腸炎ビブリオに関する研究 (第6報)

都市川水から2次分離操作によって得られた
腸炎ビブリオとその類似菌について

(昭和42年8月26日受理)

安 永 統 男*

Studies on *Vibrio parahaemolyticus* (VI)
On *Vibrio parahaemolyticus* and Related Bacteria Obtained from
City River Waters by Means of Secondary Isolation Procedure

Norio YASUNAGA

(Nagasaki Prefectural Institute of Public Health:
32-31, Nameshi-machi, Nagasaki)

Following the previous work, experiments were carried out to re-examine in more detail of *V. parahaemolyticus* isolated from river waters by means of a secondary isolation procedure (Fig. 1).

The results were as follows:

1. Two cultures of biotype 1, 3 of biotype 2, and 3 of related bacteria were isolated by means of the secondary isolation procedure from river water samples collected in Nagasaki, Sasebo, and Isahaya cities (Table 1).

2. Almost all of their parent cultures obtained by means of a primary isolation procedure possessed the same biological characteristics as them, with exception of ability to grow in peptone water not containing NaCl (Table 2).

3. When the characteristics of the cultures grown in NaCl-not containing peptone water were compared with those of *V. parahaemolyticus*, remarkable differences were observed in general (Table 3). It was considered that the *V. parahaemolyticus* and related bacteria isolated by means of the secondary isolation procedure were variants of the cells in these cultures of nonhalophilic bacteria.

4. Cultures of bacteria similar to the cultures of nonhalophilic bacteria were obtained directly from primary isolation plates (Table 4).

5. It was confirmed that halophilic variants recognized to be *V. parahaemolyticus* were obtained from the pure cultures of the nonhalophilic bacteria (Table 5).

6. From these results, the author presumed that *V. parahaemolyticus* distributing in sea water area might result from the variation of such nonhalophilic bacteria.

(Received August 26, 1967)

は し が き

著者はこれまで、長崎市内の感潮地点よりも上流川水からの腸炎ビブリオを含む多種類の好塩菌の分離例を端緒に、腸炎ビブリオを真の海洋細菌とみなすことに対し懐疑的な見方に立って一連の研究を進めてきた。

前報¹⁾においては、3%食塩加ベトン水で旺盛な増

* 長崎県衛生研究所：長崎市滑石町32の31

殖を示す一方、食塩無添加ベトン水でも弱いながら生育可能な腸炎ビブリオ類似菌が佐世保市内の川水から分離され、さらに前者の菌培養から2次分離操作によって完全な好塩型の菌が得られる事実に言及した。これらの菌株は、腸炎ビブリオ生物型2および耐塩域は相違するが加藤ら²⁾の方法により強い溶血性を示す生物型1近縁菌で、後者の菌株中には腸炎ビブリオ生物型1 K抗原に

明りょうに型別できるものも存在している。

しかも、2次分離菌株の母体である1次分離菌についても、3%食塩加ペプトン水および食塩無添加ペプトン水中の生育菌はともに溶血性を有しており、またK抗原も明らかに同一型に分類された。これらの事実から、食塩無添加ペプトン水中の生育菌は外部からの混入菌ではないであろうとの見解を述べておいた。

以上のごとき菌と自然界やヒトから普通に分離される腸炎ビブリオとがいかなる関連性を有するものなのか興味を持たれる。そこで、その実態把握の手がかりを得るため、その後引き続き長崎県下の都市川水を対象に調査を実施し、分離菌について検討を行なったところ、川水から検出される腸炎ビブリオならびに海水域に分布する本菌群の生態と由来とを推測する上に示唆的な結果が得られたので報告する。なお、本報においても前報と同じく、腸炎ビブリオとは従来どおり生物型2の菌をも指すことにする。

