

昭和42年秋田県内に於て検出した赤痢菌 の薬剤耐性について

細菌病理科 茂 木 武 雄

I ま え が き

昭和42年、秋田県内に於て分離した赤痢菌について、Dihydrostreptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline と Kanamycin の4種抗生物質に対する耐性を調べたので、その結果を報告する。

所及び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80株である。これを菌型別にみた場合、集団発生時に分離した赤痢菌を含めて、Sh. sonnei (1相, 2相) が最も多く43株53%の過半数を占め、次は集団発生時に分離した Sh. flexneri V.X の21株26%、3位は Sh. flexneri 3a の8株10%で、他の菌型 (Sh. flexneri 1b, 2a, 2b, 4) は、いずれも4%以下であった。

施設別にみた場合は、集団発生のおつた管内保健所のうち能代保健所が多い。

II 赤痢菌々型、供試菌株及び 使用薬剤

(1) 赤痢菌々型

昭和42年(1月~12月)に、県内各保健

第1表 昭和42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

菌 型	施 設	衛 研	秋 田	能 代	大 館	花 輪	本 荘	矢 島	大 角 館	横 手	湯 沢	鷹 巣	五 城 目	男 鹿	寄 生 虫 予 防 協 会	計 (%)	備 考
Sh. flexneri 1b			1													1 (125)	
" "	2a		1											1	1	3 (375)	
" "	2b														1	1 (125)	
" "	3a		1	2					3						2	8 (100)	
" "	4		1												1	2 (250)	Subtype 不明
" "	4a		1													1 (125)	
" "	V.X			21 (21)												21 (2625)	
Sh. sonnei	1		6	15 (8)	1		6		1	6					6	41 (5125)	
" "	2			1 (1)										1		2 (250)	
計			11	39	1		6		3	1	6			2	11	80	

註・能代保健所の菌株数は、赤痢集団発生時に分離した赤痢菌〔 〕内菌株数を含む。

(2) 供 試 菌 株

昭和42年分離した赤痢菌のうち、集団発生時の分離株を除く、一般依頼及び行政上の保菌者検査等で分離した第2表の34株、即ち、Sh.flexneri 2a-1株、3a-6株、4a-1株、Sh.sonnei 1-25株、Sh.sonnei 2-1株を用いた。

(昭和42年集団発生時に検出した赤痢菌の抗生物質に対する耐性度の検査結果は、秋田県衛生科学研究所報第12輯に掲載した。)

第2表 試験に供した赤痢菌

菌 型	菌株数	内 訳
Sh.flexneri 2a	1	寄生虫予防協会 (以下寄予協と 記す) 1
" " 3a	6	能代 2, 大曲 3 寄予協 1
" " 4a	1	秋田 1
Sh.sonnei 1	25	本庄 1, 能代 7 秋田 5, 大館 1 寄予協 4, 角館 1, 横手 6
" " 2	1	男鹿 1
計	34	

(3) 使 用 薬 剤

次の抗生物質 4種を用いた。

- (i) Dihydrostreptomycin Sulfate
一武田薬品工業KK製品(以下SMと記す。)
- (ii) Chloramphenicol Powder 一三共
KK製品(以下CMと記す。)
- (iii) Tetracycline Hydrochloride
Crystalline Powder 一日本レダリー
KK製品(以下TCと記す。)
- (iv) Kanamycin Sulfate 一三共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表のとおりで、供試菌34株のうち、100r/ml濃度に耐性を示したのは、SMに対しては7株(20.6%)、CM、TCにはそれぞれ18株(52.9%)であつたが、KMに対しては625r/ml濃度以上の耐性菌は認められなかつた。

100r/ml濃度に於ける使用薬剤3種、2種及び1種に耐性を示したものをみると第4表のとおりで、6株(17.6%)がSM、CM、TCの3種薬剤に耐性を示し、2種薬剤に耐してはCM、TCの12株(35.3%)、1種薬剤のみにはSMの1株(2.9%)であり、供試菌34株のうち、100r/ml濃度のSM、CM、TCのいずれかに耐性を示した赤痢菌は合計19株(55.9%)であつた。

菌型別にみた場合、Sh.flexneri 3aは、供試菌6株のうち、3株(50.0%)がSM、CM、TCの100r/ml濃度に耐性を示し、Sh.sonnei 1に於ては、供試菌26株のうち16株(61.5%)がSM、CM、TCのいずれかの薬剤の100r/ml濃度に耐性を示した。然も、そのうちの3株($\frac{3}{16} \times 100 = 18.8\%$)はSM、CM、TCの3種薬剤の100r/ml濃度に耐性であつた。Sh.flexneri 2aと4aの供試菌は夫々1株であつたが、SM、CM、TCの100r/ml濃度に対する耐性は認められなかつた。

第3表 昭和42年分離赤痢菌の抗生物質に対する耐性検査成績

薬 菌	劑 型	S M										C M										
		100	50	25	1.25	6.25	31.25	156	0.78	0.39	小計	100	50	25	1.25	6.25	31.25	156	0.78	0.39	小計	
Sh.flexneri2a	1						1				1										1	
"	3a	3					3				6										3	
"	4a						1				1								1		1	
Sh.sonnei	1	3	12					10			25	14					7	3	1		25	
"	2	1									1	1									1	
計		7	12				5	10			34	18					7	3	2		34	
耐性率(%)		↓20.6%										↓52.9%										1000

薬 菌	劑 型	T C										K M										
		100	50	25	1.25	6.25	31.25	156	0.78	0.39	小計	100	50	25	1.25	6.25	31.25	156	0.78	0.39	小計	
Sh.flexneri2a	1						1				1										1	
"	3a	3						3			6										6	
"	4a						1				1								1		1	
Sh.sonnei	1	14					11				25	23					2	23			25	
"	2	1									1	1									1	
計		18					13	3			34	32					2	32			34	
耐性率(%)		↓52.9%										↓1000										1000

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 r/ml)

薬 劑		3 種				2 種			1 種	計
		SM・CM・TC	SM・CM	SM・TC	CM・TC	SM	CM	TC		
菌 型	r/ml 菌株数	100	100	100	100	100	100	100		
Sh.flexneri 2a	1									
" " 3a	6	3							3	
" " 4a	1									
Sh.sonnei 1	25	2			12	1			15	
" " 2	1	1							1	
計	34	6			12	1			19	
耐 性 率 (%)		17.6			35.3	2.9			55.9	

V まとめ及びむすび

昭和42年度分離した赤痢菌で、集団発生時の菌株を除いた34株について、耐性試験を実施した結果、所謂、耐性菌と思われている100 r/ml濃度に耐性を示す赤痢菌は、SMには7株(20.6%)、CM、TCには夫々18株(52.9%)あつて、第5表に示すように、昭和41年分離菌株より低率(SM-60.8%、CM-60.8%、TC-59.8%)になつているが、前々年の昭和40年分離菌株と比較すれば、SM(35.1%)については、昭和42年分離菌株が、やや低率になつているが、CM(53.2%)、TC(52.1%)に対しては、略 同率である。又、SM、CM、TCの3種薬剤に対する100 r/ml濃度耐性菌をみると、第6表に示すように、昭和40年は4.0%、昭和41年には5.8%あつたのが昭和42年には6株、17.6%と低率になつているが、同濃度のいづれかの薬剤に耐性を示す赤痢菌は、昭和40年は53.2%、昭和41年61.9

%、昭和42年は55.9%と大差がない。このようにSM、CM、TCの100 r/ml濃度耐性赤痢菌について、昭和40、41、42年の耐性率をみると、耐性の上昇傾向はみられず、むしろ、やや下向の感があるが、これは供試した菌株数が少く、直ちに結論づけるわけにいかないが、赤痢症の治療には、SM、CM、TC系以外の薬剤も用いられてきている結果とも思われる。KMに対する耐性度については、昭和41年から実施しているが、昭和42年の分離赤痢菌は昭和41年と同様、100 r/ml濃度に対する耐性菌は認められず、凡ての供試菌は62.5 r/mlに対して感性であつた。

菌型別にみた場合、Sh.flexneri 2a 4aには、SM、CM、TCの100 r/ml濃度に対する耐性菌は認められなかつたが、Sh.flexneri 3aに於ては、供試菌6株のうち3株(50.0%)が3種薬剤に耐性であつた。

Sh. sonneiに於ては、供試菌26株のうち、対しては、3株(11.5%)が耐性であつて、い
 16株(61.5%)が、100r/ml 濃度SM、づれも昭和41年の77.8%、75.0%より低率
 CM、TCのいづれかに耐性であり、3種薬剤に である。

第5表 昭和40、41、42年分離赤痢菌の抗生物質に対する耐性検査成績

年 別 供 試 菌 株	薬 剤 >100r/ml	S M		C M		T C		K M	
		耐 性 菌 株	耐 性 率 (%)	耐 性 菌 株	耐 性 率 (%)	耐 性 菌 株	耐 性 率 (%)	耐 性 菌 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

第6表 昭和40、41、42年分離赤痢菌の抗生物質に対する3種薬剤
 2種薬剤及び1種薬剤耐性検査成績

年 別 供 試 菌 株	薬 剤 >100r/ml	3 種		2 種						1 種						計	
		SM CM TC	耐性 菌株 (%)	SM		CM		SM		CM		TC					
				耐性 菌株	耐性 率(%)	耐性 菌株	耐性 率(%)	耐性 菌株	耐性 率(%)	耐性 菌株	耐性 率(%)	耐性 菌株	耐性 率(%)	耐性 菌株	耐性 率(%)	耐性 菌株	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

