

十和田湖畔周辺土壌および同湖生息魚類についての

Clostridium botulinum の分布調査

秋田県衛生科学研究所

小林 運蔵・金 鉄三郎

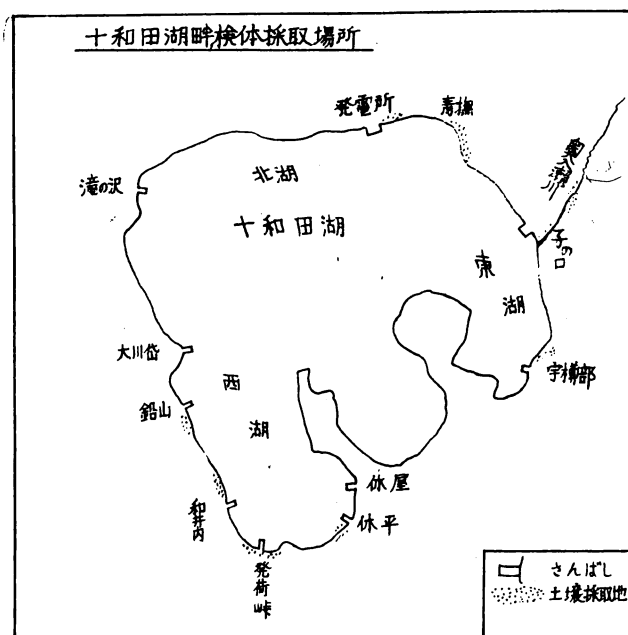
緒 言

近年秋田県における土壌中のボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*, 以下ボ菌と呼ぶ)の分布状況は、1965年～1969年までの5ヶ年間にわたる調査でほぼ明らかにし、前に報告したところですが、^{1) 2) 3)}

1967年6月青森県十和田町に発生したボツリヌス中毒の原因食品が十和田湖でとれた「ひめます

にあったことなどから、我々は同湖は秋田と青森の両県にまたがり、殊に国立公園として脚光を浴び年々発展をとげ、県民生活とも極めて関係深いところから食中毒防止の一端として同湖畔の周辺土壌および同湖生息の魚類についてボ菌分布調査をしたのでその結果を報告する。

図. 1



1 検体採取

1) 土 壤

十和田湖は岩壁、岩盤、砂利質のところが多く、土壌(砂、土)の採取できる場所は極めて少い、又北岸一帯は道路や地形の関係から採取困難で調査しなかった。

土壌は湖畔ぞい水際から約20米前後の湖岸において地表より約10~20cmの下層数ヶ所から約200gをポリエチレン袋に採りこれを1検体として、5月~10月までの期間に850検体を採取検索を行った。

検体採取場所を図1に示した。

2) 魚 類

8月5日十和田西湖から漁獲された「ひめます」30匹を購入し、又10月1日井内湖岸で漁師の引網により漁獲した雑魚(ゴリ、とげ魚、その他)100匹の分与を受けて検索を行った。

2 菌検索の概要

1) 増菌培養

A 土 壤

イ、直 接 法

採取した土壌1検体から5~7g宛、Bacto Pepton (Difco) 加、肝タブイオン培地数本に検体を直接投入して雑菌抑制のため60℃水浴中で60分間加熱した後急冷して28℃ふら器内で5~7日間培養観察して、その菌液について分離培養ならび毒素試験を実施した。

ロ、遠心沈殿法

上記直接法と並行して遠心沈殿法を行った、即ち、土壌約50gを取り、滅菌食塩水を2倍量に加え、よく攪拌して2~3分間静置した後その上清全量を3,500rpm 30分間遠心沈殿をしてその沈査を前記の肝タブイオンに取り、以下直接法に準じた。

B、魚 類

「ひめます」は頭部と腹部(内臓を含む)の2つに分ち、雑魚はそのままとして、それぞれに滅菌食塩水を加えながら乳鉢でよくすりつぶし乳液としたものを肝タブイオンにとり、加熱処理(60℃~60分)と、非加熱の2通りとして28℃~5~7日

