

B 調 査 研 究 の 部

〔B〕 調 査 研 究 の 部

E 型 ボ ト リ ヌ ス 菌 と し て

特 異 な 変 異 株 に つ い て

児 玉 栄 一 郎

細菌病理科 藤 沢 宗 一

坂 本 昭 男

(本論文の要旨は第38回日本細菌学会総会及び第18回東北支部学会で発表した)

私共は1953年以来秋田県内から分離したE型ボトリヌス菌108株を肝々ブイオンに継代培養中に、そのうち12株が肝片を消化しているのに気づき若干の実験を試みたので報告したい。

1) 肝片消化株(原株)の主な性状

消化株12株のうち供試したのは10株で内訳は「飯ずし」より分離したもの3株、砂よりのもの4株、魚より2株、泥土よりのもの1株であり、これらの菌株は分離後4〜11年目で、その間の植継は5〜12回である。

その主な性状は肝々ブイオン培地で何れも肝片を消化

し、PHは5.8〜6.0程度。弱酸臭を放ち総て有毒株である。これらの菌株の培養液を綿羊血液を加えたDifco製Brain heartinfusion 塞天培地を通して嫌気性培養を行うと2つの相異なる集落を形成する。その1つは表面の滑らかな帯黄白色、不透明、比較的な溶血の微弱な集落で、他の1つは私共が通常経験する灰白色、半透明、表面と周縁の粗雑な集落である。このつの集落を釣菌して夫々肝々ブイオンに移植培養すると、前者は肝片を消化し、後者は消化しない。

表 1 肝 片 消 化 株 (原 株) の 主 な 性 状

供 試 菌 株		肝片消化	PH	臭 気	毒 素	
菌 株 名	分離材料					
S4	飯 ず し	+	5.8	弱 酸 臭	●	●
S9	〃	+	6.0	〃	●	●
S16	〃	+	5.9	〃	●	●
3	砂	+	5.9	〃	●	●
6	〃	+	5.9	〃	●	●
9	〃	+	5.9	〃	●	●
11	〃	+	5.9	〃	●	●
23	魚(は や)	+	5.9	〃	●	●
25	〃	+	5.9	〃	●	●
37	泥 土	+	5.9	〃	●	●

2) 供試株の性状 1

(表2)に示す通り原株は肝片消化及び不消化株に区別され、その消化は培養3〜4日後から起る。尚以下消化株(+), 不消化株(-)と略記する。

Brain heart infusion 培地——その所見は前に述べた通り。

ガス産生——(+)株は微量で2〜3日後に、(-)株は12〜24時間培養で多量に産生を見る。

pH ——(+)株は5.6〜6.2。(−)株は4.8〜5.2で前者が高い。

臭気——(+)株は鼻を衝く激しい刺戟臭があり、(-)株は微かな芳香臭を放つ。

硫化水素——(+)株は培養数日で総て陽性。(−)株は10日間の培養で産生しない。

グラム染色——3株が何れも陽性で、他の7株は陽性

表 2 供 試 株 の 性 状

検査 菌株	肝片 消化	B. H. I 培地	ガス 産生	PH	臭気	H ₂ S	グラム 染色
S4	+	帯黄白色	+	5.6	刺戟	卅	+
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+
S9	+	帯黄白色	+	5.6	刺戟	卅	+
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+
S16	+	帯黄白色	+	5.6	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+-
3	+	帯黄白色	+	5.6	刺戟	卅	+
	-	灰白色	卅	5.2	芳香	-	+
6	+	帯黄白色	+	5.6	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+-
9	+	帯黄白色	+	6.2	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+-
11	+	帯黄白色	+	6.2	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+-
23	+	帯黄白色	+	6.0	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	5.4	芳香	-	+-
25	+	帯黄白色	+	6.2	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	5.2	芳香	-	+-
3H	+	帯黄白色	+	6.2	刺戟	卅	+-
	-	灰白色	卅	4.8	芳香	-	+-

の中に陰性のものが散見される。

3) 供試株の性状 2

凝固血清、卵白、牛乳——(+)株は例外なく2〜3日で消化又は液化されるが、(-)株は10日間培養しても消化されない。

ゲラチン——10日間の培養で(+)株は総て液化され、(-)株は変化がない。

抗血清——私共が日常使用している5種のE型混合血清(×100)によるスライト凝集反応の成績は、(+)株はその半数が弱い反応を示すだけで、その他は全く抗原性を失っているが、(-)株は何れも著明に凝集する。