参 考 文 献

- 1) 茂木・小林：秋田県衛生科学研究所報 №11, P31, 1967
- 2) 茂木：秋田県衛生科学研究所報 №12 p45, 1968

昭和43年秋田県下集団発生時検出赤痢菌の 薬剤耐性について

細菌病理科 茂 木 武 雄

I ま え が き

昭和43年、秋田県横手保健所及び角館保健所に於て、赤痢集団発生の際、保菌者検査により分離した赤痢菌30株につき、抗生物質Dihydrostreptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline, Kanamycinに対する耐性を調べたので、その結果を報告する。

のうち、第1表のとおり、各地区から無作為的に10株ずつ抽出し、試験に供した。即ち、角館保健所管内の仙北郡西木村檜木内地区10株(Sh. sonnei 1)と、仙北郡田沢湖町神代地区10株(Sh. flexneri 1b)、横手保健所管内の横手市旭城野岡下地区10株(Sh. sonnei 1)である。

II 供試菌株及び使用薬剤

(1) 供 試 菌 株

昭和43年の赤痢集団発生時に分離した赤痢菌

第1表 供 試 菌 株

流行地区	分 離 年 月 日	菌型及菌株数	赤 痢 菌 菌 型	供試菌株数
仙北郡西木村 檜木内小波内	昭和 43.3.23		Sh. sonnei 1	10
仙北郡田沢湖町 神代(真崎野, 梅沢東田)	43.3.28		Sh. flexneri 1b	10
横手市旭城野岡下	43.9.26~10.2		Sh. sonnei 1	10
計				30

(2) 使 用 薬 剤

次の抗生物質4種を用いた。

- (i) Dihydrostreptomycin (以下SMと記す。)
- (ii) Chloramphenicol(以下CMと記す。)
- (iii) Tetracycline(以下TCと記す。)
- (iv) Kanamycin(以下KMと記す。)

III 検査方法

Heart infusion 寒天培地を用いて寒天平板希釈法により実施し、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「+」と判定した。

IV 検査成績

耐性試験の結果は、第2表、第3表のとおりで供試菌3地区の30株は、KMに対しては125 r/ml 濃度以上の耐性は認められない。

SM、CM、TCに対しては、田沢湖町神代地区のSh. flexneri 1b 10株は、100 r/ml濃度耐性菌は認められず、耐性薬剤濃度が低かつたが西木村檜木内地区及び横手市旭城野岡下地区のSh. sonnei 1各10株に於ては、西木村檜木内地区のSM、50 r/ml濃度耐性菌1株を除いては、凡てSM、CM、TCの3種薬剤に対し100 r/ml濃度耐性であつた。

第2表 昭和43年分離赤痢菌の抗生物質に対する耐性検査成績

薬 流 行 地 区 (菌 型)	剤 r/ml 菌株数	S M						C M						小計											
		100	50	25	125	625	3125	156	078	039	小計	100	50		25	125	625	3125	156	078	039	小計			
西木村檜木内 (sonnei)	10	9	1																					10	
田沢湖町神代 (flex.1b)	10						10																	10	
横手市旭城野岡下 (sonnei)	10	10																						10	
計	30	19	1				10																	30	
耐 性 率 (%)		↓ 63.3%														1000	↓ 66.7%								1000

薬 流 行 地 区 (菌 型)	剤 r/ml 菌株数	T C						K M						小計											
		100	50	25	125	625	3125	156	078	039	小計	100	50		25	125	625	3125	156	078	039	小計			
西木村檜木内 (sonnei)	10	10																						10	
田沢湖町神代 (flex.1b)	10						9	1																10	
横手市旭城野岡下 (sonnei)	10	10																						10	
計	30	20					9	1																30	
耐 性 率 (%)		↓ 66.7%														1000	↓ 66.7%								1000

第3表 3種薬剤・2種薬剤及び1種薬剤耐性赤痢菌々株数
(100r/ml)

薬 劑	r/ml 菌株数	3 種			2 種			1 種			計
		SM.CM.TC	SM.CM	SM.TC	CM.TC	SM	CM	TC			
流 行 地 区 (菌 型)		100	100	100	100	100	100	100	100		
西木村檜木内 (sonnei)	10	9			1					10	
田沢湖町神代 (flex.1b)	10										
横手市旭城野岡下 (sonnei)	10	10								10	
計	30	19			1					20	
耐 性 率 (%)		63.3			3.3					66.7	

V まとめ及びむすび

昭和43年，秋田県横手保健所及び角館保健所に於て，赤痢集団発生の際，保菌者検査により，分離した赤痢菌30株につき，SM，CM，TC KMに対する耐性を調べた結果，田沢湖町神代地区のSh.flexneri1bは，SM，CM，TCに対して，100r/ml濃度の耐性は認められず，薬剤耐性濃度が低かつた。一方，西木村檜木内地区と横手市旭城野岡下地区のSh.sonnei 1に於ては，西木村檜木内地区のSM50r/ml濃度耐性菌1株を除いては凡て，SM，CM，TCの3種薬剤に100r/ml濃度耐性(95.0%)を示し

た。Sh.sonneiに於ける100r/ml濃度SM，CM，TCのいずれかの薬剤に耐性を示す菌株数の率をみると，昭和43年は100%であり，昭和41年(85.7%)，昭和42年(88.9%)の赤痢集団発生時に分離したSh.sonneiと同様，高率を示している。

KMに対しては，供試菌30株とも，100r/ml濃度耐性菌は勿論のこと，125r/ml濃度以上の耐性菌は認められなかつた。

参 考 文 献

茂木武雄；秋田県衛生科学研究所報 No.11，
No.12

秋田県に於ける土壤中

Clostridium botulinum の再度分布調査

秋田県衛生科学研究所 小林 運 蔵
 金 鉄三郎
 児 玉 栄一郎

緒 言

秋田県下に於けるボツリヌス菌(Clostridium botulinum, 以下ボ菌と呼ぶ)の疫学的調査ならびに、土壤に於ける分布調査は1953年旧八郎潟沿いの南秋田郡天王町の一農家において、ボ菌E型による食中毒が発生して患者4名に2名の死亡者が出たことに由来する。その後1954年~1964年において児玉、藤沢ら¹⁾、県内日本海岸線一帯及び、雄物川、米代川、その他主要河川の流域や湖沼周辺の土壤を、およそ2500検体を採取検索したが、その結果ボ菌E型29株、ボ菌A型4株を分離したことを報告している。

近年県内におけるボ菌による食中毒の発生は、1961年¹⁾仙北郡南外村の「さんま飯ずし」による患者16名の内12名の死亡(死亡率75%)事件以来今日まで発生がない。然しながら旧八郎潟の周辺および男鹿半島周辺の海岸線はもとより本県日本海沿岸においてもボ菌が分布していることは文献に明らかなどころである。

我々は1965年以降も引続き調査を行ない、1965年には土壤1200検体より8株、1966年には1000検体より22株のボ菌E型を検出したことを報告した。その後我々は1967年から1968年の2ヶ年間日本海および大潟村周辺の土壤1500検体についてボ菌の分布を調査した結果を報告したい。

I 調査実験の方法

1. 検体の採取地域及び方法

日本海沿岸の男鹿半島北端湯ノ尻より以北

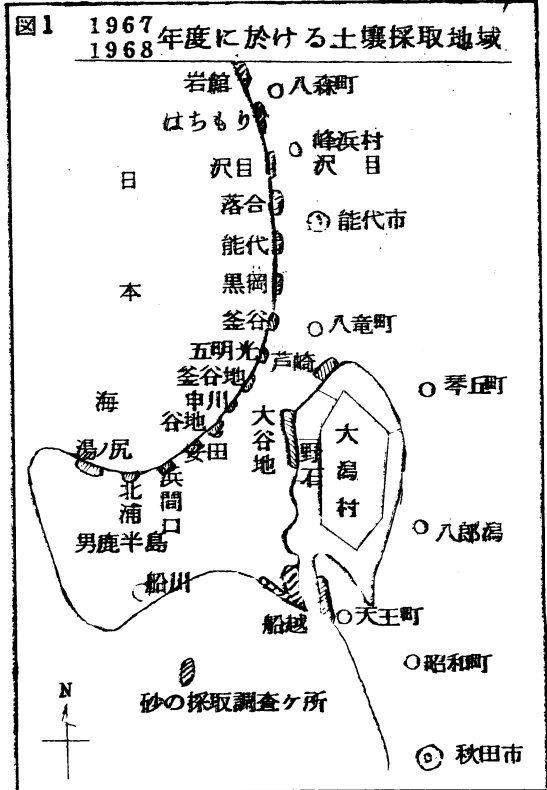


図1 1967年度に於ける土壤採取地域
1968

青森県境に至る山本郡八森町岩館海岸までの海岸地帯および男鹿市船越海岸、船越水道両河岸旧八郎崎残存湖岸の一部、主として漁港や船着場附近の土壌を採取した。採取方法は約2㎡の範囲を一区画とし、地表より約10~20cm下層数ヶ所から約100gをポリエチレン袋に採取し、これを1検体として、1地域50から100検体を採取した。このようにして図に示した19地域から計1500検体を採取して、検査の対象とした。