実験方法

1. 川水試料の採取

いずれも感潮地点よりも上流の、市街地ないしはその周辺の川水であることはこれまでどおりである。

長崎市内での採取 昭和41年8月16日、30日および9月5日、中島川の1個所から計3検体の川水を100 ml容ガラスびんに無菌的に採取した。

諫早市内での採取 同年9月20日、本明川の6個所から各1検体を同様に採取した。

佐世保市内での採取 同年12月5日、佐世保川と小佐世保川との各1個所から2検体を、また翌42年2月28日、これらの両河川と名切川との各1個所から3検体を2000 ml容ポリエチレンびんに無菌的に採取した。

2. 菌株の分離

Fig. 1 に示した操作過程を経て実施した。

1次分離 長崎ならびに諫早市内からの採取川水は当研究所に持ち帰ったのち、6%食塩加2%ペプトン水5

Fig. 1. Procedures for isolation of cultures of *V. parahaemolyticus* and related bacteria from river water

— primary isolation process

.... secondary isolation process

A, B, C and D denote river water samples indicated in the footnote of Table 1.

3 P=3% NaCl containing peptone water

NP=no NaCl containing peptone water

Signs (— ~ 卐) represent degree of growth after 24 hr at 37°C

ml に等量加え、1 検体につき 10 本の試験管系列として 37° で 20 時間培養した。一方、佐世保市内の採取川水については直ちに採取現場で増菌培地に混入させた。すなわち、12 月に採取した川水の場合は、1 検体につき 8 % 食塩加 2 % ペプトン水 100 ml のはいった 300 ml 容三角フラスコ 5 個に 150 ml ずつ投じ 13~34° に 24 時間放置後さらに当研究所で 37°、20 時間培養を行なった。また、2 月の採取川水は、1 検体につき 15 % 食塩加 5 % ペプトン水 50 ml のはいった 300 ml 容三角フラスコ 10 個に 200 ml ずつ投じ 14~27° に 24 時間放置後さらに当研究所で 37°、20 時間培養した。次いで以上の各培養液から、TCBS 寒天および BTB ティポール寒天培地（いずれも栄研製）のうち 1 種類を用いるかまたは 2 種類を併用し、各平板上に白金耳で塗抹後 37°、24 時間培養した。生じた集落中から、長崎市の川水からの場合は白糖非分解性とみなされるものを選び、諫早市と佐世保市との川水からの場合は白糖分解性、非分解性のいかによらず豊かな生育を示したものを 1 平板上から各 1 個の菌を行なった。なお以上のほか、長崎市内の川水を試料とした際は上記平板をそのまま 3 日間室内に保存後その間に生育増大した白糖分解性よう集落から釣菌した場合もあった。拾った集落は前報¹⁾ 同様に直ちに 3 % 食塩加ペプトン水と食塩無添加ペプトン水とを用いて培養し好塩性の有無を調べた。

2 次分離 上記の好塩性試験の結果、食塩無添加ペプトン水でも多少とも生育しうる食塩嗜好性菌については、さらに 3 % 食塩加ペプトン水の培養から TCBS または BTB ティポール寒天培地のいずれかに塗抹培養後、1 次分離操作と同じ手順を経て好塩菌を得た。なお、これらの分離菌は食塩無添加ペプトン水に接種後、

20° に 1 週間放置して増殖できないことを確かめている。これは、川水域からしばしば分離される、37° では完全な好塩性を有するが 20~25° 付近では非好塩性を示すところの見かけ上の好塩菌³⁾ とは異なることを確認するために実施した。

3. 分離菌株の性状検査

形態学的性状は常法どおりのグラム染色、ペン毛染色のほかに電子顕微鏡によっても観察した。また、生化学的性状、血清学的性状ならびに溶血能の各検査は前報¹⁾ に準じて実施した。ただし、IPA 反応は SIM 培地（栄研製）を用いて試験した。以上の各種性状検査において、1 次分離操作で得られた非好塩菌、ならびに 2 次分離操作の対象となった食塩嗜好性菌株の食塩無添加ペプトン水での生育菌に関しては、培地中に食塩は追加せずに通常の濃度のものを使用した。なお、これらの非好塩菌の一部のものは、好塩性の出現とそれに伴う腸炎ビブリオへの変換について、後述のごとく若干の検討を加えた。