毒素産生——(+)株は2株を除いて無毒株であるが、(-)株は毒素を産生する。

表 3 供 試 株 の 性 状

検査 菌株	肝片 消化	凝固 血清	凝固 卵白	凝固 牛乳	ゲラ チン	抗 血清	毒素
S4	+	卅	卅	+	+	±	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
S9	+	卅	卅	+	+	+	●●
	-	-	-	-	-	卅	●●
S16	+	卅	+	+	+	-	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
3	+	卅	+	+	+	-	●●
	-	-	-	-	-	卅	●●
6	+	卅	+	+	+	+	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
9	+	卅	+	+	+	-	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
11	+	卅	卅	+	+	-	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
23	+	卅	+	+	+	+	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
25	+	卅	+	+	+	-	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●
3H	+	+	卅	+	+	+	○○
	-	-	-	-	-	卅	●●

4) 炭水化物分解試験

Arabinose以下12種の炭水化物の分解能を検べたのが

この成績である。即ち培地に移植して3日間培養した結果は、(－)株は Arabinose, Galactose, Lävulose, Maltose Glycerin, Sorbit の多くを分解して、E型株としての性状を示すが(＋)株は必ずしもこれと一致せず11, 23の2株は大部分の炭水化物を分解して特異な所見を示した。

総括及びむすび

以上E型ボトリヌス菌は成書には肝片を消化せずと記載されているが、私共は秋田県内で分離した108株のうち12株がこれを消化しているのに気づき、そのうち10株

について実験を試みた結果、その原株より消化、不消化の相異なる菌株を分離した。

このうち不消化株はE型菌としての本来の諸性状を備えるが、消化株は肝片、凝固血清、卵白、牛乳等を消化し、ゲラチンを液化する。E型抗血清に対する抗原性も甚だしく低下又は消失して居り、尚供試株のうち2株を除いて他は何れも無毒株であることを知った。

更に炭水化物の分能も両者の間に差があり、殊に2株は大部分のものを分解する所見を示した。以上の所見から推して肝片消化株は特異な変異株と考えられる。

表 4 炭 水 化 物 分 解 能

検査別 菌 株	肝 片 消 化	ア ラ ビ ノ ー ゼ	グ ル コ ー ゼ	レ ブ ロ ー ゼ	マ ン ノ ー ゼ	ラ ク ト ー ゼ	マ ル ト ー ゼ	サ ッ カ ロ ー ゼ	グ リ セ リ ン	ソ ル ビ ッ ト	ザ リ チ ン	ア ド ニ ッ ト	イ ノ ヂ ッ ト
S4	＋	＋	－	± g	－	－	＋	－	－	－	－	－	－
	－	±	＋ g	－	－	＋	＋ g	－	－	－	－	－	－
S9	＋	＋	－	± g	－	－	－	－	－	－	－	－	－
	－	＋	－	＋ g	－	－	－	－	－	－	－	－	－
S16	＋	＋	－	＋ g	－	－	－	－	－	－	－	－	－
	－	－	－	＋ g	－	－	－	－	＋	＋ g	－	－	－
3	＋	＋	－	± g	－	－	－	－	－	－	－	－	－
	－	－	－	＋ g	＋ g	－	＋ g	＋ g	＋	－	－	－	－
6	＋	＋	－	＋	－	－	－	－	＋	－	－	＋	－
	－	－	－	＋ g	－	－	＋ g	－	－	＋ g	－	－	－
9	＋	＋	－	＋ g	＋	－	－	－	＋	－	－	－	－
	－	－	＋ g	＋ g	± g	－	＋ g	－	±	＋ g	－	－	－
11	＋	＋	－	＋ g	＋	＋	＋ g	＋	＋ g	＋ g	＋	＋	－
	－	－	± g	＋ g	－	－	＋ g	－	±	＋ g	－	－	－
23	＋	＋	－	＋ g	＋ g	＋	＋	＋	＋	＋ g	－	＋	＋
	－	－	＋ g	＋	－	－	＋ g	－	－	＋ g	－	－	－
25	＋	＋	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	－	－
	－	－	－	＋ g	－	－	＋ g	－	－	－	－	－	－
3H	＋	±	－	＋ g	－	－	－	－	－	－	－	－	－
	－	－	－	－	＋ g	－	＋ g	±	＋	＋ g	－	－	－