2 培養方法

採取した検体は殆んど砂質土壌で、 P^H は概ね5.8~6.8の酸性土壌であつた。これらの各検体約5~7gあて、Bacto Pepton(Difco)加、肝タピオン培地2本に取り60℃に1時間加熱した後急冷して、30℃5日間培養観察後毒素試験を行なつた。

3 毒素試験

① 定性試験

増菌培養した検体5件を1プールとし、その培養液を3500rpm 20分間遠心沈澱その上澄液を体重約20gのマウス2匹におのおの0.5ml宛腹腔内に接種し、3日間観察毒素の有無を判定した。

マウスを斃死させた毒素産生プール菌株は更に単独にProteose pepton(Difco)加、肝タピオンに移植し、30℃5日間培養した後、ボ菌抗毒素血清により中和試験を行なつた。

② 中和試験

前記培養菌液を用い、ボ菌抗毒素血清A・B・Eによる中和試験を行なつた。即ち、ボ菌抗毒素血清A・B・Eの各血清0.3mlに対して等量の培養毒素液を加え、37℃に20分間静置した後、その0.5mlをマウス腹腔内に接種し3日間観察、中和の有無を調べた。

更に中和したボ菌毒素については80℃20分間水浴中にて熱を加え、易熱性を確認した。

中和試験の対照としてボ菌E型は天王株を、

AおよびB型は国立予研より分与された株を用いた。

4 分離培養

ボ菌毒素産生株およびボ菌症として疑はしいものについて、更に血液加(緬羊)Brain-Heart Infusion(以下B.H.Iと呼ぶ)寒天培地にボ菌培養液を塗抹、Novy's Jar法により30℃48時間の嫌気性培養を行なつた。

5 抗血清凝集試験

血液寒天分離培養48時間で発育したボ菌落数個から鈎菌して、A・B・E抗血清を用い、スライド法で凝集試験を行なつた。

使用抗血清は本県で分離したE天王株、F30株、775株と、北海道衛研から分与されたE211株及びE341株で家兎を免疫した自家製抗血清を用いた。

II 実験成績

採取した土壌1500検体は殆んど砂質で、 P^H は概ね5.8~6.8の酸性土壌であつた。Bacto Pepton加、肝タピオンに増菌の培養上清の毒素実験においてマウスを倒した毒素(+)は64株あり、その中でポツリヌス特有の発症でマウスを斃死させたものは23株であつた。然しボ菌抗毒素血清A・B・Eによる中和試験の結果は、E型血清で中和されたもの15株であつたがAおよびB血清で中和されるものは認められなかつた。E型毒素(+)の15検体は80℃20分水浴中加熱により無毒化することが確認された。嫌気性分離培養では前記のボ菌症状でマウスを倒した23件と、(E型抗毒素血清で中和の15株を含む)ボ菌様症状で発症するも、後、消退した7件計30検体は、スライドグラス上でのA・B・E各型抗血清による凝集試験の結果、E型毒素を証明した15例の内9件と毒素産生の認められなかつた4件がいつれも、E型菌抗血清天王株で著明に凝集が認められた。これらについては更にProteose Pepton加、肝タピオンに純粋培養を行なつて毒素産性を確認したが、後者の4株は

表 1 土壤検体採取地域およびボ菌の検出状況

(1 9 6 7 , 1 9 6 8 年)

検体採取場所	検査成績 検体数	増菌培 養上清 毒そ(+)	ボ症特 有発症 でマウ ス致死 例	ボツリ ヌス E型毒 そ中和 件数	ボツリヌス E型陽性株内訳			
					E毒そ(+)	E毒そ(-)	E毒そ(-)	E型(+)
					E型菌(+)	E型菌(-)	E型菌(+)	計
山本郡八森町 岩館海岸	50	0						
" 八森 "	50	1						
山本郡峰浜村 沢目 "	50	0						
能代市 落合 "	50	0						
" 能代 "	50	0						
" 黒岡 "	50	0						
山本郡八竜町 釜谷 "	50	2	2					
" 芦崎残存湖	50	7					1	1
南秋田郡琴浜村 五明光海岸	50	0						
" 釜谷地海岸	50	2						
" 申川海岸	50	0						
" 谷地海岸	50	1						
" 大谷地残存湖	50	6	5	1		1	2	3
" 野石残存湖	100	3	1	1	1			1
男鹿市 安田海岸	50	1						
" 浜間口海岸	50	1						
" 北浦海岸	250	6	1	1		1		1
" 湯ノ尻海岸	150	4	1					
" 船越海岸	100	11	4	4	2	2		4
船越水道 東河岸	100	14	6	8	6	2		8
西河岸	50	5	1				1	1
計	1500	64	23	15	9	6	4	19

マウスを倒さず、これらは無毒のボ菌 E型と推定された。

これらの E型毒素陽性株の地域的分布状態は表 1 に示したが、男鹿半島北浦より北方の日本海岸

沿いの地域ではボ菌は認められなかつたが、男鹿市北浦海岸に 1 件、船越海岸 4 件、船越水道両河岸で 9 件のボ菌 E型を認め、又旧八郎潟残存湖岸では南秋田郡琴浜村に 4 件、八竜町芦崎に 1 件が

いづれもボ菌E型であつた。

※ 生物学的性状検査などの成績は引き続き検査中のため後日の発表にゆずる。

Ⅲ 考 察

本調査は採取土壌を検体として直接培養を行ない、その上清について毒素産生試験および分離培養を実施したのであるが、ボ菌E型毒素の産生が認められてもE型菌の分離できなかつたものもあり、又E型菌と同定されても毒素産生の無い、いわゆる無毒の株もかなり認められた。最初の増菌培養に際して雑菌除去の目的で60℃1時間の加熱処理を行なつたにも拘わらずマウスをたおすものがあつた。これはボ菌以外の嫌気性菌が、或いは数種の雑菌混在の毒素によるものか、あるいはまた土壌中の有害な化学的物質等の影響を受けるものか、いろいろ考えられる。このようなボツリヌス菌以外の毒素でマウスを斃死させた49検体については今後更に検討する予定である。

Ⅳ む す び

採取土壌1500検体中はじめの増菌培養上清でマウスを倒した毒素株は64件あつたが、その後ボ菌抗毒素血清に対する中和試験および嫌気性

分離培養後の抗血清による凝集試験などで、E型菌と同定されたものは19株であつた。又E型菌の地域的分布をみると旧八郎潟周辺残存湖岸の地域で5株であり、船越水道東河岸では最も多く8株が検出された。対岸西河岸では1株であつた。船越海岸では4株、北浦海岸に1株で計19株が検出され、検出率は12.7%であつた。

本県に於けるボツリヌス菌による食中毒のすべてがE型毒素によるものであるが、その原因は本県の各地土壌中にボツリヌス菌があり、それが専らE型菌であるところから、E型菌による中毒が多いと思われる。

我々は今後も更に詳細な分布調査を行ないたい

文 献

- 1) 児玉, 藤沢, 坂本, 秋田県衛生科学研究所報, 8, 15, 1963
- 2) 藤沢, 金, 伊藤, 秋田県衛生科学研究所報 10, 17, 1965
- 3) 児玉, 藤沢, 秋田県衛生科学研究所報, 6 64, 1962
- 4) 秋田県公衆衛生課, 秋田県仙北郡南外村に発生したボツリヌスE型菌毒素による食中毒について, 1963
- 5) 藤沢, 小林, 金, 秋田県衛生科学研究所報 11, 55, 1966

「ハタハタ」飯ずしの実態 とボツリヌス菌の調査

細菌病理科 小林 運 蔵
金 鉄三郎

はじめに

秋田県に於けるボツリヌス症は、1953年南秋田郡天王町における川鯛飯ずしによる食中毒発生以来今日まで13例あり、患者数60名、死者24名で致死率は40%であつた。又推定症例(未確認を含む)が8例あり、患者数32名、死者10名、死亡率31%と非常に高い致命率であつた¹⁾ことに1961年仙北郡南外村でおきた「さんま」飯ずしによる中毒発生においては患者数16名中12名が死亡し、致命率75%の突にいたましい事件であつた。²⁾このように本県におけるボツリヌス菌による食中毒の原因のすべてが自家製の飯ずしによるものである。従つて本中毒防止には原因食品である飯ずしを作らず食べなければその心配はない訳である。しかし「はたはた」飯ずしは本県の郷土名物の一つで、最近県外にも多数出荷販売され、又一般家庭においてもその地域によつては部落の80~90%で冬期間の唯一の保存食料として作られている。1962年、県公衆衛生課庄古技師による実態調査の結果でも県民の $\frac{1}{2}$ 以上が飯ずしを食べていることを報告している。⁴⁾

1961年11月に発生した仙北郡南外村での恐ろしい中毒事件は、まだ多くの県民の記憶に残っている筈であるが、飯ずし作りは一向に減らず「はたはた」飯ずしは県民の食生活から切り離されないものようである。

飯ずしによる中毒の発生は主に東北、北海道に多いために、安全な飯ずしの調理方法を案出すべく北海道衛生研究所で実験した処によれば⁵⁾、醋酸

および乳酸菌の添加によつて、ボツリヌス菌の毒素産生がある程度阻止されることを発表している。

本県でも数年前より安全な加工について考究してきたが、現在のところ絶対安全であると保証できる方法は未だないようである。しかし近年県民の衛生環境の向上、食品衛生に対する関心も高まり、安全な飯ずしの作り方などについて、県水産試験場等の指導、或いは地域婦人団体などでも数々の工夫がなされている。吾々は本県における最近の飯ずし作りが果して無害であるかどうかを知るべく、細菌学的検査を主にして若干の調査を行なつたのでその結果を報告したい。

