

市販魚介類より分離された好塩性細菌について

琉球衛生研究所 細菌部 与那原 良 夫

1. 緒 言

病原性好塩菌によると思われる食中毒事例が本土各地で報ぜられ、沖縄に於いても1962年9月該菌による食中毒の発生例が報告されている。

厚生省は病原性好塩菌による食中毒措置要領及び病原性好塩菌検査要領を定め、関係機関の協力のもと本菌食中毒の全国的実態調査に乗り出しており、当衛研でも、一応該菌に就いての調査研究を年次計画として取り上げ、手初めに市販魚介類から分離される該菌の魚種別分布及び生化学型 (biotype) の分布を調査する為、那覇市場に於いて販売されていた近海魚介類10種56件について研究調査を行つたので報告する。

2. 検査方法

魚類7種及びえびについては、体表(片面のみ)、消化管及びえらから菌の分離を試みた。体表は滅菌綿棒で充分にぬぐい、消化管及びえらは滅菌ピンセットで無菌的に取り出し、滅菌はさみで細かくして検体とした。

貝類は無菌的に殻を開き、むき身と貝殻内の水分を検査対象とし、むき身は滅菌はさみで細片とした。かきはビニール袋に海水と共に詰められたもので、むき身は貝と同様に処理し、海水も検査の対象とした。

検査の対象にした魚種名及び採取部位は第1表に示す通りである。

第1表 魚種名、採取部位並に出現率(検体比)

魚種名	採取部位	採取部位							検体数		出現率
		体表	消化管	えら	水分	むき身	海水	陽性匹数	陰性匹数		
(ひき)		5 2	5 5	5 4				15	11	73.33%	
はまぐり					2 2	4 4		6	6	100 -	
かき						2	2	4	0		
たかさご (ぐるぐん)			2 1	2 1				4	2	50 -	
きはだまぐろ (きはだ)			1	1				2	0		
はなふえだい (びたらー)		5 1	5	5 1				15	2	13.33	
えび		1	2	1				4	0		
さば			1	2				3	0		
たまみ (たまん)		1						1	0		
あいご (すくらす)		2						2	0		
検体数		14 3	16 6	16 6	2 2	6 4	2 0	56	21		
出現率		21.43%	37.50	37.50	100-	66.67	0			37.50	

各検体を4%食塩加Pepton水で37°C 24時間増菌培養を行い、分離培地に移した。第1回目の6種27検体は分離培地として変法マツコンキー培地 (PH 7.2) 及び変法デスオキシコール酸塩培地 (PH 7.2) を用い、第2回目の5種29検体の場合は、変法マツコンキー培地並びにBTB加胆汁酸塩培地 (PH 7.2) を用いて分離培養 (37°C 24時間) を行い、疑わしい集落をTSI培地に接種して確認培養を試みた。

以下生化学的性状検査は厚生省の病原性好塩菌検査要領に準拠して行つた。

マウスに対する病原性試験は、生化学型I型株70号及び172号の2分離菌株とIV型株113号1分離菌株を用いて、各々の24時間ペプトン水培養液0.5ml及び0.1mlを1グループ4匹宛のマウスの腹腔内に夫々接種して行つた。

3. 検査成績

分離菌株201株中、TSI培地所見で、ガス産生株、H₂S産生株、継代不能株 (TSI培地で嫌氣的発育を示し、純培養不能で保存株が得られなかつたもの) を除いた164株に就いて、3%食塩加Pepton水と無塩Pepton水を用いて好塩性試験を行い、更にインドール産生能(-)、ゼラチン液化能(-)のものを除き、第2表に示したように好塩性菌株91株を得た。

第2表 好塩性菌の出現率及び部位

	検査件数	好塩菌株数	非好塩菌株数	不明	出現率	
はなふえだい 体表 (びたろー)	5件 20株	10	1	9	50%	68.78
" 消化管	5件 13株	11	0	2	84.62	
" えら	5件 15株	12	0	3	80	
はまぐり むき身	24	18	0	6	75	65.71
" 水分	11	5	0	6	45.45	
たかさご (ぐるくん) 消化管	10	8	0	2	80	78.57
" えら	4	3	1	0	75	
(ひき) 体表	31	5	3	23	16.13	35.82
" 消化管	18	8	0	10	44.44	
" えら	18	11	0	7	61.11	
計	164	91	5	68	55.49	

