

大潟村土壤のボツリヌス菌の 分布について

(予報 2)

細菌病理科 藤 沢 宗 一
〃 小 林 運 蔵
〃 金 鉄三郎

I 概 要

1957年旧八郎潟の干拓事業がはじまり10年の歳月を経て、1966年5月干陸が完了して、15,870haの大地が生れた。

大潟村は昭和39年10月に誕生し、昭和41年10月より一部の入植がはじまり、昭和47年頃までには入植戸数概ね1300戸、人口約7000人の大農業モデル地区が建設される(推定)。ボ菌は旧八郎潟周辺、ことに西岸部乃至西南部地域土壤に濃厚に分布して、食中毒発生区域とは一致していることは前の調査で明かにされているが、私共は誕生した大潟村(旧八郎潟湖底)周辺6ヶ所1200検体土壤についても昨年調査し、8株のE型ボ菌を検出して²⁾いる。年々入植事業も進み、住民の入植増加するにあたり、同村全地域の土壤中におけるボ菌の分布状態を検索し明かとすることは、同村住民の健康管理は勿論疫学的に有意義であると考え、さらに本調査を継続調査し、健康で明るい村づくりに寄与するものである。

II 実験の経過

1 増菌培養

採取した土壤検体を約5gづつ、10mlの肝タピオンに投入し、22℃～25℃孵卵器内で10日間培養した後、5検体を1プールとして、(Difco) Proteose Pepton加肝タピオンに10日間培養した。

2 毒素試験

マウス試験①

増菌培養した菌液を遠心沈澱し、その上清をマウスの皮下に0.5 mlを注射し、48時間観察した結果、ボ菌毒素特有の中毒症状をもって発症斃死したプール株29株検体あり、これの単独株145件で、これより各1白金耳宛別の肝タピオンに殖継ぎし雑菌を除去するため、60℃1時間加熱した後22℃～25℃10日間培養した。

マウス実験②

次にその培養液を前記同様マウス実験を反復し観察した結果、ボ菌特有所見で斃死したもの35検体を得た。これを更に80℃30分間加熱して易熱毒素を破壊した後、その0.5 mlを皮下に注射して3日間観察し、易熱性であることを確認した。

3 嫌気性培養

易熱性ボ菌疑い株を(B. H. I) 綿羊血液加寒天培地平板に1検体あたり3枚宛、1白金耳づつ塗株して、30℃48～72時間嫌気培養を行なった結果、直径約3mm位のやや透明、周縁不規則、扁平、中心部少しく隆起し、溶血作用弱の極めて微細な集落の形成が見られた。

※(対照としてE型天王株を用いた)

4 凝集試験

ボ菌特有集落をボ菌A, B, Eの抗血清を用いてスライド法で凝集試験を行ない、E型に著明に凝集したものが26検体あり、A, Bに凝集したものは認められなかった。凝集した集落より釣菌して前記(B. H. I)血液加寒天培地に培養し、その集落より鏡検して芽胞、鞭毛を確認した後再び肝タピオンに増菌した。

5 中和試験

肝々ブイオンに増菌した分離株26件についてA, B, Eの抗毒素血清を用いて中和試験を行なった結果, 22株がE型抗血清に中和され, A, Bに対する中和は認められなかった。又毒素力価は10倍布釈から100倍, 1000倍の3段階において, A, B抗毒素血清では100倍までマウスを斃し, 毒素原液の希釈では3例が100倍まで他の19株は1000倍でなおマウスを斃死させた。以上の他にその他の諸生物学的検査を実施しているが現在までの所見からしてE型菌と同定してよいと考察される。

III 秋田県における土壌よりのボ菌検出状況

ボ菌の土壌の分布を知ることは, 中毒防止上重要なこととは云うまでもないことであるが, 県内特に大瀧村土壌におけるボ菌の分布はきわめて広くボ菌の検出率も我が国では最も高いものと思われる, 従来までの県内土壌の分布率は表1に示すとおりである。

表1

検体採取年	採取地区	採取個所数	採取検体数	ボ菌検査株数	検出率 (%)	備考
自 1954 ~ 至 1960	八 郎 瀧	146	1,460	22	1.5	A — 4 E — 18
〃	北 秋 萩 形 地 区	10	750	4	0.5	E
〃	由 利 海 岸	8	1,600	2	0.1	E
1966	大 瀧 村	6	1,200	8	0.66	E
1967	〃	20	1,000	22	2.2	E

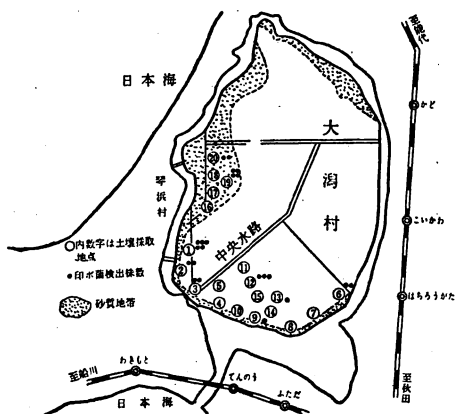
IV 昭和41年度検体採取地及びボ菌の分布状況

1967年度大瀧村の調査を地域別に比較すると, (表2及び図1参照) 次のとおりである。

表2

採取月日	区 分	検 体 採 取 地 名	採 取 検 体 数	分 離 菌 株 数	検 出 率
S 41.10.14		南部排水場, 西部 干拓H9付近 ①~⑤	250	9	3.6 %
10.21		大瀧橋付近, 南部 残存湖岸 ⑥~⑩	250	3	1.2 %
10.28		中央水路付近, 南部 G1.9.13.22.23⑪~⑮	250	4	1.6 %
11.10		総合中心地 A2. A3 ⑯~⑳	250	6	2.4 %
		20 所	1,000	22	2.2 %

土壤採取地区20ヶ所の内9ヶ所にE型菌が証明され、H9付近においては3.6%と高い。



V 考 察

昨年秋の調査では大潟村周辺6ヶ所より土壤を採取して、土壤約100gを生理約食塩水200mlに投入し、その濾液(芽胞)を可検体として肝マブイオンに増菌諸検査に供し、1200検体中8株(0.66%)のE型菌を検出したのである。

本年は採取土壤約5gを直接肝マブイオンに投入増菌培養を試みたところ、検体1000件の内22株(2.2%)のE型菌が確認されたが、その地区によっては3.6%の濃度

に分布されてるところもあった。

又土壤採取地域は昨年と略同じところもあり、昨年陰性で本年陽性の個所が数件もあった。これは土壤を直接培養する方法が検出率が高いのか、どうかは今後の比較実験にまたねばならない。

土壤の採取地域は概ね西側干拓地と南岸の一部であるが土質はほとんど砂質で、一部にヘドロ層もあったが、ボ菌の検出は砂質のみにて、ヘドロ層で採取した67検体中にはボ菌が証明されなかった。

土質PHは6~9と場所により差異あるも大部分アルカリ性である。

砂質がボ菌の生存に適し、ヘドロは不適か否かについても今後の課題であらう。

参考資料

(1) 児玉, 藤沢, 坂本, 秋田県におけるボツリズムの疫学的研究並びに土壤調査成績。

秋衛所報第8輯1963

(2) 藤沢, 金, 伊藤; 秋田県大潟よりボトリヌス菌の検出成績について

秋衛所報3(予報1の誤り)第10輯1966