調査方法と結果

1. 調査地域及び調査期間

調査地域は主として、ボツリヌス菌による食中毒発生事例のあつた地域、男鹿市ならび旧八郎瀧周辺町村6地域と仙北郡南外村、その他参考として秋田市、能代市など3市6町村を対象とした。

又調査期間は昭和44年1月20日~2月下旬までの間実施したが、「はたはた」飯ずしの採集は、昭和43年1月20日秋田市の10検体を始めとし、その他は昭和44年1月22日~2月12日の間前記市町村から90検体

計100検体について細菌学的検査を実施した。

2 いずしの製造工程

「はたはた」飯ずしの作り方はその地域によつてそれぞれ多少の相違と特色がある。今度の調査では漬込み期日は製造販売業者においては10月下旬から始まり、一般家庭では大方12月10日頃から20日頃までであった。

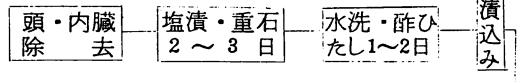
また漬込みしてから「フタ、蓋」明けまでの期間も製造業者間で、早いものでは5日～1週間ぐらいであった。一般家庭では普通2週間から約1ヶ月以内が最も多かつた。漬込みに入る前の魚の処理方法なども地域によつて相違があり、例えば生魚の頭部、内臓を除去して直ちに塩をふりかけて塩漬とし、それに重石をしておくこと2～3日間（血出し）、その後一旦水洗して直ちに酢（食酢を薄めたもの、酢酸をうすめたもの、または酢のもとを使用する）漬にすること半日から2日間、その後はこれを用いて米飯中に野菜などと共に漬ける（本漬け）。またある地域では生魚の頭部や内臓を除去して適宜の大きさに切り、水に晒らすこと（血出し）2～3日、水をきつて塩に漬け重石を置くこと2～3日、その後水をきつて、水洗いすることなく酢にひたすこと半日から2日間、その後野菜と共に米飯に漬け込む。これら2方法が一般に行なわれているが、数年前と漬け方が変わったことに注目すべきである。漬け方を表示すると次のようになる。

表 I いずしの製造工程

漬け込み期日			漬込みから「フタ」あけまでの期間		
月別	件数	漬込率	日数	件数	割合
10月	2	2%	5日～10日迄	10	10%
11月	8	8%	10日以上15日	11	11%
12月	88	88%	15日以上20日	27	27%
1月	2	2%	20日以上30日	37	37%
			1ヶ月以上	15	15%

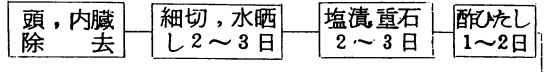
漬込み前の魚の処理方法

例①



→漬込に際し、米飯、糍、調味料、野菜を加える

②



→漬込み → 漬込に際しての使用材料は上記と同じ。

3 漬込み材料とその使用量

「はたはた」1箱約10Kgを漬けるに用いる諸材料の量ならび使用方法等の調査結果を、(1)～(10)に分類して表Ⅱに示した。この表で見られるように、

- (1) 塩の使用量はまちまちであるが平均して、1箱につき1Kg～1.5Kgである、使用の方法は水晒し前に塩漬けるもの、或いは2、3日水晒した後に塩漬ける二通りのようである。
- (2) 水晒しする日数は、水洗して直ちに塩漬けるもの18%で、1～3日間水晒しするもの74%、4日以上7日間の水晒しが僅か8%であった。
- (3)(4)(5)酢の使用は醋酸、氷醋酸、酢の素、ミツカン酢などがあり、酢の種類により使用量の相違があり実態がつかみ得なかつた。最初の酸度(PH)も概ね4.5～5.4位のかなり酸性のものが多い。
- (6) 酒の使用は飯ずしの風味をよくするのが目的で60%のものが使用しているがその量はまちまちであった。
- (7) 米飯は殆んどのところで使用しており、約1Kg～2Kgの使用が多い。
- (8) 糍の使用量もところにより相違があつたが100g～200g程度が約半数で、全く使わないものも21%にあり、これ等は比較的長期保存する目的により量を少くしたり、或いは全く使われない。

(9) 野菜は入れないもの僅か4.5%であつた。
人参又は大根のいずれか一種類を入れるもの10%、かぶ、大根、ふのり、菊などの内2種類を入れるもの60%で最も多く

3種類のもの21%、4種類が若干あつた。

(10) 使用水は近年水道の普及から60%が水道か簡易水道水で、市街地以外ではまだ自家井戸が多く40%で、その他湧水を使用しているところも見られた。

表Ⅱ 漬込み材料とその使用量
(はたはた、1箱約10Kg入に対する使用量)

(1) 塩の使用方法 (使用量平均1Kg ~1.5Kg)		(2) 水晒し日数 (平均1日~3日間)						(3) 酢に浸たす,又は酢をかける (平均半日~1日)					
水晒し前に塩漬ける	水晒し後に塩漬ける	晒さない	1日	2日	3日	4~7日	使用しない	半日	1日	2日	3~5日	かける	
43%	57%	18%	17%	27%	30%	8%	8%	23%	40%	15%	7%	7%	

(4) 酢の使用量 (平均200~500ml)					(5) 酸 度 (pH)					(6) 酒の味付		(7) 米 飯 (米の量)		
使用しない	100ml	200ml	400ml	500~1000ml	4	4.3	4.6	5	5.5	しない	する	500g	1~1.5kg	1.5~2kg
14%	15%	25%	24%	22%	4.2	4.5	4.9	5.4	5.8	40%	60%	7%	48%	45%

(9) 野菜の種類 (人参・かぶ・大根・きやべつ・ふのり・きく)							(8) 糶 (こうじ)						
使用しない	一 種 類		二 種 類				三種類	四種類	使用しない	100	200	500	700g
	人参	大根	人参かぶ	人参大根	人参ふのり	人参その他	上記野菜の内	上記野菜の内	200g	500g	700g	以上	
4.5%	8%	2%	20%	24%	8%	7%	21%	5.5%	21%	47%	9%	13%	10%

4. 細菌学的検査

採集した飯ずし100検体について、ポツリヌス菌ならび大腸菌群の検索を行なつたが、その検査結果は表Ⅲに示したとおりである。

(1) 検査の方法

イ、ポツリヌス菌ならび毒素

採集飯ずしは1世帯あたり約100g~200gを集めその20gを取り碎挫した後、等量のSorensenのゼラチン加磷酸緩衝食塩を加え乳剤とした後、これを検査

材料として3本のProteose Peptone (Difco) 加、肝タピオンにそれぞれ5ml宛採取60℃1時間加熱雑菌を除去した後、30℃-5日間増菌培養観察した。次いで培養液上清について、1検体当りマウス2匹を用い毒素の有無を検じた。即ち培養液上清を0.5ml宛マウス腹腔内に接種して3日観察した。

ロ、大腸菌群

前記の乳剤を検査材料として大腸菌群の

有無を同時に検査した。即ち、検査材料1検体について、2枚のデゾキシシロート培地(日水)平板に検体各1ml宛振盪培養37℃-24時間~48時間培養観察して大腸菌群の有無を判定した。

(2) 実験成績

表Ⅲに示したとおりポツリヌス菌ならびにポツリヌス毒素は認められなかつたが、大腸菌群の陽性件数は15件があり陽性率15%の大腸菌による汚染が確認された。

表Ⅲ 細菌学的検査成績

飯ずし採取地名	検査・成績 検査・件数	ポツリヌス菌	ポツリヌス菌毒素	大腸菌群	
				陽性件数	陽性率
山本郡 八竜町	9	陰性	陰性	0	
能代市 浅内・その他	10	〃	〃	0	
南秋田郡 八郎潟町	11	〃	〃	1	9%
井川村	10	〃	〃	1	10%
琴浜村	10	〃	〃	0	
男鹿市 船川	10	〃	〃	4	40%
船越	10	〃	〃	1	10%
仙北郡 南外村	15	〃	〃	3	20%
秋田市 土崎港	10	〃	〃	3	30%
市販品	5	〃	〃	2	40%
計	100	0	0	15	15%

考 察

飯ずしの実態調査は、1962年庄古技師により詳しく調査された⁴⁾ところであるが、7年後の今日吾々が行なつた調査結果で見ると、飯ずしの作り方は若干の地域的相違はあるものの、以前に比してかなりの変化が窺われた。1961年の仙北郡南外村での「さんま」飯ずしによる中毒発生³⁾以来今日まで1件もポツリヌス菌による中毒発生が見られぬこともその一因であろうかと思われる近年、向上しつつあると認められた食品衛生上の配慮は以下の諸点に現われているようである。

1. 近年水道の普及が著しく進み、且つ新洗剤等により使用諸器具容器などよく洗われていた。

過去においては旧八郎潟周辺部落では、ポツリヌス菌の温床とも思われる同湖水の水を使用しているものも少くなかつたようである。

2. 飯ずしの材料も庄古等の調査では、はたはた

さんま、にしん、あらまき、かれい、ます、はぜ、さば、こい、かなぎ等10数種の魚を材料としてあげられていたが、現在県内では「はたはた」以外の魚では殆んど作られていない。

