



Title	有明海の海泥におけるウェルシュ菌の検出-3 : 湾奥部の海泥および流入河川泥におけるウェルシュ菌の分布,ならびに,分離株の性状
Author(s)	谷口, 忠敬
Citation	長崎大学水産学部研究報告, v.42, pp.33-37; 1977
Issue Date	1977-02
URL	http://hdl.handle.net/10069/30703
Right	

This document is downloaded at: 2019-03-26T04:39:38Z

有明海の海泥におけるウェルシュ菌の検出—Ⅲ
 湾奥部の海泥および流入河川泥におけるウェルシュ菌
 の分布，ならびに，分離株の性状

谷 口 忠 敬

Detection of *Clostridium perfringens* in Sea Mud of Ariake Sea-III
 Distribution of *Clostridium perfringens* in Sea Mud of Inner Part of
 the Bay and in River Mud of Rivers Running into the Bay

Tadataka TANIGUTI

The distribution of *Clostridium perfringens* in sea mud of the inner part of the Ariake Sea (bay) was estimated in 1971, 1972, 1973 and 1976. The characteristics of the isolated *C. perfringens* strains were studied. The same study was made on river mud of the rivers running into the bay in 1976 and 1973. A large number of *C. perfringens* was detected in the sea mud of the inner part of the bay in 1971 to 1976. The maximum value of the number was 2,400-75,000/100 g (moist mud). The number of *C. perfringens* detected in the river mud was larger than that in the sea mud. All tested one hundred strains from among the isolates were identified as Type A. Hobbs Types 1, 2, 4, 5, 6, 8 and 13 were detected from the sea mud. Of the isolates from unheated sea mud, 13% (18/142) was Hobbs Types. Types 1, 4, 5, 8, 11, 13, 14 and 16 were detected from the river mud (unheated). Of the isolates from river mud, 13% (12/95) was Hobbs Type. In the isolates from unheated sea mud, 42% (22/52) of the strains tested and 75% (6/8) of the Hobbs Type strains tested were heat resistant (100°C, 15 min.). In the isolates from river mud, 28% (5/18) of the strains tested was heat resistant.

ウェルシュ菌は食中毒の原因細菌であり，本食中毒はおもにA型の耐熱性株(HOBBS型株)によって惹起される(1)。また，DUNCANら(2, 3)は本菌が腸管内で増殖し，胞子を形成する際にエンテロキシンを産生することを明らかにしている。本食中毒の原因食品は欧米では食肉類の加熱調理食品であるが，わが国では魚介類の加熱調理食品である場合が比較的多い。ごく最近，英国においても魚肉調理食品による本食中毒が見られている(B. C. HOBBS, 1975, 私信)。

飯塚ら(4)は冷凍タラの内臓からウェルシュ菌を分離した。著者らも，生鮮魚介類の体表から，また，試料によっては消化管から本菌が検出されることを前

に報告(5)した。すなわち，生息環境における底生魚介類の本菌による汚染の問題は食品衛生上から無視できない。

著者は前報(6)で1972年の有明海の湾奥および湾中部の海泥からウェルシュ菌が多数検出されたこと，また，大腸菌および腸球菌との関連から有明海の内海泥中のウェルシュ菌は陸上由来性であり，陸上汚濁水による海泥の汚染を標示していると考えられることを報告した。本報では，更に，1971年から1976年にわたって有明海の湾奥部海泥からウェルシュ菌の検出を試みた。その結果，湾奥部海泥における本菌の年次別分布，ならびに，分離株の性状を明らかにすることがで

きた。また、汚染源と考えられるおもな流入河川の河川泥についても同様な研究を行なったので、それらの結果を合わせて報告する。

実験方法

1. 供試海泥および河川泥

1971年9月、1972年6、8、9月、1973年8、11月および1976年6月に有明海灣奥部の10地点から海泥（底質表面から5cmまでの層）を採取した。また、1976年6月および1973年8、11月に流入9河川およびそれらの一部河川から河川泥をそれぞれ採取した。海泥の採取法は前報（6）に記述した。河川泥は下流域からドレッジ式採泥器により採取した。試料泥の採取地点は Fig. 1 に示した。

