) 2月/17日
	塩 漬 茸	(-)	(-)	(-)
血 液	患 者 a	(-)	(-)	(-)
	" b	(-)	(-)	(-)
	" c	(-)	(-)	(-)
糞 便	患 者 a	(+) 1月/28日	(+) 1月/31日	(+) 2月/17
	" b	(+) 1月/29日	(+) 2月/1日	(+) 2月/20日
	" c	(-)	(-)	(-)

結果表3に示す。

### F む す び

本県におけるポツリヌス中毒は、仙北郡南外村でおきた(1961)、県内で第13発症例目の事件以来10年ぶり、第14例目にあたる。発病患者の症状は患者cを除く他の2名は定型的ポツリヌス症状で、しかも推定原因食品が「はたはた」のいずしにあったので、E型ポツリヌス中毒の疑いが推定されたのでポツリヌス検索に重点をおいた。一方早期に治療用血清(抗毒素血清)の緊急な手配により、岩手県北上保健所、千葉血清などからの送付があり1人の死亡者が出ず不幸中の幸であった。

毒素並び菌の検索にあたっては、最も有力な検体となるべきいずしが残り少く、且つしょう油による味付調理に2度も加熱が繰り返えされたもので、生のいずしでなかったためにポツリヌス菌の検索には極めて困難であった。

又、患者糞便からの検索もポツリヌス菌以外の

嫌気性菌の発育が旺盛で容易に純粋培養ができず菌決定までかなり日時を要した。

原因食品の汚染経路については、はたはたの購入が行商からのもので何処で漁れたものかその経路の追及ができず、又いずしの材料として使った野菜が患者の畠で栽培されたもので畠の土壤検索の必要もあったが、当時積雪多く採取困難であり後日の検索を予定している。

本稿は中毒発生の経過のみ載せたが、詳細な細菌学的検査経過については次回に報告する。

## わが国、殊に秋田県におけるボツリヌス菌 による食中毒の疫学

秋田県衛生科学研究所  
児 玉 栄一郎

次に掲げる論文は、1968年7月11日より5日間、ハワイのホノルルで開催された日米共同協議会の席上発表したものであるが、そのうち臨床に関する部分が未だ国内誌に発表していないので、特に此处に掲載することとした。わが国におけるボツリヌス菌による食中毒はB型による2発生例を除い

て全部がE型によるものである。欧米にはA型、B型による食中毒のみでなく、E型、F型によるヒトの食中毒もあるが、臨床所見に差違があるものかどうか疑問のあるところであるが、さしあたりE型によるボツリヌス菌食中毒における臨床所見を記して大方の参考に供したい。

## EPIDEMIOLOGICAL OBSERVATIONS ON BOTULISM IN JAPAN, ESPECIALLY ON THE PRESENT STATUS IN THE AKITA PREFECTURE

EIICHIRO KODAMA

(The Akita Prefectural Institute of Public Health)

### CLINICAL SYMPTOMS AND SIGNS OF BOTULISM IN JAPAN

There has been a topic that when a poisoning due to izushieating is occurred, one must loose his life, among the people near the Lake Hachiro. Probably that topic may point out the botulinal poisoning. From this episode it is comrehensive that mortality of izushi-poisoning is not low.

Already stated, since 1951, 319 botulinal patients and 83 deaths until now are reported in Japan. Out of them were the cases selected, whose clinical descriptions were relatively detailed, and the frequency of clinical symptoms and signs were studied.

#### (A) Morbidity

As in the Table 1 shows, the total average morbidity ia 57.4 per cent, but there is regional differences in it from 53.5 per cent (Hokkaido) to 100.0 per cent (Yamagata).

(B) Mortality

There is also some differences among the regions, it is 18.5 per cent in Hokkaido, 40.0 per cent in Akita, 47.1 per cent in Aomori, 62.5 per cent in Iwate, and 100.0 per cent in Yamagata. The mortality in Hokkaido is lowest of all, perhaps because of the antiserum therapy.

(C) Incubationtime

As in the Table 3 shows, the longest incubationtime (average)

Table 3 The Period of Incubation of Botulism in Japan (143 cases)

Area	No. of cases	Average Period of incubation (hr)
Hokkaido	70	20.2
Akita Pref.	59	17.5
Aomori Pref.	10	19.7
Iwate Pref.	3	15.3
Yamagata Pref.	3	17.3

was in Hokkaido 20.2 hr, and the shortest was 15.3 hr in Iwate, and the total average was 18.9 hr.

(D) Sex and Age of Patients

Among 165 cases of botulinal patients, 74 were male and 91 were female, that is female are more than male, but it seems to be no special meaning.