- 自家製「はたはた」飯ずしの漬ける季節は、本県では「はたはた」漁の最盛期である12月が最も多く87%を占め、食べるのも殆んど12月末から1月末までの最も寒冷の季節で、過去における本県の中毒発生例³⁾で見ると、5月(1件)、6月(3件)、9月(1件)、10月(5件)、11月(1件)で、全て冬期間以外であり寒冷期中の発症は見られていない
- 魚体の水晒しの日数も庄古等の調査当時は1~3日間行なうもの50%で4~7日間のものが17%、10日以上が3.5%と比較的長い日数の水晒しが少くなかつた。然し今回の調査ではこの点に変化が見られ、水晒しせずに丁寧に

む す び

洗つた後直ちに漬込するもの18%, 1日~3日間行なつたもの75%, 4日~7日のもの8%でそれ以上長期間水晒したものはなかつた。酢の使用なども前回の調査では75%, 今回は92%であつた。以上のように7~8年前とはかなり食中毒に対する関心が窺われるが、これだけでは全く安全であるとは云い切れないのである。何故ならば県内各地の土壤には現在でもボツリヌス菌が拡く分布していることが吾々の調査で判明して居り、魚や野菜などの汚染はまぬかれないからである。従つて吾々は中毒を起さない安全な飯ずしの調理法について考察を行なつているが現段階ではそれに到達してゐないのは誠に残念である。然しながら今回の諸調査結果にもとづき、飯ずしを作る際に注意すべき点として庄古等の指示に若干の補足を加えてみると次の諸点になる。

1. 飯ずしを作るとか、食べるのは寒い冬期間に限るべきである。
2. 魚の水晒しは水道水を用い、最大限1~2日間位とし、1日数回取換えること。
3. 材料はすべて冷えた状態で調理する。
4. 飯ずしには必ず十分に塩と酢を用いて魚体を処理する。
5. 使用する材料はすべて新鮮なものを用いること。
6. 調理にたずさわる者は、手指の消毒は勿論使用する諸器材は清潔な水、又は洗剤でよく洗うこと。

以上は止むを得ず飯ずしを漬ける場合に対して望ましいことであつて、決して安全であるとはいえない。

- ① 県内3市6ヶ町村より採集した「はたはた」の飯ずし100検体について、その製造期日、方法等について調査の結果、販売用は10月下旬から漬込みを開始し、一般家庭用は「はたはた」漁の最盛期の12月中旬頃に漬込まれるものが多かつた。
- ② 加工法、材料等については地域によつて可成りの相違が認められた。
- ③ 細菌学的検査結果、ボツリヌス菌及びボツリヌス菌毒素は全く検出されなかつたが、大腸菌群は15%の陽性率であつた。

擲筆するに當つて検体採集に當り格別の御援助をいただいた、秋田保健所、大曲保健所、五城目保健所、男鹿保健所および男鹿市役所、八竜町役場の担当各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 小松, 児玉, 藤沢, 秋田県衛生科学研究所報, 5, 33, 1961
- 2) 秋田県公衆衛生課, 秋田県仙北郡南外村に発生したボツリヌスE型菌毒素による食中毒について, 1963
- 3) 秋田県大曲保健所, 秋田県仙北郡南外村に発生した「さんま飯ずし」による食中毒発生について, 1962
- 4) 庄古, 秋田県衛生科学研究所報, 6, 58, 1962
- 5) 神田, 飯田, 北海道衛生研究所報, 8, 33, 1957

土壤中のClostridium welchiiの耐熱性菌 とそのHobbs Typeについて (第1報)

秋田県衛生科学研究所 金 鉄三郎

まえがき

ウエルシュ菌(Clostridium Welchii Clostridium Perfringens)による食中毒について最近特に各方面で関心が深まり、その研究発表も多見されるところである。これら食中毒の細菌学的検索で検出した耐熱性菌を、その原因菌と決定するには慎重であらねばならない。

本菌の正常人糞便中の分布についての実情を把握しておくことの必要性は、赤真³⁾らの強調しているところであり、筆者²⁾もまた健康成人糞便中¹⁾

のウエルシュ菌調査の一端を報告した。また山隈³⁾はこれら食中毒起因の嫌気性菌の保有母体とみられる土壌の分布についての研究で、その環境を究明することの重要性を挙げている。

この土壌中における耐熱性ウエルシュ菌分布の実際を探るべく筆者は、県内主要地点の土砂について検査を実施し、若干の成果を得たので報告する。

実験方法

I 土壌採取について

① 検体採取場所は図に示したとおりであり、42年5月～9月までと、43年7月に、日本海岸および秋田市に最寄りの河川を選びその川岸の土砂を採取した。採取検体数は表1のとおり、42年は380、43年には200合計580件である。

② 採取方法は1地区を10区画に分け、その1分割の地点より各5検体を採取、延50検体を収集した。

1検体はほぼ200gの土砂を採取ポリエチレン袋に入れて持ち帰り、供試材料とした。

2 培養方法

① 耐熱性菌の増菌培地としては、自家製の馬肝々片ブイヨンを使用した。

② 嫌気性菌分離培養基としては、市販のCW寒天基礎培地(ニツサン)に、卵黄液を加え

図1. 検体(土壌)採取地点



て使用した。

- ③ 嫌気性培養法
真空ポンプ吸引によるNovy's jarの方法によつた。

表1 検体採取場所、検体数

採取年月	地区	区分	採取場所	検体数	
425	本荘	子吉川岸	10	50	
426	船川	海岸	10	50	
		岩館	10	50	
427		八森	10	50	
		下浜	10	50	
428	大瀧	中央開拓畑	3	50	
429	土崎	海岸	10	50	
		門前	10	50	
437	秋田	雄物川岸	10	50	
437	秋田	雄和	岩見川岸	10	50
		旭川岸	10	50	
		大曲	丸子川岸	10	50
計	12地区	113箇所		580	

3. 耐熱性菌の分離法

それぞれのサンプルを約5g宛に肝タピオンに投入し、100℃1時間加熱後急冷し次いで37℃フラン器内にて、20時間以上観察する。明らかに増殖を示し、ガス発生と濁濁を認めたものについて、CW寒天培地に分離、37℃で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た

4. 分離菌株の形態および生化学的性状検査

分離菌株の諸性状検査は表2のとおりを実施したもので検査法は、辺野喜⁴⁾のテキスト、その他⁵⁾によつた。

5. 血清型別法

分離され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。Zeissler 寒天に純培養の被検菌液を作製し、のセガラス上にて凝集反応を実施して、そのHobbs型別を分類した。

表2 Cl.welchii菌の諸性状

性状	方法	成績	
染色性	グラム染色	(+)	
形態	"	大桿菌	
好気性	普通寒天	37℃	(-)
	血液寒天	1日	(-)
肝タピオン	100℃ 60分加熱	"	(+)G(+)
CW卵黄培地	乳光反応	嫌気性	(+)
	d抗毒素抑制	培養37℃~1日	(+)
血液培地	溶血性	"	(+)
		培養後室温放置	コロニー変色(+)
牛乳培地(鉄加)	凝固試験 酸酵試験	37℃	(+)
		1日	(+)
インドール反応	コバツク氏法	37℃~3日	(-)
運動性	Bacto-Thioglycollate Medium Without DeXtrose(Difco)+寒天	37℃~2日	(-)
炭水化物分解能	ラクトゼ ブドウ糖	37℃	(+)
		3日	(+)

II 実験成績

- 1 実験の結果、表3のとおり、12地区113個所、580検体から100℃1時間の耐熱性を有する菌株67を分離し得た。
- 2 100℃1時間に耐えた67株についてそのHobbs血清型に分類出来たのは、34

株であり、これは580検体の58.6%にあたる。耐熱性株のHobbs Type率は表4のとおりである。

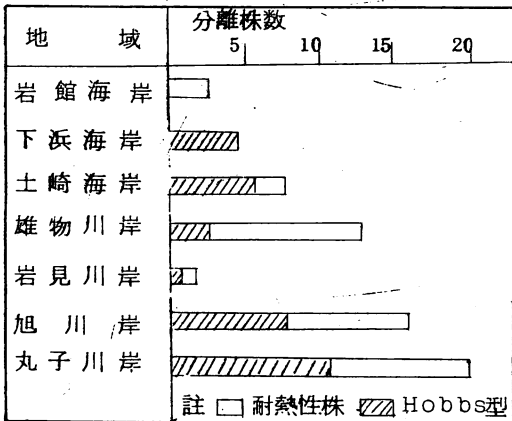
- 3 Hobbs血清型別で多いものは、Type11が12株、Type1が9株、Type13が4、Type10が3株となった。

表3 土壤中の耐熱性菌とそのHobbs Type

区 分	採取 ヶ所	検体数	成 績														
			耐熱 性株	Hobbs 型	検出 率%	型別 不能	Hobbs Type										
							1	4	5	6	7	10	11	13			
子吉川岸	10	50	(-)														
船川海岸	10	50	(-)														
岩館 "	10	50	3	0		3											
八森 "	10	50	(-)														
下浜 "	10	50	5	5	10		5										
大得村中央開拓畑	3	50	(-)														
土崎海岸	10	50	8	6	12	2	1	1		2	1					1	
門前 "	10	50	(-)														
雄物川岸	10	50	13	3	6	10			1								2
岩見 "	10	50	2	1	2	1								1			
旭川岸	10	50	16	8	16	8	3					1	2				2
丸子川岸	10	50	20	11	22	9										11	
113個所		580	67	34	58.6	33	9	1	1	2	2	3	12			4	