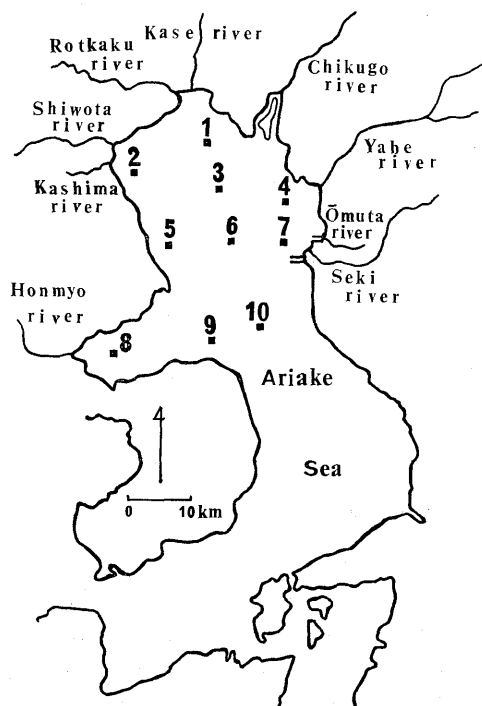


Fig. 1. Sampling stations of sea mud in Ariake Sea.

2. ウェルシュ菌の検出法

海泥試料からのウェルシュ菌の検出および菌数測定法は前報（6）の方法に従った。河川泥試料からの検出・測定は海泥試料に準じた。分離株のウェルシュ菌としての同定は辺野喜の基準（7）に従った。

3. 分離株の毒素産生型（A～F型）の型別法

マウスを用いた抗毒素血清による保護試験によった。試験はA型であるか否かの判定にとどめ、試験方

法は魚貝類分離株の場合（5）に準じた。A型抗毒素血清は千葉県血清研究所製品を使用した。

4. 分離株の HOBBS 型の型別法

a. 抗原：卵黄加CW寒天平板培養（37℃、24時間）上のスムーズコロニーからの菌体を生理食塩水に浮遊させ、100mg/mlの濃厚菌液を作り抗原とした。

b. 免疫血清：HOBBS 型免疫血清（1～17型）は東芝化学工業製品を使用した。

c. 凝集反応：常法（7）に従って凝集反応を試験した。

5. 分離株の耐熱性試験法

KIM 培地（8）37℃、48時間培養、クックドミート培地（糖無添加）37℃、48時間培養、および、1.0%濃度にアスコルビン酸ナトリウムを添加したAGA培地（9）37℃、5日間培養の菌液について耐熱性を試験した。すなわち、チオグリコレート培地（TGC培地）37℃、5～7時間培養菌液の0.2mlをKIM、クックドミート（糖無添加）およびAGA（アスコルビン酸ナトリウム1.0%添加）培地の10mlにそれぞれ接種する。37℃で所定時間培養後、同培養菌液を100℃、15分間加熱してから直ちに急冷する。加熱・急冷処理した培養菌液の1.0mlをTGC培地に接種し、37℃で2日間培養後に発育を認めたものを耐熱性陽性とした。

実験結果および考察

1. 有明海の湾奥部海泥および流入河川泥におけるウェルシュ菌の分布

有明海の湾奥部（地点1～10）の海泥試料におけるウェルシュ菌数の年次変化を知るために、1971、1972、1973および1976年に同菌数を測定した結果は Table 1 のようである。すなわち、湾奥部海泥において、1971年9月に7,300～75,000/100g（湿泥）、1972年6、8および9月に110～12,000/100g、1973年8および11月に270～46,000/100g、1976年6月に240～2,400/100gの本菌数が認められた。9月試料について見ると、本菌数は1971年よりも1972年が減少しているようである。しかし、1973年の8月試料は1972年の8月試料よりも多い傾向が見られ、1976年の6月試料もまた1972年の6月試料よりも多い傾向が見られた。この様に有明海の湾奥部海泥中に1971年から1976年までの調査において多数のウェルシュ菌が検出されたことは注目し値する。

前報（6）において、有明海海泥中における大腸菌、腸球菌の分布とウェルシュ菌の分布との関連か

Table 1. Distribution of *Clostridium perfringens* in the sea mud of the inner part of Ariake Sea (bay).

