

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

ウェルシュ菌(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¹⁾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³⁾

のウェルシュ菌調査の一端を報告した。また山根⁴⁾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ェ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、自家製の馬肝タ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(ニッサン)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
	雄和	岩見川岸	10	50
437	秋田	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 血液寒天	(-) (-)
肝タピオン	100℃ 60分加熱	" (+)G(+)
CW 卵黄培地	乳光反応 d抗毒素抑制	嫌気性 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	ラクトーゼ 白 糖 ブ ド ー 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。

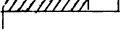
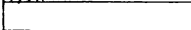
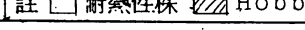
- 3 Hobbs血清型別で多いものは、Type11が12株、Type1が9株、Type13が4、Type10が3株となった。

表3 土壌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		
1 1 3 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

地 域	分離株数			
	5	10	15	20
岩 館 海 岸				
下 浜 海 岸				
土 崎 海 岸				
雄 物 川 岸				
岩 見 川 岸				
旭 川 岸				
丸 子 川 岸				
註 □ 耐熱性株 ▨ Hobbs型				

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繁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、この繁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、ウェルシュ菌の汚染は、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ェ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ェルシュ菌の調査，秋田県衛生科学研究所報，12，55-60，1968
- 3) 山県宏：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