実験結果および考察

本研究における採取川水からの腸炎ビブリオならびにその類似菌の分離状態は Table 1 のとおりである。

2 次分離操作の結果得られた腸炎ビブリオは 5 株で、そのうちの 2 株は長崎市内の川水から分離されたもので生物型 1 に、3 株は佐世保市内の川水由来の生物型 2 に属する菌であった。長崎市内の川水からは他に 2 次分離菌として 7 % 食塩に対する耐性でのみ異なる生物型 1 類似菌が 1 株検出されたが、これは前報¹⁾ で記した佐世保市内の川水由来株と同類のもので、加藤ら²⁾ の方法による溶血能試験でやはり強い溶血性を有していることが確かめられた。ここでもひとまず腸炎ビブリオとして分類しておく。以上のほかに 2 次分離操作により、諫早市と

Table 1. Isolation of *V. parahaemolyticus* and Related Bacteria from River Waters

River water samples	No. of samples	Characteristics of samples (mean value)			No. of cultures of halophilic isolates			
		Temperature (°C)	Cl ⁻ (ppm)	Coliforms per ml	Total	Biotype 1	Biotype 2	Related bacteria
A	3	26	24.8	44 × 10 ²	{ (1) 8 (2) 3	2 2	1 0	0 1*
B	6	21	10.2	24 × 10	{ (1) 2 (2) 1	0 0	0 0	0 1
C	2	14	28.8	17 × 10	{ (1) 13 (2) 3	0 0	1 3	0 0
D	3	11	42.3	35 × 10	{ (1) 20 (2) 1	0 0	0 0	1 1

A....Collected from a river in Nagasaki city, Aug. 16 to Sept. 5, 1966

B....Collected from a river in Isahaya city, Sept. 20, 1966

C....Collected from 2 rivers in Sasebo city, Dec. 5, 1966

D....Collected from 3 rivers in Sasebo city, Feb. 28, 1967

(1)....Primary isolation procedure

(2)....Secondary isolation procedure

* Placed in the *V. parahaemolyticus* group in the present paper

佐世保市との川水からは生物型 1 に近似の性状を示すところの好塩菌がそれぞれ 1 株分離されている。これらの結果から、川水からの腸炎ビブリオの検出手段として 2 次分離操作の必要性がさらに認識されよう。

以上の 2 次分離菌 8 株について、その母体である 1 次分離操作で得られた菌と性状を相互に比較したところ、Table 2 に示したごとく、全株とも食塩無添加ペプトン水における増殖能で相違がみられた。また、好塩型のもはすべてブドウ糖からガスの産生は認められなかった

が、原型菌のうちの 1 株はわずかながらガスを産生した。これは下記のごとくガス産生性の非好塩型の菌細胞が混ざっていたためと考えられる。これらの原型菌の食塩無添加ペプトン水中の生育菌は、その食塩に対する増殖態度を調べてみると、2 次分離後の好塩型菌とはかなりの差異を示した。そこで、その他の基礎的な生物学的性状を検査してみた結果は、Table 3 に明らかなように、好塩性、耐塩性以外の性状においても、3%食塩加ペプトン水中の原型菌ならびに 2 次分離後の好塩型菌と

Table 2. Characteristics of Cultures of *V. parahaemolyticus* and Related Bacteria Isolated by Means of Secondary Isolation Procedure, and Their Parent Cultures Isolated by Means of Primary Isolation Procedure

River water sample*1	A		A		A		B		C		C		C		D	
Culture No.	F 3		G 6		NP 5		I 12		TO 1		TO 2		TO 3		FY 6	
Test	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S
Cell-form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Flagellation	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Nitrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrogen sulfide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose																
{ Oxidation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
{ Fermentation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
{ Gas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
d-Tartrate	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
IPA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl (%)																
0	+	-*3	+	-*3	+	-*3	+	-*3	+	-*3	+	-*3	+	-*3	+	-*3
0.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±	±
Growth*2 in peptone water																
Hemolysis*4 of human blood	-	-	-	-	+	+										
Serotype (K antigen)	NT	NT	NT	NT	NT	NT										