Station	M P N / 1 0 0 g						
	1971 Sep.	Jun.	1972 Aug.	Sep.	1973 Aug.	Nov.	1976 Jun.
1	21,000	700	7,500	1,200	24,000	/	2,400
2	15,000	2,000	7,500	640	/	/	2,100
3	/	400	/	280	/	/	240
4	7,300	700	12,000	6,400	46,000	11,000	240
5	/	400	930	2,400	/	/	460
6	/	400	/	1,500	/	/	1,100
7	75,000	900	3,900	200	2,400	270	1,100
8	/	400	2,100	140	24,000	46,000	240
9	9,100	900	7,500	200	/	/	460
10	/	900	/	110	/	/	/

MPN.....most probable number.

ら、有明海海泥中のウェルシュ菌は陸上由来性であると考えられた。この推測を更に確めるために、1976年6月におもな流入河川（9河川）の河川泥についてウェルシュ菌数の測定を行なった。測定結果を Table 2 に示した。すなわち、9河川の河川泥から多数のウェ

Table 2. Distribution of *C. perfringens* in the river mud of the rivers running into the inner part of Ariake Sea (bay).

Jun. 1976			
River	MPN/100g	River	MPN/100g
Cikugo	24,000	Yabe	11,000
Kase	240	Ōmura	4,600
Rotkaku	110,000	Seki	46,000
Shiwota	24,000	Honmyo	21,000
Kashima	24,000		

ルシュ菌が検出され、特に、それらのうちの6河川（筑後川、六角川、塩田川、鹿島川、矢部川、関川）の河川泥は同一調査時期の有明海海泥における最高ウェルシュ菌数よりも4.6~46倍多い本菌数を示した。この事実からも有明海海泥中の本菌は陸上由来性であり、汚染源はおもにこれら流入河川泥にあると考えられる。

2. 有明海の湾奥部海泥および流入河川泥から分離されたウェルシュ菌の性状

1) 分離株の毒素産生型 (A~F型) および HOBBS 型について

海泥および河川泥分離株からそれぞれ60および40株を無作為に選び、A~F型の型別を行なった結果、供試株は総てA型に該当した。

海泥および河川泥分離株の HOBBS 型免疫血清 (1~17型) に対する凝集反応試験の結果を Table 3 に示

Table 3. Agglutination of *C. perfringens* strains isolated from sea- and river mud with Hobbs type sera (Type 1-17).

Specimens	Numbers of positive strains										Detection rate (%) of Hobbs type strains in isolates
	Types of serum										
	1	2	4	5	6	8	11	13	14	16	
Sea mud											
unheated	1	1	2	8	1	2	0	3	0	0	13 (18/140)
heated	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	33 (3/9)
River mud											
unheated	2	0	2	2	0	1	2	1	1	1	14 (12/86)

Type 3, 7, 9, 10, 12, 15 and 17 were not detected.

Unheated sea mud specimens: Sep. 1971, Jun. Aug. Sep. 1972,

Aug. Nov. 1973, Jun. 1976. Heated sea mud specimens: Aug. Sep. 1976.

Unheated river mud specimens: Nov. 1973, Jun. 1976.