考 察

表4 耐熱性株のHobbs Type率



山県³⁾による実験では、756個のサンプルで、その中の10個がHobbs型で検出率1.32%であり、辺野喜らは東京都の泥砂で4.4%、林らの成績では、長崎で8.3%、沖縄で5.7%の検出率であつたことを引用している。これらに比較して私が得た58.6%という成績は、ほぼその中間に位するものであるが、表3のように採取地点によつては0%から22%という高率な地区(大曲、丸子川岸)を認めることが出来る。

更にHobbs型が検出された地区について、採取時の条件等を具体的に検討してみると、下浜

海岸は真夏の海水浴シーズンで海水浴客が可成りの混雑を呈した日曜日の採取であり、岩館海岸は同一時期でありながら海水浴客のまばらな平常日の採取であつたのである。又、土崎海岸は船泊の出入はげしく、港内に碇泊の商船も数多く、人糞等による汚染が考えられる。このことは、八森、門前等の海水汚染の少ない海岸から採取の場合は本菌の検出0という結果が得られたことからもうなづけるものと思う。

一方川岸では秋田市中央築華街を貫く旭川の川反を中心として採取したものや、新屋大橋から雄物川河口におよぶ地点、大曲市を中断して流れる丸子川岸など、いずれも汚物の堆積する地帯であつて、ここから高率にHobbs型が検出されたが、この築華な地点と対照的な吉川河口等からは検出されなかつたことにも、このことを裏付けられるものがある。これらの諸要因から推して、ウエルシュ菌の汚染は、採取時期、採取地域、および環境等によつて左右され、人間の介在がなによりも大きな影響を与えるものであるように考えられる。

因に健康成人の糞便には相当高率にHobbs Typeの耐熱性菌を保有していることは、前年度所報²⁾にて私の報告したとおり、29.6%であり、赤真¹⁾らによると50%という報告もある。

むすび

- 1) 県内12地区より無作為的に採取した土壌サンプル580検体よりClostridium welchii耐熱株は67株で、その中にHobbs Type型別が出来たのは34株(59%)であつた。
- 2) Hobbs型別分類では、Type 11および1型が高率に認められた。

文 献

- 1) 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
- 2) 金鉄三郎：健康成人糞便中のウエルシュ菌の調査，秋田県衛生科学研究所報，No.12，55-60，1968
- 3) 山泉宏：食中毒起因嫌気性菌の土壌内分布調査に関する調査研究，山口県衛生研究所業績報告，第1号101-106，1963
- 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) 辺野喜・善養寺：細菌性食中毒，南山堂版

魚類、肉類等の加工調理食品の

Clostridium welchii の汚染調査について

秋田県衛生科学研究所 金 鉄三郎

はじめに

ウェルシュ菌(Clostridium welchii . Clostridium perfringens)による食中毒の原因究明の一端として、私は、先に正常人の糞便についてその分布を調査して、その実態を報告した。更に引続いて土壤中に分布する耐熱性菌と、そのHobbs型別を本所報に別掲した。すなわち正常糞便中の耐熱性菌の保有率と共に土壤中の耐熱性菌、特にHobbs Typeの分布は、これら一連の実験の結果、可成り高率に認められることが明らかになつたのである。これらのデータを検討した結果、今回は市販の食品特に加工調理品について、ウェルシュ菌の汚染調査を行ない、食中毒発生時における対策の参考資料に備うべく調査を行なつた。

- 2 嫌気性菌分離培養基としては、市販のCW寒天基礎培地(ニツサン)に、卵黄を加えて使用した。
- 3 生菌数測定には、カナマイシン加卵黄寒天を使用した。
- 4 嫌気性培養法はNovy's jarの方法によつて行なつた。

表1 検体入手状況

月日	購入先	主なる食品
9.20	秋田市 マルサンストア	ソーセージ類
"	" 秋田 セントラル デパート	ハム、ソーセージ類
9.26	" 佐川食品	かまぼこ、さつまあげ、ハンバーグ、ハム類
"	" まるみや	かまぼこ、かきふらい、さんま、てんぷら、野菜てんぷら類
10.1	" ト一屋	コロツケ類、玉子焼、厚あげ他
"	" なかよし	コロツケ類、竹輪、ハム、ソーセージ類
10.7	" 木内デパート	味付かまぼこ類
"	" マルナカ	ふらい類
"	" 協働社ビル	ハム、ソーセージ類

I 検体の種類

- 1 検体は表1のとおり、秋田市内主要食品店、デパート、スーパーマーケット等より買上げたものである。
- 2 検査品目および検査数量は表2のとおりで、魚類加工品48件、調理品30件、肉類加工品18件、調理品18件、野菜類調理品4件、卵類調理品4件、大豆類加工品2件の、加工品計72件、調理品計52件、合計124件であつた。

II 使用培地

- 1 Cl.welchii 菌の増菌培地としては自家製の馬肝々片ブイヨンを使用した。

Ⅲ 実験方法

検査法については、辺野喜³⁾のテキスト、その他⁴⁾の方法に従ったものである。

1. ウェルシュ菌の生菌数測定

乳鉢で細砕、粉碎した検査材料10gを滅菌生理食塩水で10倍乳剤をつくり、その0.1mlを充分乾燥したカナマイシン加CW卵黄寒天2枚に、コンラージ棒にて塗抹、37℃18~24時間嫌気性培養を行ない、発生したコロニー数

を測定した。

2. ウェルシュ菌増菌培養

検査材料の10倍乳剤の1mlを肝タピオンに投じ1本はそのまゝ、1本は100℃1時間加熱後、37℃フラン器内で24時間培養後、明らかに増殖を認めたるものについて、また非加熱のものは、カナマイシン加CW寒天平板に分離37℃20時間嫌気性培養を行ない、発生したコロニーについてその性状検査を行なつた

表2 Cl. welchii 菌、汚染調査時の検体品目

種別	区分	検査数	内
魚類	加工品	48	かまぼこ (20) 笹2, 玉子巻2, テンプラ巻2, エッグ入2, 板付2, 鳴門巻2, 袋入4, その他4
			ちくわ (2)
			さつまあげ (6) 厚あげ2, その他4
			ソーセイジ (18) ウインナー6, ツナ12
			はんぺん (2)
	調理品	30	てんぷら (4) えび4
			ふらい (24) かき2, キス2, さんま2, たら4, さば4, ちくわ2, あかお2, むつ2, 串だんご2, ソーセイジ2
			でんぶ (2)
肉類	加工品	18	ハンバーグ (2)
			ハム (16) プレスハム10, サラミ4, 屑物2
	調理品	18	かつ (6) 串かつ4, トンカツ2
			からあげ (4) 鶏肉2, 肉だんご2
			その他 (8) コロッケ6, ギョーザアゲ2
野菜類	調理品	4	てんぷら (2) 人参, ササゲ
			煮物 (2) ササゲ豆砂糖煮, 茄子肉入
卵類	加工品	4	玉子焼 (2)
			かまぼこ (2)
大豆類	加工品	2	トーフあげ (2)
合計	加工品		72
	調理品		52
			124

Ⅵ 実験成績

実験成績は表3のとおりで、すなわち、

1. 生菌数は直接分離法において、コロニーを発生せず、すべて陰性であった。
2. 生菌の増菌培養は、肝タピオン検査の結果

すべて陰性であった。

3. 100℃60分加熱による直接分離法は、コロニー発生せず、すべて陰性であった。
4. 100℃60分加熱材料を肝タピオンにて増菌培養したが、その結果はすべて陰性であった。

表3 成績

種類	区分	検体		数	培養成績			
		数	品名		生直接	生増菌	加熱直接	加熱増菌
魚類	加工品	48	かまぼこ	20	0個	(-)	0個	(-)
			ちくわ	2	0	(-)	0	(-)
			さつまあげ	6	0	(-)	0	(-)
			ソーセージ	18	0	(-)	0	(-)
			はんぺん	2	0	(-)	0	(-)
	調理品	30	てんぷら	4	0	(-)	0	(-)
			ふらい	24	0	(-)	0	(-)
			てんぷ	2	0	(-)	0	(-)
肉類	加工品	18	ハンバーグ	2	0	(-)	0	(-)
			ハム	16	0	(-)	0	(-)
	調理品	18	かつ	6	0	(-)	0	(-)
			からあげ	4	0	(-)	0	(-)
			その他	8	0	(-)	0	(-)
野菜類	調理品	4	てんぷら	2	0	(-)	0	(-)
			煮物	2	0	(-)	0	(-)
卵類	加工品	4	玉子焼	2	0	(-)	0	(-)
			かまぼこ	2	0	(-)	0	(-)
大豆類	加工品	2	トーフあげ	2	0	(-)	0	(-)
計		加工品	72品目		計 124品目			
		調理品	52品目					

Ⅴ 考察

実験の結果、魚類、肉類等の検査対象とした加工品、ならびに調理品124検体からCl.wel-chin菌は遂に検出されなかつた。

このことは、耐熱性菌はともかく、生菌も検出されなかつたことに、当初考えていたことと異なり、少しばかりの意外な感を受けたが、この汚染0という成績から考察されることは、この加工調理品の販売店がいずれもデパートやマーケット等の食品売場で、冷蔵や冷凍等の諸設備、食品の包装、保存等完備されておることが挙げられるであろうし、食品取扱いに対する従業員の衛生思想の向上もあずかっていると考えられる。