According to the classification by age, as in the Table 4 shows, patients are much in middle age, and less in young and old. But it is noticeable that that there were nine young patients under nine years old, especially one boy and one girl were both four years old respectively.



Table 4 Botulinal Patients Japan, by Sex and Age (165 cases)

	Sex	Ages								Total
		0 ~ 9	10~19	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70~	
Hokkaido	M	—	3	8	8	4	6	4	—	33
	F	3	5	10	7	8	5	4	—	42
Akita	M	—	4	5	2	3	9	3	1	27
	F	2	2	3	8	7	7	2	1	32
Aomori Iwate Yamagata	M	1	—	1	6	1	1	4	—	14
	F	3	—	3	3	2	3	3	—	17
Total	M	1	7	14	16	8	16	11	1	74
	F	8	7	16	18	17	15	9	1	91
Total (M, F)		9	14	30	34	25	31	20	2	165

(E) Seasonals of Incidence

In ancient time "izushi" was processed in general in winter, and at that time izushi had a meaning of "winter food stuff", but in accordance with the abundance of foodstuff, izushi has become to be preserved in other seasons and to have the meaning of subsidiary articles of food. As the seasonal incidences of botulism are recorded in the Table 5, 7 cases in spring, 11 cases in summer, 31 cases in autumn, and 8 cases in winter. The botulism in Japan is most frequent in autumn. Most of the farmers in Japan plow rice field, and the most busy season for them is late spring or early summer and autumn. The botulinal poisoning is also apt to happen in such busy seasons,

Table 5 The Seasonal Incidences of Botulism in Japan (57 cases)

Month	Jan.	Febr.	Mar.	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	Total
Hokkaido	2	1	2		3	2	3	1	3	7	6	5	35
Akita					1	4			2	5	1		13
Aomori									2	3	1		6
Iwate					1					1			2
Yamagata								1					1
Total	2	1	2		5	6	3	2	7	16	8	5	57

because farmers make willingly izushi to save time in kitchens.

(F) The Interval from Onset till Death in Botulinal Cases

As in the Table 6 is shown, the time from the beginning until death is somewhat different due to the areas. The shortest interval was 8.0 hr (Iwate), and the longest was 27.9 hr (Aomori), The average time was 21.0 hr.

Table 6 The Interval from the Beginning until Death in Botulism in Japan (61 cases)

Area	No. of deaths	Average Interval Time (hr)
Hokkaido	25	22
Akita Prefec.	23	20.5
Aomori Prefec.	7	27.9
Iwate Prefec.	3	8.0
Yamagata Prefec.	3	14.0
Total	61	21.0

(G) Clinical Signs and Symptoms in Botulinal Cases

Hitherto in the cases of botulinal patients were the following signs and symptoms marked: bellyache, nausea and vomiting, diarrhea (-gastrointestinal symptoms), and obstipation, vertigo, double vision, midriasis, ptosis palpebrae, swallow difficulty, dyspnea, dysarthria, numbness of whole body, and others (-neurological signs)

But there are some fear to miss the symptoms and signs, of which patients did not complain.

The frequencies of symptoms and signs of 129 botulinal cases are follow s:

Nausea and vomiting	85.3% ( 110 cases )
Diarrhea	19.4% ( 25 " )
Obstipation	23.3% ( 30 " )
Headache and dull head	17.8% ( 23 " )
Vertigo	9.3% ( 12 " )
Bellyache	41.9% ( 54 " )
Languor of whole body	32.6% ( 42 " )
Chill and shiver	10.9% ( 14 " )
Fever	6.2% ( 8 " )
Eruption	1.5% ( 2 " )
Convulsion	2.3% ( 3 " )
Thirstness	73.6% ( 95 " )
Dysarthria	34.1% ( 44 " )

Distress in thorax	3.1% ( 4 " )
Dyspnea	38.0% ( 49 " )
Abdominal meteorism	61.2% ( 79 " )
Unpleasant feeling in belly	2.3% ( 3 " )
Numbness of extremities	57.3% ( 74 " )
Hoarse voice	42.6% ( 55 " )
Retentio urinae	14.7% ( 19 " )
Ache of joint	0.8% ( 1 " )
Eye disorder	87.6% ( 113 " )
Weak tendon reflex	0.8% ( 1 " )
Low blood pressure	7.8% ( 10 " )
Dry cornea	0.8% ( 1 " )

Eye disorder is one of the principal sign or symptom of botulism, but the simple expression "eye disorder", or "eye symptom and sign" is not proper. Because such expression does not show the outer or inner signs of eye ball. Fortunately, the clinical reports of 97 cases out of 129 are written in detail, and the frequency is rearranged. The results are follows:

Amblyopia	78.4% (76/97)
Double vision	44.3% (43/97)
Ptosis palpebrae	40.2% (39/97)
Pupil reflex disturbance	19.6% (19/97)
Midriasis	52.6% (51/97)
Nystagmus	1.0% (1/97)

Now, according to the frequency, the symptoms and signs shall be arranged in the following order: nausea and vomiting ( 85.3per cent), amblyopia ( 78.4 per cent), thirstness (73.6per cent); belly swelling or meteorism ( 61.2 per cent); numbness of extremities ( 57.3per cent); midriasis ( 52.6per cent); double vision ( 44.3per cent); hoarse voice ( 42.6per cent); bellyache ( 41.9per cent); dyspnea ( 38.0per cent); and so on.