した。すなわち、無加熱海泥分離株の場合、140株中から1型(1株)、2型(1株)、4型(2株)、5型(8型)、6型(1株)、8型(2株)および13型(3株)が検出され、Hobbs型株の検出率は13%(18/140)であった。これに対し、加熱処理(100℃、15分)海泥分離株の場合は9株中から5型(1株)および13型(2株)が検出され、Hobbs型株の検出率は33%(3/9)と比較的に高かった。他方、河川泥(無加熱)分離株の場合は86株中から1型(2株)、4型(2株)、5株(2株)、8型(1株)、11型(2株)、13型(1株)、14型(1株)および16型(1株)が検出され、Hobbs型株の検出率は14%(12/86)であった。すな

わち、分離ウェルシュ菌中からのHobbs型株の検出率は海泥(無加熱)分離株の場合と河川泥(無加熱)分離株の場合との間に大差は認められなかった。

湾奥部海泥および流入河川泥におけるHobbs型株の検出状況をTable 4および5に示した。すなわち、湾奥部海泥からHobbs型株が検出された地点は調査時期によって相違した。しかし、1971年から1976年までの全調査期間を通じて見れば、湾奥部海泥は全体的にHobbs型株によって汚染されていると考えられる。他方、河川泥の場合、調査した9河川のうちの6河川の河川泥からHobbs型株が検出された。また、Hobbs 1, 4, 5, 8および13型株が海泥および河川泥の両

Table 4. Detection of Hobbs type strains in the sea mud of the inner part of Ariake Sea (bay).

Station	1971	1972		1973		1976	
	Sep.	Jun.	Aug.	Sep.	Aug.	Nov.	Jun.
1	Type5(1s)	neg	Type5(1s)	neg	neg	/	Type8(1s)
2	Type5(2s)	neg	neg	neg	/	/	neg
3	/	neg	/	neg	/	/	neg
4	neg	Type13(1s)	neg	Type 5(1s)	Type2(1s)	neg	neg
5	/	neg	neg	neg	/	/	neg
6	/	neg	/	Type13(1s)	/	/	neg
7	Type5(2s)	neg	neg	Type13(1s)	neg	neg	Type8(1s)
8	4(1s)	Type13(1s)	neg	Type 1(1s)	Type5(1s)	Type13(1s)	neg
9	neg	neg	neg	neg	/	/	Type4(1s)
10	/	Type 5(1s)	/	neg	/	/	6(1s)

s.....strain(s). neg.....negative.

Table 5. Detection of Hobbs type strains in the river mud of the rivers running into the inner part of Ariake Sea (bay).

River	Nov. 1973	Jun. 1976
Chikugo	/	Type14(1s)
Kase	/	Type 1(1s)
Rotkaku	/	4(1s) neg
Shiwota	/	Type 1(1s)
Kashima	/	4(1s) Type 5(2s)
Yabe	/	13(1s) neg
Ōmuta	Type11(2s)	neg
Seki	/	neg
Honmyo	Type 8(1s) 16(1s)	neg

方から検出されているので、当然、海泥中のHobbs型株の汚染源は河川泥にあると考えられる。しかし、河川泥(1976年6月および1973年11月)と同じ調査時期の海泥から検出されたHobbs 4, 6, 8および13型のうち4型のみが河川泥における検出Hobbs型の中に含まれていたにすぎなかった。このように海泥分離株のHobbs型と河川泥分離株のHobbs型との間に一致が不完全であった理由は河川泥による海泥汚染についての追跡調査を行っていないこと、および、海泥・河川泥試料の採取数が少なかったことに原因していると思われる。

2) 分離株の耐熱性について

海泥(無加熱)分離52株および河川泥(無加熱)分離18株についてクックドミート培地(糖無添加)、KIM培地およびAGA培地(アスコルビン酸ナトリウム1.0%添加)による培養菌液の耐熱性を試験した結果をTable 6に示した。すなわち、海泥分離株は42%(22/52)が上記の何れかの孢子形成培養で耐熱

Table 6. Detection of heat resistant strains (100°C, 15 min.) in Type A and Hobbs type strains isolated from unheated mud.