間増菌培養を行った。

2) 毒素試験

①定性試験

増菌培養した前記の各検体培養液をとり、3,500rpm 30分間遠心沈殿その上清0.5ml宛マウス腹腔内に接種して3日間毒素の有無を観察して、マウスを倒した毒素産生菌液については更に80℃—15分加熱処理後マウス腹腔内接種して易熱性であることを確認した。

②分離培養

動物実験によりマウスを倒し、ボ菌症として疑はしい菌株については更に、Lecith· Vitellin· Agar(以下LV培地と呼ぶ)および緬羊血液加Brain Heart Infusion Agar(以下B·H·I寒天培地と呼ぶ)に塗抹してNovy's Jar法により、30℃—48時間の嫌気性培養を行った。

③抗血清凝集試験

LV培地およびBHI培地の48時間培養で发育したボ菌疑いの集落数個を釣菌して、A·B·E·Fの4種混合血清を用いスライド法で凝集試験を行うと共にボ菌疑いの集落についてはProteose Pepton(Difco)加、肝タブイオンに純粋培養を行った。

④中和試験

前記培養菌液を用い、ボ菌抗毒素血清A·B·E·Fにより中和試験を行った。即ち、各血清0.5mlに対して等量の培養菌液を加え、37℃—20分間静置した後、その0.5ml宛を2匹のマウス腹腔内に接種して3日間観察して中和の有無を調べた。

抗毒素血清はすべて国立予研より分与されたものを用いた。

3 実験成績

1)、土 壤

採取した土壌件数は850で、十和田湖周辺湖岸は岩壁、岩盤、又は砂利等の地質が多く、採取土壌の多くは細かな砂利、荒砂でよい検体は得られなかった。PHは概ね5.0~6.0の酸性土壌であった。

培養の方法は前記の直接法と遠心沈殿法を併用して比較した結果、直接法では4株、遠心沈殿法で10株、計14株のE型ボ菌が分離された。両法の比

較実験成績は、直接法のみ(+)が2株、遠心沈殿法のみ(+)が8株、両法(+)が2株で、今回の比較実験では遠心沈殿の方が検出率が高かった。
(表1、2参照)

表1、土壌中におけるClostridium botulinum の調査成績

			培養件数および毒素試験					
			直接法			遠心沈殿法		
			件数	マウス 斃死株	E型 中和株	件数	マウス 斃死株	E型 中和株
5. 13	50	十和田湖畔滝ノ沢湖岸	50	0	0	0	0	0
"	50	発荷峠 "	50	1	0	0	0	0
5. 13 10. 1	200	宇樽部 "	200	2	1	150	6	1
6. 18	50	奥入瀬川流域白絹の滝付近	50	0	0	50	0	0
"	50	子ノ口橋付近	50	0	0	150	0	0
6. 19	180	十和田湖畔子ノ口湖岸	180	1	0	180	2	0
"	70	休平 "	70	0	0	70	0	0
8. 4	70	和井内ふ化場いけす周辺	50	0	0	50	0	0
10. 1	10	魚処理排水溝	10	1	0	10	3	1
"	20	和井内〇〇漁師宅排水溝	20	0	0	20	2	2
"	40	和井内湖岸	40	0	0	40	0	0
"	30	鉛山 "	30	0	0	30	0	0
10. 2	50	青撫 "	50	3	3	50	18	6
計	850		850	8	4	700	31	10

表 2 土壌の直接培養法と遠心沈殿法の比較

実験成績 検査件数		直接法のみ (+)	遠心沈殿法のみ (+)	両法 (+)	陽性件数 (E型)	陽性率 (%)
方法						
直 接 法	850	2	0	2	4	0.47
遠心沈殿法	700	0	8	2	10	1.43

2), 魚 類

魚類は十和田西湖（秋田県側）から捕れたひめ
ます30匹と、和井内湖岸（秋田県側）での引網で
捕れた雑魚 100匹について検索したもので、ひめ
ますは頭部と、腹部とに分けて検索したがボ菌は