+ = positive; - = negative; P = primary isolation culture; S = secondary isolation culture; SP = single polar; NT = nontypable; IPA = indol pyruvic acid

*1 Indicated in the footnote of Table 1

*2 Signs (- ~ +) represent degree of growth after 24 hr at 37°C

*3 No growth was also observed after a week at 20°C

*4 Test was performed by using the method of Kato et al.²⁾

は一般に顕著な相違が認められた。ただ NP 5 株のみが原型菌と同一性状であった。

ことに、チトクローム酸化、ゼラチン液化、ブドウ糖からのガス産生能および IPA 反応の諸試験で性状の異なるものが含まれていたのはきわめて特異的であった。おそらく 1 次分離後の原型菌の菌培養のなかには、すでにこのような異なった性質の細胞が混在していたものと考えられる。

当初著者は常識的な見地から、これらの同時に存在する非好塩型と好塩型菌とは本来は異種のもので、1 次分離の平板培地上で別個に孤立しえず共存状態で単一の集

Table 3. Characteristics of Parent Cultures Grown in No NaCl Containing Peptone Water of *V. parahaemolyticus* Isolated by Secondary Isolation Procedure

Culture No.	F 3	G 6	NP 5	TO 1	TO 2	TO 3
Test						
Cell-form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Flagellation			SP	SP	SP	
Gram stain	-	-	-	-	-	-
Motility	-	-	+	+	+	-
Indol	-	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	±	-	+	-	-	-
Nitrate	+	+	+	+	+	+
Gelatin	-	-	+	-	-	-
Hydrogen sulfide	-	-	-	-	-	-
Glucose						
{Oxidation	+	+	+	+	+	+
{Fermentation	+	+	+	+	+	+
{Gas	-	+	-	+	+	-
d-Tartrate	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	-	-	-	-	-	-
Sucrose	+	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	±	-	-	-	-	-
IPA	-	+	-	+	+	-
NaCl (%)						
0	++	+	++	+	+	+
0.5	++	+	++	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
5	+	+	±	+	+	+
6	-	-	-	-	-	-
Growth*1 in peptone water						
Hemolysis*2 of human blood	-	-	+			

+ = positive; - = negative; ± = questionable; SP = single polar; IPA = indol pyruvic acid

*1 Signs (- ~ ++) represent degree of growth after 24 hr at 37°C

*2 Test was performed by using the method of Kato et al.²⁾

落を形成したものと推定していたが、冒頭でも指摘したごとく、両者の菌培養についての K 抗原の型別試験および溶血能検査結果¹⁾からは以上の推測は否定的に思える。すなわち、川水を増菌培養中に雑多な種類の細菌が生育してくるとはいえ、それから塗抹して生じた平板培地上の孤立集落中に、K 抗原型を同じくし、またかなり制約された条件での溶血能検査で陽性を示すところの 2 種類の菌が偶然に共存する確率はきわめて低いであろう。しかも、好塩性試験の際に、3% 食塩加ペプトン水中で非好塩菌が好塩菌とともに増殖することはあっても、食塩無添加ペプトン水では好塩菌は全く生育できないので当然そこには非好塩菌のみが増殖して存在することになる。念のため食塩無添加ペプトン水中の菌培養から数回単離を繰返して得られた集落についても K 抗原型別、溶血能検査結果は同様であった。本調査で得られた菌株のなかでは、溶血能検査で NP 5 株に同様な現象が認められている。さらに、NP 5 株については、その食塩無添加ペプトン水中の生育菌は、前記のように好塩性、耐塩性以外で好塩型のものと全く類似する性状を示していたことは強調されよう。その後調べたところ、このような性質の菌は前調査¹⁾でも得られており、2 次分離菌である生物型 2 腸炎ビブリオの原型菌がそれに相当した。したがって、さきに記したような、生物学的性状からはそれぞれ完全に別のカテゴリーのものとみなされるところの好塩型と非好塩型の混在集落から得られた菌も、純培養でないとは早急には判断できない。