Strains tested	Detection rate (%)			
	Cooked meat	Sporulation media Kim AGA		Cooked meat, Kim, AGA
from sea mud				
Type A	25(13/52)	27(14/52)	40(21/52)	42(22/52)
Hobbs type	50(4/ 8)	65(5/ 8)	75(6/ 8)	75(6/ 8)
from river mud				
Type A	17(3/18)	22(4/18)	28(5/18)	28(5/18)

性 (100°C, 15分) を示したのに対し, 河川泥分離株は 28% (5/18) が耐熱性を示したにとどまった。また, 海泥 (無加熱) 分離 HOBBS 型株 (8株) について耐熱性を試験した結果, 75% (6/8) が耐熱性を示した (Table 6)。このように, 河川泥分離株よりも海泥分離株から高率に耐熱性株が検出される傾向が認められたが, この点については更に詳しく検討する必要がある。また, 海泥分離ウエルシュ菌の42%が耐熱性を示し, 海泥分離 HOBBS 型株の75%が耐熱性を示したことは, 恐らく, これら分離株の中にエンテロトキシン産生能を有するものが含まれていることを示すものと考えられ重要である。

以上の調査研究によって, 有明海の湾奥部の海泥は1971年から1976年にわたって多数のウエルシュ菌によって汚染されていることが明らかになった。また, 耐熱性の HOBBS 型株が同海泥から検出されたことは, 底生魚介類の同型ウエルシュ菌による汚染という立場から, 食品衛生上重要である。なお, 今後の問題として, 分離ウエルシュ菌のエンテロトキシン産生能について検討する必要がある。

要 約

有明海の湾奥部海泥について1971, 1972, 1973および1976年にウエルシュ菌の分布を調査測定し, 更に, 分離株の性状を試験した。また, 1976および1973年に流入河川泥について同様の研究を行なった。

1) 有明海の湾奥部海泥において1971年から1976年にわたって多数のウエルシュ菌が検出された。海泥中における最高ウエルシュ菌数は 2,400~75,000/100 g (湿泥) であった。海泥の汚染源と考えられる河川泥

における本菌数は湾奥部海泥におけるそれよりも大であった。

2) 分離株のうちの全供試100株がA型に該当した。海泥分離株から HOBBS 1, 2, 4, 5, 6, 8 および13型株が検出された。無加熱海泥分離株の13% (18/140), 加熱 (100°C, 15分) 海泥分離株の33% (3/9) が HOBBS 型に該当した。河川泥 (無加熱) 分離株から HOBBS 1, 4, 5, 8, 11, 13, 14 および16型株が検出された。河川泥分離株の14% (12/86) が HOBBS 型に該当した。

3) 海泥 (無加熱) 分離株の場合, 供試株の42% (22/52) が, また, 供試 HOBBS 型株の75% (6/8) が耐熱性 (100°C, 15分) を示した。河川泥 (無加熱) 分離株では供試株の28% (5/18) が耐熱性を示した。

文 献

- 1) 善養寺浩 (1965). 食衛誌, 6, 133~143.
- 2) DUNCAN, C. L., H. SUGIYAMA, and D. H. STRONG (1968). *J. Bacteriol.*, 95, 1560~1566.
- 3) DUNCAN, C. L., D. H. STRONG (1969). *J. Bacteriol.*, 100, 86~94.
- 4) 飯塚広・崔渭卿 (1968). 食衛誌, 9, 124~132.
- 5) 谷口忠敬・銭谷武平 (1969). 食衛誌, 10, 266~271.
- 6) 谷口忠敬 (1976). 本誌, No. 41, 15~19.
- 7) 辺野喜正夫 (1965). 食品衛生研究, 15 (6), 5~17.
- 8) KIM, C. H., R. CHENEY, and M. WOODBURN (1967). *Appl. Microbiol.*, 15, 871~876.
- 9) 谷口忠敬 (1968). 食衛誌, 9, 219~223.