尚、時期的には、検体採取が秋季であったことも、その一因をなしているかも知れないが、夏季

温暖の季節に多発する腸炎ビブリオと共に、近年ウェルシュ菌による食中毒が注目を浴びているとき、これら調理、加工食品等の管理が適切であれば、病原細菌による汚染が防げることが本実験結果から判断されるものである。

むすび

今回調査した秋田市内の主なる食品店に販売されている魚類、肉類等の加工、調理品124検体について、Cl.welChiiの生菌および100℃60分耐熱性菌を、直接法、増菌法によつて検査を実施したが、そのいずれも検出されなかつた。

文 献

- 1) 金鉄三郎; 健康成人糞便中のウェルシュ菌の調査, 秋田県衛生科学研究所報, №12, 55-60, 1968
- 2) 金鉄三郎; 土壌中のCl. welchii菌の耐熱性菌と, そのHobbs Typeについて, 秋田県衛生科学研究所報, №13
- 3) 辺野喜正夫; 昭和40年度食品衛生特殊技術講習会(厚生省)
- 4) 辺野喜, 善養寺; 細菌性食中毒, 南山堂版。

秋田県に於ける日本脳炎の 流行予測調査について

秋田県衛生科学研究所 小林 運 蔵
茂 木 武 雄

秋田県立中央病院（微生物検査科）

須 藤 恒 久

秋田経済大学（附属短期大学）

園 部 寿 昭

緒 言

本県に於ける日本脳炎は、昭和39年に届出患者10名（内死亡8名）、昭和40年に疑似患者1名の届出があつたのを最後として、以後3年間は一例も患者の発生が見られなかつた。然しながら昭和41年、42年に行なつた本県に於ける日本脳炎ウイルス（日脳ウイルス）の侵淫調査^{1) 2)}では、県内全般にわたり必ずしも濃厚ではないが明らかな日脳ウイルスの侵淫が認められている。

我々は昭和43年にも引続き本調査を実施したのでその概要をのべる。

調査方法と結果

(1) 厚生省委託屠場豚のHAI抗体調査

本県では昭和42年度より厚生省の委託事業として実施している。本年も昨年と同じく秋田市近郊の豚を処理する秋田畜産公社屠畜場に於いて5月1回、6月～9月まで毎週1回、10月1回、毎回20頭ずつ延べ380頭の生後5～8ヶ月の幼豚を選び採血して、その血清につ

いて日脳ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体（以下HAI抗体と呼ぶ）を検査した。

検査方法はすべて厚生省指定の方法³⁾によつて行なつた。

本年は表1に示す如く、HAI抗体陽性を示した豚が著るしく少く、8月下旬に始めて1頭（5%）の抗体保有豚が認められ、その後9月上旬に至り1頭（5%）10月初旬3頭（15%）が認められたのみであつた。これを昭和42年の成績と比較すれば、陽性豚の出現時期もおそく、陽性率も前年は10月に100%に達したが今年には僅かに15%の陽性率に達したにすぎない。

(2) 県内地域別屠場豚のHAI抗体分布調査

厚生省の指定事業とは別に、昭和40年より県内の中央ならびに県南、県北、由利の4地域の屠場豚のHAI抗体分布を調査している。

本年も横手、大館、及び本荘屠畜場で処理された豚について、7月1回、8月9月各2回（本荘は9月1回）合計280頭について調査した成績と秋田屠場でのそれとをまとめ

て表2に示した。

表1

厚生省委託屠畜場豚のHAI抗体調査成績

屠畜場名	採血月日	検査頭数	H A I 抗体価					H A I 陽性率 (≥ 10) %	2-ME 感受性抗体 保有率 %
			<10	1:10	20~ 40×	80~ 160×	320~ 640×		
秋田畜産公社	5.28	20	20					0	
〃	6.3	20	20					0	
〃	10	20	20					0	
〃	17	20	20					0	
〃	24	20	20					0	
〃	7.2	20	20					0	
〃	8	20	20					0	
〃	15	20	20					0	
〃	22	20	20					0	
〃	29	20	20					0	
〃	8.5	20	20					0	
〃	12	20	20					0	
〃	19	20	20					0	
〃	26	20	19				1	5%	0
〃	9.2	20	19			1		5%	(1)100%
〃	9	20	20					0	
〃	16	20	20					0	
〃	24	20	20					0	
〃	10.1	20	17				2 1	15%	(3)100%
計		380	375			1 3 1		(5)13%	(4)80%

※ 2-ME処理血清のHAI抗体が未処理血清のその1/8倍以上HAI価の下がつた血清は、2-ME感受性抗体を有するものと判定され、新鮮感染によるものと推定される。
又、2-ME感受性抗体保有率はHAI陽性数に対する比で表わす。

表2 県内屠畜場別(県中央, 県南, 県北, 由利)HAI抗体調査成績表

屠畜場名	採血月日	検査頭数	H A I 抗体価					H A I 陽性数 及び(陽性率) (≥ 10) %	2-ME 感受性 抗体保有率 %	抗体陽性豚 の飼育地
			<10	1:10	20 40×	80 160×	320 640×			
県中央 畜産公社	5月28日 10月1日	380	375			(9月1日) 1	(8月26日) (10月1日) 3	(10月1日) (1.3%)	5 80%	4 秋田市飯島1 五城目町2 八郎潟町2
県南 横手屠場	7月1回 8〃2〃 9〃2〃	100	100				(9月9日) 1	1 (1.0%)	0%	平鹿町 1
県北 大館屠場	7〃1〃 8〃2〃 9〃2〃	100	99					0	0	
由利 本荘屠場	7〃1〃 8〃2〃 9〃1〃	80	77				(9月24日) 1 2	(9月24日) (3.8%)	8 67%	2 矢島町 1 松ヶ崎 1
計		660	651			1 5 3		9 (1.3%)	6 67%	

各地域に於ける H A I 抗体が陽性を示したのは 9 月初旬県南横手屠場に 1 頭, 9 月下旬由利本荘屠場に 3 頭を認めただのみであり, 県北地域大館屠場に於ては抗体陽性豚を認めなかつた。

前項の秋田屠場での成績を加えても全県で 660 頭中 9 頭 (1.36%) の H A I 陽性豚を認めただのみで, 前年の年総計の陽性率に比較すれば極めて低率であつた。(表 2 参照)

(3) 秋田市周辺に飼育した罔豚の H A I 抗体の推移と「コガタアカイエカ」の発生状況調査

屠場豚による 日脳ウイルス感染調査と平行して, 罔豚を経時的に観察して日脳ウイルス保有蚊の出現時期を観察した。即ち, 秋田市の南及び北部郊外のコガタアカイエカの発生すべき諸条件を満足する場所三ヶ所を調査場所を選定した。これらはすべて水田に近接した豚舎で, 1~2 頭を飼育する豚舎に 1 ヶ所 1 頭ずつ生後 2 ヶ月の幼豚を, 5 月下旬から 9 月下旬までの

間飼育し, 毎月 2 週間毎に採血して H A I 抗体の推移を観察した。又, 同じ舎内に加藤式畜舎用トラップ及び福留製作所製ライトトラップを使用してコガタアカイエカの発生状況を調査した。

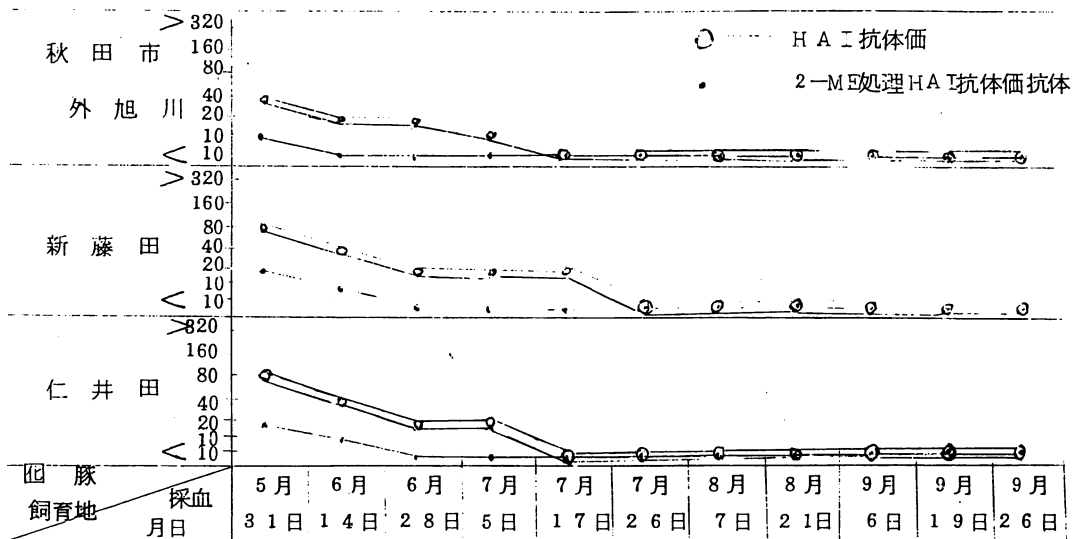
a) 罔豚の H A I 抗体価の推移

生後 2 ヶ月の幼豚 3 頭を罔豚として種豚場より購入した。これらを観察豚舎に収容するに先だち H A I 抗体を調査した処, 1 頭は H A I 価 40 倍であり, 他の 2 頭は 80 倍の抗体を保有していた。この抗体価は幼豚の月令及び 5 月と云う時期から, 母体より受けつがれたものと推定したが, 2-M E 処理によつて $\frac{1}{2} \sim \frac{1}{4}$ の低下が認められた。その後この 3 頭の抗体の推移を 2 週間毎に採血調査した結果を, 図 1, 及び表 3 に示したごとくいづれも次第に抗体価の下降が認められ, 7 月には 10 倍未満となり 9 月下旬に至つても再上昇は認められなかつた。従つてこれらの罔豚は日脳ウイルスの感染を受けないで越夏したことが判明した。