以上の推論から、1 次分離の好塩型と非好塩型菌の集団はおそらくすべて同じ母細胞からもともと生じたものと考えられるが、いずれが野生型なのかは腸炎ビブリオの生態追求にとって重要な問題点である。著者³⁾の研究では、川水から分離される腸炎ビブリオを含む好塩菌は川水中では長時間生存できないことが確かめられており、この点から推考すると、非好塩型菌の方が野生型で、川水中に含まれていたこれらの菌に分離操作過程でなんらかの要因が作用して好塩型への変異が起こったものと思われる。

なお、諫早と佐世保両市における川水調査では、1 次分離の平板上から腸炎ビブリオの検出を目的に鈎菌した菌株中に非好塩菌が 10 株含まれていたが、これらの菌の性状は Table 4 に示したように、Table 3 に掲げた食塩嗜好性株の食塩無添加ペプトン水での生育菌の一部のものと類似していた。このうちの 1 株は腸炎ビブリオ生物型 1 の K 抗原に明らかに型別されている。性状に統一性はみられないが、川水中に生存する腸炎ビブリオは本来がこのような性質のもので、好塩性獲得以前の状態の菌そのものを捕えたのかかもしれない。

沿岸の海水中でも、川水等によって陸上から運ばれてきたある種の非好塩菌には好塩性の出現とそれに伴う性状変異が起こりうるものと思われ、海水域に分布する腸

Table 4. Characteristics of Cultures of Nonhalophilic Bacteria Isolated by Means of Primary Isolation Procedure

River water sample* ¹	B	B	B	B	C	C	C	C	C	C
Culture No.	I 34	I 53	I 58	I 59	FT 2	FT 3	FT 5	FT 7	FT 8	FT 9
Test										
Cell-form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Flagellation	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP	SP
Gram stain	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—
Nitrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatin	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Hydrogen sulfide	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Glucose										
{Oxidation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
{Fermentation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
{Gas	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
d-Tartrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sucrose	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+
Voges-Proskauer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IPA	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+
NaCl(%)										
0	+	+	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.5	卅	+	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
Growth* ² in										
peptone										
water										
3	+	+	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	±	+	+	+	+	+	±	+	+
7	—	—	—	—	+	±	±	—	+	+
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hemolysis* ³ of human blood	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serotype (K antigen)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	K-8	NT	NT

+ = positive; — = negative; ± = questionable; SP = single polar; NT = nontypable; IPA = indol pyruvic acid

*¹ Indicated in the footnote of Table 1

*² Signs (— ~ 卅) represent degree of growth after 24 hr at 37°C

*³ Test was performed by using the method of Kato et al.²⁾

炎ビブリオもこのような来歴の菌と推察されるが、この想定を実証するためには、まず非好塩菌の好塩菌への変換現象の完全なる解明が肝要であろう。この問題に関しては目下可能性のあるとみられる方向から探究中であるが、現在のところ十分な追試と批判に堪える満足すべき成績は得られていない。しかし本変異現象の発現は被験菌の培養液を1白金耳寒天培地上に滴下接種する方法によって実験的に観察されている。その発現頻度、機構等についての詳細は今後の検討にまたねばならぬが、予備的に現在得られている成績を Table 5 に示しておい

た。供試菌はすべて純培養のもので、そのなかには好塩型菌は全く含まれていないことを同時に確かめている。結果は再現性に乏しいという難点はあるが、このような変異現象の発現は疑いないものといえよう。なお、興味あることには、F3 株を用いた場合、0.5% 食塩加寒天培地上に菌液を滴下して培養後生育してきた菌集団中に、非好塩菌を全く証明できない例が見いだされた。このことは最初の接種菌が残らず好塩型の細胞に変化したことを意味するものであろう。さらに TO2 株については、最初の上記寒天培地上の菌集団から再度同寒天培地