Out of the above mentioned symptoms and signs, gastrointestinals appeared at first, and then neurologicals appear secondly in general, but at times gastrointestinal symptoms signs miss, or both appear simultaneously.

Chill and fever are not often, and the frequency was 10.9per cent, but fever did not come always. Those who suffered from fever were 8 cases ( 6.2per cent); and the temperature was from 37.0 C to 42.0 C, but it was rare to reach 38.0C and over.

Convulsion appeared in three cases ( 2.3per cent); but in 4 cases at Hamamasu case (44per cent); but the iclinical state was not in detail. All three in the Akita cases (Futto and Haginari) were adults, two were male and 63 and 26 years old, the other one was female and 57 years old.

As mentioned above, patients appeal mostly at first on their severe pains, and doctors also mark the noteworthy signs and symptoms at the emergency. Therefore, mild ones are often overlooked. For instance, there was no case who complained of dys- or anosmia according to the numbness of N. olfactorius. Also there is no report that N. olfactorius was not affected by botulinal toxin.

The affection of N. opticus led to amblyopia or mist sight ( 78.4per cent), but there was no amaurotic case.

There was the affection of N. abducens, N. trochlearis, and as the result appeared double vision in frequency of 44.3 per cent. The affection of M. sphincter pupillae provoked midriasis(52.6per cent), but there was no case who showed myopia nor stiffness of pupils among 129 cases, but I believe there can be myopia, be it of transient nature.

There were seven cases of anisocoria ( 29.2per cent) among 24 cases of the outbreak at Toyotomi in Hokkaido.

Ptosis palpebrae was seen in 39 cases( 40. per cent), and nystagmus was seen only one case( male,41years old), but no detailed report.

There was no report on the affection of taste, chewing and hearing, nor of facial palsy.

The affection of N. glossopharyngeus, and of N. hypoglossus cause difficulty of swallowing and motoric dysarthria, and when the numbness N. vagus were associated, cause the numbness of vocal cords, difficulty of utterance, and at the last stage inspiratory dyspnea( 38.0per cent).

Vertigo was seen also and its frequency was 9.3 per cent( 12/ 126).

The numbness of N. trigeminus provokes the low lachrymal secretion and finally the dry cornea( 1.0per cent), and also nose-obstruction( 54.2per cent at the Toyotomi case).

The numbness of vagal nerve in accompanying with the affection of spinal sympathetic cause the suppression of oesophageal motion and dilatation of oesophagus and with help of the numbness of N. glossopharyngeus and N. hypoglossus cause the difficulty of swallowing ( 45.0 per cent). The oesophageal dilatation was verified in one case at the Ashizawa outbreak (56 years old male), and this has accompanied the elevation of diaphragm.

Swelled abdomen(meteorism) was seen in 79 cases(61.2 per cent) according to the numbness of N. parasympathicus and the weakened peristaltic motion provoke persistent obstipation(23.3 per cent).

Unconsciousness was seen in no case, but at the agonal stage is another.

As complications were the suppuration of gingiva and pharynx, glottitis,etc., and some times urticaria-like eruption is recorded.

When the patients have regained happily, some symptoms last relatively for a long time, such as thirsty, weakness of whole body, swelling of abdomen or meteorism, soariness of pharynx, midriasis, amblyopia, etc., but they faded away gradually with time.

Of course it is required at the onset of botulism to differentiate botulism from other diseases, for instance, from stroke, acute bulbar paralysis, appendicitis, obstruction of intestine, etc., and there were actually laparatomies reported in the past.

( UJNR CONFERENCE ON TOXIC MICROORGANISMS BOTULISM )  
CONFERENCE Oct. 7-11, 1968

Of course it is required at the onset of botulism to differentiate botulism from other diseases for instance from stroke, acute bulbar paralysis, myasthenia, myelitis, obstruction of intestine etc. and there were actually fabrications reported in the past.

CONFERENCE ON TOXIC MICROORGANISMS BOTULISM  
CONFERENCE Oct 7-11, 1958