認めず、雑魚 100匹中、ゴリから2株のE型ボ菌
が分離された。

（表3，参照）

表 3，魚類における Clostridium botulinum の調査成績

検体採取月日	採取検体数	採取場所	検 体 名	検査数	マウス斃死株	E型中和株
8.5	30	十和田西湖	ひめます頭部	30	0	0
		"	腹 部	30	0	0
10.1	60	和 井 内	ご り	60	3	2
"	30	"	と げ 魚	30	1	0
"	10	"	雑 魚	10	0	0
計	130			160	4	2

考 察

十和田湖岸周囲の土壌ならび同湖の魚類につい
てのボ菌の検索結果から、その場所によってはか
なりボ菌が分布されていることが推定される、即
ち、秋田県側湖畔の西湖岸一帯における土壌検索
ではボ菌が認められなかったが、和井内ふ化場の
魚処理場排水溝泥土から1株、同和井内〇〇漁師
宅調理場からの排水溝土砂から2株のE型ボ菌が
分離された。又、魚類については、ひめますから
は分離できなかったが引網でとれた数種の雑魚か
ら2株のE型ボ菌が分離され、青森県側湖畔では

北東湖岸の青撫湾から9株、宇樽部湖岸から2株
のE型菌が分離された。

青森県弘前大医学部の文献によっても青森側湖
畔でかなり濃厚にボ菌が分布されていることが報
告されている。今回の我々の調査の限りではやは
り青森県側土壌に多く秋田県側土壌には、必ず3株
であった、又、本県の西湖でとれた雑魚からボ菌が
分離されたことなど、ボツリヌス菌の分布は十
和田湖畔全域にわたるものと推定される。

又、前記の土壌培養方法として我々は従来直接
法を行って来たのだが、弘前大学等で行つおる遠

心沈殿法と比較実験の結果遠心沈殿法がより検出率が高く良好であると考えられた。

む す び

近年秋田県内におけるボツリヌス菌の土壌分布は1965年～1969年の5ヶ年間の調査と、45年度の十和田湖畔等の調査結果からほぼ明らかになった。即ち、旧八郎潟残存湖と大潟村を中心とする周辺の地域と、十和田湖を中心とする湖岸周辺等の内陸地帯と、日本海にのぞむ男鹿半島周辺沿岸地帯等に極限^限される。本県における過去のボツリヌス中毒症例は22例（推定症例8を含む）で、その70%が旧八郎潟でとれた魚の飯ずしによるもので、20%は男鹿半島周辺で水揚げされた魚の飯ずしであった。従って我々は魚飯ずしについては再三警告して来たのであるが、1971年（S.46.1月）仙北郡太田町で「はたはた」飯ずしを食べた5名の内3名が発症した中毒事件が発生している。殊にこの事件は「はたはた」飯ずしが甘かったので味付けのため煮て（加温の程度）食べているが、不完全な加熱では毒素は完全に無毒化されず魚飯ずしはまことに危険な食品と云わねばならない。

ところが本県では毎年「はたはた」魚の期節になると多くの家庭で飯ずしを作る習慣があるが、これを作らない様にすることは県民の食生活の上からみて問題があると考えられるので、我々はこれらの事情に鑑みて、今後安全な魚の飯ずしを作る、と云うことを研究の課題としてすすめている。

1971年秋田県仙北郡太田町に発生したボツリヌス中毒の発生経過は、後のページに別記した。

文 献

- 1) 藤沢、小林、金、秋田県衛生科学研究所々報 13, 46, 1969
- 2) 小林、金、児玉、秋田県衛生科学研究所々報 13, 46, 1969
- 3) 小林、金、児玉、秋田県衛生科学研究所々報 14, 111, 1970
- 4) 弘前大学医学部、細菌、山本、工藤、他、日本細菌学雑誌 25, 115～116, 1970