表 3 罔豚の H A I 抗体価の推移

採血月日及び 罔豚 飼育地	5 月 3 1 日	6 月 1 4 日	6 月 2 8 日	7 月 5 日	7 月 1 7 日	7 月 2 6 日	8 月 7 日	8 月 2 1 日	9 月 6 日	9 月 1 9 日	9 月 2 6 日
秋田市 外 旭 川	1:40	1:20	1:20	< 10	-	-	-	-	-	-	-
新 藤 田	1:80	1:40	1:20	1:20	1:20	< 10	-	-	-	-	-
仁 井 田	1:80	1:40	1:20	1:20	< 10	-	-	-	-	-	-

図1 豚のHAI抗体及び2-ME感受性抗体の推移

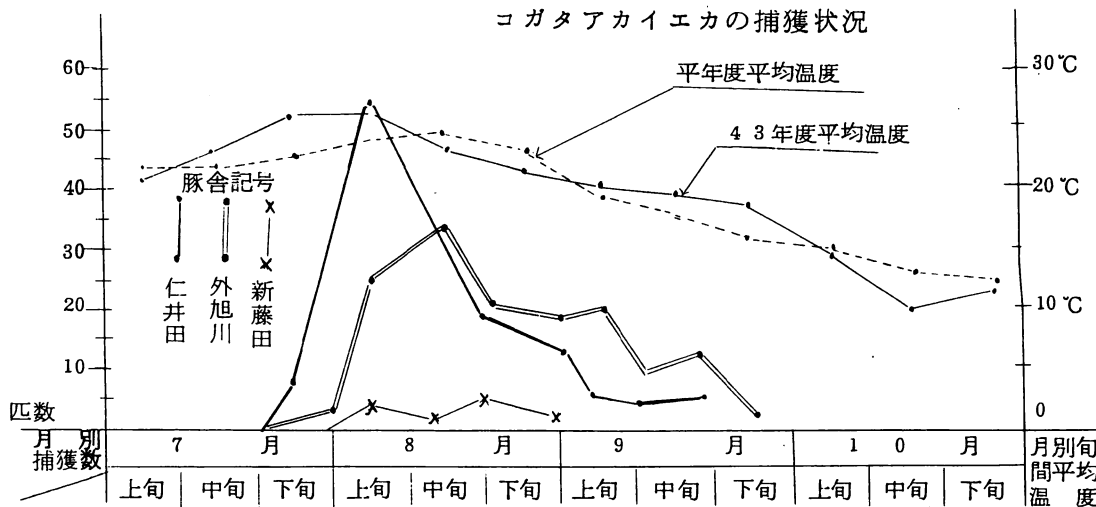


b) コガタアカイエカの発生調査結果

畜舎はコガタアカイエカの分布調査も考慮して水田の近接している三ヶ所の場所を選定した。畜舎の窓にはサラン網を張り、更に水田方向に面した窓に加藤式トラップを、又、畜舎内には福留製ライトトラップを設置した。定期的に加藤式トラップの設置方向を変え又はライトトラップの使用時間を調整して侵入蚊、脱出蚊及び舎内の活動蚊を捕獲すべく措置した。

以上の方法により6月から9月下旬までの間、毎週蚊の発生状態を観察し、図2に示した如く、6月~9月までの3ヶ所のトラップで捕獲したコガタアカイエカは合計253匹にすぎなかつた。初発生は7月下旬に認められたが、トラップの最高捕獲数は8月6日仁井田畜舎で54匹、次が8月13日外旭川の35匹で図2に示したように8月初旬~中旬頃が一つの山となっている。その後は次第に頻度が少くなり9月下旬には一夜の捕獲数は10匹に達しなかつた。又、他の一ヶ所新

図2 秋田市の気温の推移と、豚畜舎内に於ける



藤田畜舎では初発を8月6日に認めその後8月末までに毎回数匹が捕獲されたのみであった。

考 察

日本脳炎の流行に先行して汚染コガタアカイエカが発生することが知られているが、秋田県に於ける日脳患者は昭和43年も1名の発生も見られなかつた。従つて本県では昭和40年に疑似患者1名の届出があつたのを最後に今日まで一例も患者発生が見られなかつたことになる。然しながら昭和40年以来我々の行なつて来た県内各地屠場豚のHAI抗体調査から、日脳ウイルスの伝播は県内各地で行なわれていることが認められた。又昨年の調査²⁾では県内在住者の間にHAI抗体保有者が意外に多く、不顕性感染が起つていることを報告した。本年も引続き県内各地屠場豚をはじめ、四豚を飼育して定期的採血によりHAI抗体の推移を観察し、更に畜舎内に浸入するコガタアカイエカを捕獲して日脳ウイルスの伝播、浸淫の状態を調査したが、本年はHAI抗体陽性豚及びコガタアカイエカの出現は意外に少なかつた。即ち屠場豚のHAI抗体陽性は8月下旬にはじめて1頭の出現があつたが2-ME感受性抗体保有(初感染)豚は9月初旬にようやく1頭が現われその後9月下旬に2頭、10月初旬に3頭と計6頭に過ぎなかつた。これは昨年同期²⁾に比較すると1/8である。又コガタアカイエカの出現は昨年より2週間早い7月下旬に捕獲が見られたとは云え、その数は著しく少なかつた。これらの原因として考えられることは、コガタアカイエカの自然発生に最も重要な関係を有すると云われる25℃以上の平均気温を示した日数が本県では極めて少く⁵⁾本年は7月下旬と8月上旬の20日間にみられたに過ぎなかつた故と思われる。四畜舎3ヶ所の内、仁井田、外旭川の二ヶ所におけるコガタアカイエカ発生のピークは8月6日～8月13日に一つの山が現われ、その後次第に発生頻度が少なり9月下旬には数匹を捕獲したに過ぎなかつた。本県では8月中旬以後は朝夕急に涼しくなり一日の平均気温も次第に下降することから蚊の発生に及ぼ

す影響はあきらかである。又、他の一ヶ所新藤田畜舎における発生は特に少なく、その原因は衛生害虫駆除農薬散布が考えられる。即ち、同地域水田には6月末BHC散布、7月初旬、7月中旬EPM散布が行なわれ、EPMの残効性は10日位もある。前記の二ヶ所においては衛生害虫の駆除は全くなされず自然的気象に左右されたものと考えられる。然し本県に於ける日脳ウイルスの浸淫は屠場豚の検査で8月下旬から10月上旬までの間2ME感受性抗体保有豚が少数(6頭)ながら出現したことからやはり本県でも日脳ウイルスの浸淫があるものと考えられる。

総 括

昭和40年より秋田県独自に日本脳炎ウイルスの浸淫調査を行なつて来たが、昭和43年も国として行なつた日脳流行予測事業と合せて主として屠場豚のHAI抗体調査及びコガタアカイエカの発生動態を調査して次の結果を得た

- 1) 屠場豚によるHAI抗体の保有調査の結果8月下旬にはじめて1頭の出現が認められ、その後9月初旬に2頭、下旬に3頭、10月初旬に3頭の計9頭のみであり、昨年の保有率25%に対し本年は13%と極めて少数であつた。又2-ME感受性抗体保有数も6頭に過ぎず昨年の1/8であつた。
- 2) 秋田市近郊3ヶ所の地域で飼育した四豚について、生後2ヶ月の幼豚を5月末から9月下旬までの間観察豚舎で飼育しながらHAI抗体及び2-ME感受性抗体の推移を調査したが、日脳ウイルス感染の証拠が認められなかつた。
- 3) コガタアカイエカの出現は昨年より2週間も早い7月下旬に認められたが、捕獲数は著しく少なく、図2に示す如く6月～9月まで3ヶ所の四畜舎内に設備したトラップで捕獲した総数は253匹に過ぎなかつた。これは蚊の発生に最も重要であるとさ

れる平均気温 25℃～32℃の温度の日数が本県に於ては非常に少なく、本年は7月下旬～8月上旬のわずか20日間にすぎなかつた。その後朝夕急に涼しくなり一日の平均温度も次第に下降して9月にはいと20℃以上の気温は稀れであつた。このような自然的影響や地域によつては農薬使用によつて殆んどコガタアカイエカの発生が見られないなど、これらの諸条件が重なり本年度に於ける本県の日脳ウイルス浸淫を少なからしめたものであろう。

稿を終るにあたり、屠場豚の採血については格別の御援助をいただいた秋田保健所、横手保健所、本荘保健所、大館保健所の担当各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 藤沢, 小林, 坂本, 秋田県衛生科学研究所々報, 11, 58, 1967
- 2) 須藤, 小林, 茂木, 秋田県衛生科学研究所々報, 12, 71, 1968,
- 3) 厚生省公衆衛生局, 昭和42年日脳流行予測事業実施要領
- 4) 三田村, 東北のコロニー, №15, 34, 1967
(今野二郎)より引用
- 5) 秋田県農業気象月報, 1968