好塩性菌株の出現率は、たかさご(ぐるくん)の78.57%を最高とし、以下はなふえだ(びたろー)、はまぐり、(ひき)の順で、4魚種にしぼられているが、これは魚種別の出現率とは思われず、作為的な出現率と見做すべきであろう。部位別に見ると、魚類においてはえらからの出現率が高く70.27%を示し、次いで消化管及び体表の順になっている。

これら91株について生化学型分類を行った結果を表に示す。インドール反応、ゼラチン液化試験及びクエン酸塩利用試験は37°C 48時間培養後、VP及びMR試験は室温にて48時間培養後、その他は37°C 18~24時間後に夫々の結果を判定した。

白糖分解能はTSI培地で一応検査済みであるが、更めてBarsiekow培地を用いて性状の似た37株についてのみ再試した。

部位別の出現率		
魚類	えら	70.27%
	消化管	65.85%
	体表	29.41%
貝	むき身	75. — %
	水分	45.45%

第3表 好塩性細菌の性状検査結果

	検査 件数	遊動性	グラム 染色	△ △ △										
				インドール 反応	H ₂ S 産生	ゼラチン 液化	クエン酸 塩利用	硝酸塩 還元	カタラーゼ 酸化	グルコース 酸酵	VP	MR	白糖 分解	
はなふえだ (びたろー) 体表	10	10	10	4	0	7	8	8	8	8	8	5.3	4.4	1.0
" 消化管	11	11	11	0	0	8	8	8	8	8	8	6.3	6.3	0.0
" えら	12	11	12	3	0	7	8	8	8	8	8	5.4	4.3	2.0
はまぐり むきみ	18	17	18	12	0	15	13	18	17	17	17	2.11	12.1	7.3
" 水分	5	4	5	5	0	3	5	5	5	4	4	2.3	3.2	0.1
たかさご (ぐるくん) 消化管	8	8	8	6	0	4	4	7	8	8	8	0.5	1.0	5.1
" えら	3	3	3	3	0	2	2	3	3	3	3	0.3	3.0	2.0
(ひき) 体表	5	5	5	3	0	2	3	5	5	4	4	0.7	4.1	0.2
" えら	11	11	11	9	0	8	8	11	11	9	9	0.8	8.0	0.8
" 消化管	8	8	8	8	0	7	5	8	8	8	8	2.6	7.1	1.4
計	91	88	91	53	0	63	64	81	81	77	77	20 51	52 15	18 19
陽性率		96.70	100	58.24	0	69.23	70.33	89.67	89.67	84.62	84.62	21.98 56.04	57.14 16.48	19.89 20.68

△ VP、MR試験は室温にて48時間培養後判定 △△は37°C 48時間培養 他は37°C 18~24時間

性状検査の結果、病原性好塩菌の性状と一致するものが、37株で第4表に示す通りである。

第4表 病原性好塩菌の生化学型分布

biotype I 18株
 // III 1株
 // IV 18株

検体部位 魚種	体表			消化管			えら			むき身			水分		
	I型	III型	IV型	I	III	IV	I	III	IV	I	III	IV	I	III	IV
はなふたい (びたろー) A							●								
// B	●														
(ひき) A			●			●			●						
// B						●			●						
// C						●									
// D				●		●	●		●						
// E			●			●	●		●						
たかさご (ぐるん)			●	●		●	●								
はまぐり A										●	●				
// B										●		●			
// C										●	●				●
// D												●	●		
	1	0	2	5	0	8	5	0	4	6	1	3	1	0	1

37株中 biotype I型と一致するもの18株、III型と一致するもの1株、IV型と一致するもの18株となっており、これらの菌株と採取部位との関係は、I型でははまぐりのむき身が16.22%で最高を示し、次いで魚類の消化管及びえらが同率で13.51%、以下体表(2.76%)、はまぐり水分(2.76%)となっている。III型ははまぐりのむき身からのみ検出され2.76%を示し、IV型は、魚類の消化管21.62%、えら10.8%、はまぐりむき

身8.11%、体表5.41%及びはまぐり水分の順に出現率が低下している。

マウスに対する病原性試験は、第5表に示すようにI型菌0.5mlでは4匹全部斃死せしめたが、0.1mlでは異常を認めず、IV型菌液0.5mlでは僅かに1匹を15時間後に斃死せしめたのみで、菌力の弱さが、うかがわれる。