Table 5. Variation of Nonhalophilic Bacteria Obtained in the Present Work to *V. parahaemolyticus*

Culture No.	Initial agar medium used	No. of cultures tested	No. of positive cultures	Variants
F 3	A	5	1	Biotype 2
F 3	B	6	1	Biotype 1
G 6	A	4	0	—
TO 2	B	3	1	Biotype 2
FT 3	B	4	1	Biotype 2
I 58	A	3	0	—
I 58	B	3	0	—

One drop of the stock culture in peptone water containing no NaCl was inoculated on the following media: (A) 1% peptone, 3% NaCl, and 1.5% agar, or (B) 0.5% meat extract, 1% peptone, 0.5% NaCl, and 1.5% agar. All or a loopful of the bacteria from a culture on the medium was then inoculated in 3% NaCl containing peptone water. The culture was streaked on the BTB teepol agar. The typical colonies developed were picked and examined for identification of *V. parahaemolyticus*. All incubations were carried out for 24 hr at 37°C.

上に画線培養してみると、発生した弧立集落のなかに、非好塩型細胞を含む食塩嗜好性の集落があり、やはりこれから2次分離操作によって腸炎ビブリオ生物型2が得られている。これは非好塩型菌の好塩型菌への変化途中の状態を示すものと思われる。また、寒天培地の代わりに6%食塩加ペプトン水を使用し、その5mlに等量のF3株の菌液を加えて培養したところ、腸炎ビブリオ生物型1に相当する菌が得られた1例があるが、その後数回追試した結果はすべて不成功に終わった。

本法による実験ではまた、F3株から別個に腸炎ビブリオの生物型1と2との出現がみられている。現在生物型2は腸炎ビブリオから除外され別種として分類されている⁴⁾が、これによって両生物型間にはなんらかの遺伝的關係が暗示される。著者（未発表）がこれまで魚または海泥から分離した腸炎ビブリオ菌株中にも、生物型2から生物型1へ変換を起こす菌や、白糖分解性が娘集落変異によって交互に変わる生物型1の菌が見つかった。

以上の諸種変異は偶発的な観察が多く、その発現する条件は未確認であることから、自然界で起こる変異と結び付けて論じうるものか否か、現状ではなんとも説明できないが、今後の腸炎ビブリオの生態追求はこれらの変異現象との関連においてなされる必要がある。

なお、Table 5に示した結果からさらに問題となる点は、野生型とみなされる非好塩菌のなかに腸炎ビブリオ

と相違する特徴的性状としてチトクローム陰性のものとヤブドウ糖からガスを産生するものがあることで、これらの性状はビブリオ分類上の根本問題に触れるものだけに今後慎重なる検討を要しよう。さきに著者³⁾は四季を通じて各種淡水から非好塩性の腸炎ビブリオ類似菌を多数に分離したが、一部の菌を用いた実験ではやはり好塩性の出現も観察されており、川水から検出される腸炎ビブリオとの関係が注目された。現在保存中のものを調べてみると、これらの菌株中には分離当初と異なりブドウ糖からガス産生を示す菌株が現われていることは上記の野生型菌の場合と照し合わせて興味深い。

