

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 —

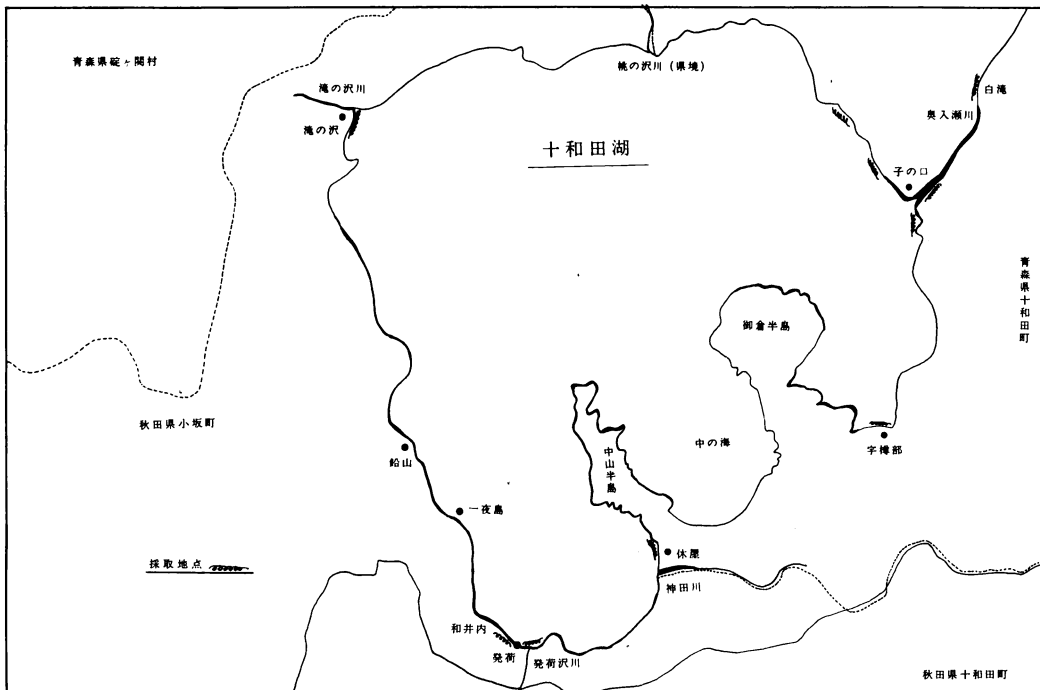
秋田県衛生科学研究所

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¹⁾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^{2) 3)}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 200 g 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	H o b b s T y p e												
						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⁴⁾、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、α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で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回の土壌検査は日本海岸および秋田市周辺の河岸調査で耐熱性（100℃1時間）株は、 $\frac{87}{100}$ 、そのHobbs型は5.86%の陽性であった。第2回の土壌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、 $\frac{48}{100}$ の耐熱性株を分離、Hobbs型は其中、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

的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ェ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、ウェ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ェルシュ菌⁶⁾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ェルシュ菌に関する研究。日本細菌学雑誌，21，619～624，1966。