0.1mlでは全く異常が認められなかつた。

斃死したマウスの病変部位を生理食塩水で乳剤として、増菌、分離、確認培養を行つた結果供試I型株70号により斃死したマウスの十二指腸部から供試株に全く一致した性状を有する菌株を分離する事が出来た。

第5表 マウスに対する病原性試験

菌液	腹腔内接種量	
	0.5 ml	0.1 ml
I 型 株 70 号	● (6) ● (8)	○ ○
// 172 号	● (6) ● (15)	○ ○
IV 型 株 113 号	● (15) ○	○ ○

() 内は斃死に至るまでの経過時間

4. 考察並びに結論

分離培地として、変法マツコンキープ地、変法デスオキシコール酸塩培地、BTB加胆汁酸塩培地を使用した。変法マツコンキープ地とBTB加胆汁酸塩培地の併用が鑑別し易く、使用に便利であつた。

201株の分離株の中、病原性好塩菌に性状が一致する株は37株で13.44%を示した。これは篠川等¹⁾の調査による冬期の検出率9.4%より少々高い。

えら及び消化管よりの出現率が高い事は、該菌が海水中に含まれ、呼吸及び食物摂取の際体内にとり入れられる事が容易に考えられる。

第1表に示したように、はまぐりから100%検出された事は、堀江²⁾が指適しているように、海底泥上と本菌との密接な関係がうかがわれる。

マウスに対する病原性については、種々の事が言われているが、今回の実験に於いては供試菌株70号の菌液で斃死したマウスの臓器から接種菌と同一性状の菌が分離された事がらみて少なくとも70号株については、病原性を有するものと思われる。しかし分離菌株37株すべてが病原性を有するか否かは明らかでないが、今後血清学的検査及びその他の検査を行つて意義づけたい。

以上分離株の生化学的性状検査及びマウスに対する病原性試験を行つた結果を報告した。尙御協力下さつた水産研究所の久高技師に感謝の意を表します。

5. 文 献

- 1) 篠川至、他 食品衛生研究、第12巻 第8号、1962。

- 2) Modern Media, Vol. 8, 6, 1962.
- 3) 柳沢文徳、魚介類食中毒と好塩性細菌、1961。
- 4) 堀道紀、食中毒とその実際、1962。
- 5) 高野、他、食品衛生研究 第11巻 第12号、1961。
- 6) 我妻正三郎、食品衛生研究、第11巻 第9号、1961。
- 7) 坂崎利一、食品衛生研究、第12巻 第7号、1962。
- 8) 福田武夫、他、食品衛生研究、第11巻 第2号、1961。

病原性好塩菌による食中毒について

琉球衛生研究所 細菌部 大城 孝 喜

緒 言

近年、本土においては病原性好塩菌が魚介類による中毒の60%以上を占めていることは周知の通りであり、また、沖縄に於いても魚介類によると思われる食中毒が50%以上を占めている。

今般、コレラ菌検索中、1962年9月2日、腹痛、嘔吐、下痢等の主要症状を訴え、那覇病院に入院した1患者から分離された病原性好塩菌、更に、同年9月14日、同じく腹痛、下痢等を呈する患者(昭瑞丸船員)17名中、10名から分離された病原性好塩菌の諸種の生物学的性状及び該菌による食中毒の疫学について些か知見を得たので本食中毒による臨床症状と共に報告する。

実験材料

上記の患者から分離された病原性好塩菌11株を実験に供した。

分離方法及び同定方法

表1に示す様に厚生省の病原性好塩菌食中毒検査要領に準じて行つた。即ち、患者の糞便1~2白金耳を3%塩化ナトリウム加マツコンキー寒天培地に塗抹し、37°C 18~24時間培養後疑わしい集落(無色または黄色)を1白金耳釣菌し、3%塩化ナトリウム加普通寒天培地に移植して37°C 24時間純培養後、グラム染色、運動性、インドール産生、硝酸塩還元、ブドウ糖発酵試験等を行い、病原性好塩菌の性状を示したもにつき、白糖分解、VP試験を行つて、その代表株を病原性好塩菌センターに送付した。