他方、本調査においては腸炎ビブリオの越冬問題に対して興味ある結果が得られている。すなわち、佐世保市内での最初の調査は12月初旬に行なったのであるが、海水からでさえも検出困難となる時期に生物型2ではあったが川水から腸炎ビブリオを分離しえている。この事実は本菌の真の源郷を海水環境とみなす考え方からは説明しがたい。過去数年間に行なった調査では、冬季の川水からは他の種類の好塩菌は数多く分離できているが腸炎ビブリオは全く見つかっていない。今度の成功の原因の一つは大量の川水試料を増菌培養に供したことにあると思われるが、さらに2次分離操作を適用することによって検出率が高められたといえよう。しかし、2月下旬の2回目の調査では分離できなかった。この理由はよくわからないが、川水中における生菌数の減少以外に、もしも腸炎ビブリオがさきに推測したように非好塩菌から変換したのであれば、その変異に関与する因子が厳寒期には影響を及ぼすほどには存在しないのではなかろうか。このことはまた、諫早市内の川水から腸炎ビブリオが検出できなかったことも関連するものと考えられ、比較的汚染度の低い川水という意味で共通性がある。ただし、腸炎ビブリオに近似の性状を有する好塩菌を分離できているのはなんの作因によるものであろうか、この点の検討も望まれる。

腸炎ビブリオの越冬については、今のところ海水環境のどこかで生残するとの見方が強く、実際に冬季でも魚介類⁵⁾、海泥⁶⁾からの検出例が若干報告されている。したがって、当然このような生残菌が夏季に向って海水温の上昇とともに増殖してくるものと考えられるが、数的には間断なく海水に運び込まれるところの川水中に含まれる、前記腸炎ビブリオへ変換しうる非好塩菌の存在は無視することはできないであろう。冬季の川水から分離された非好塩性のFT3株が腸炎ビブリオ生物型2に変換できたことは、腸炎ビブリオの越冬状態を考究する上にきわめて示唆的に思われる。

要 約

昭和41年8月中旬から9月中旬にかけて長崎および諫早市内で、同年12月上旬と翌年2月下旬佐世保市内で川水を採取し、2次分離操作（Fig. 1）により腸炎ビブリ

オの検索を試みた。その結果、生物型1が2株、生物型2が3株、ならびに生物型1類似の好塩菌が3株（1株は腸炎ビブリオに含めた）分離された。

以上の腸炎ビブリオの母体となった1次分離の原菌株は食塩無添加ペプトン水でも生育可能な食塩嗜好性菌であるが、食塩無添加ペプトン水中の菌は完全な非好塩性を示し、その他の性状においても、腸炎ビブリオとはかなりの相違がみられた。したがって、これらの原菌株は好塩型と非好塩型菌細胞の混在集団と思われるが、溶血性およびK抗原型別試験の結果から検討し、両者の菌はもともと同一母細胞から生じたものと推考した。上記非好塩菌の一部のものと類似の性状を呈する菌は川水から1次分離操作によっても直接に分離しえた。

数種の分離非好塩菌について若干の検討を行なったところ好塩性の出現とそれに伴う腸炎ビブリオへの変換現象が認められた。海水域に分布する腸炎ビブリオは主として川水とともに混入した、このような非好塩菌の変異によって生じたものと推察される。

また、12月の川水からは生物型2の腸炎ビブリオが検

出されたが、時期的にみて海水由来とは考えがたいことから生態上注目される。

終わりに、本文のご校閲を賜った九州大学農学部 富安行雄名誉教授および同学部 豊水正道教授に厚くお礼申し上げる。また、本研究を通じ種々ご教示をいただいた当研究所 高橋克巳所長ならびに川水採取等にご尽力下さった当研究所 山口道雄技師に深謝する。

文 献

- 1) 安永統男：食衛誌，8，325 (1967).
- 2) 加藤貞治，小原 寧，他：食品衛生研究 15 (8)，83 (1965).
- 3) 安永統男：長崎衛研所報，7，38 (1966).
- 4) 坂崎利一：藤野恒三郎，福見秀雄編，“腸炎ビブリオ第Ⅱ集” p. 83 (1967) 納谷書店，東京.
- 5) 浅川 豊，赤羽莊資，他：静岡衛研年報，14，5 (1966).
- 6) 我妻正三郎，牛沢 勇，他：（第23回日本公衆衛生学会総会特集号）日公衛誌，14，714 (1967).