

男鹿地区から検出したジフテリア菌について

男 鹿 保 健 所 吉 田 秀 一
秋田県衛生研究所 茂 木 武 雄

I まえがき

昭和36年11月、12月に男鹿市内にジフテリアの集団発生があり、その際検索を担当した余等が、どんな状況のもとにどのような検索を行ったか、又保菌者検索により分離したジフテリア菌について、聊か追求を試みたので報告する。

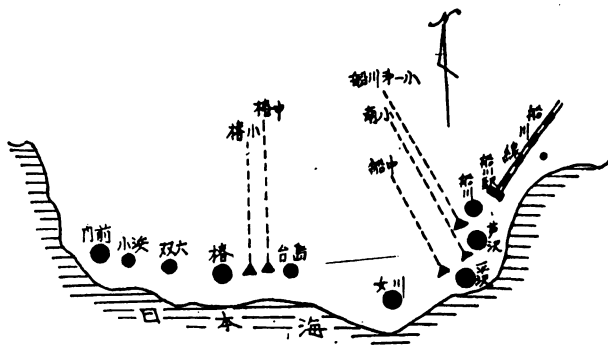
なお、比較的初期に分離したジフテリア菌株については、数種の培養基を用いて発育試験を実施したので、その

結果も併せて報告する。

II 発生状況

椿地区を中心として（第1図参照）10月12日から11月3日の間に、小学生8名（台島2名、椿3名、門前1名、芦沢1名）が発病し、以後は時を経ずして続発し、12月末日で終熄した。

第 1 図 ジ フ テ リ ア 発 生 地 区 略 図



患者数は、第1表のとおりで、即ち初発患者のあった椿小学校生徒が最も多く43名で61.4%を占めている。

第 1 表 ジ フ テ リ ア の 学 校 別 地 区 別 患 者 数

学 校 別	患者数	地 区 別	患者数
椿 小 学 校	43	門 前	9
椿 中 学 校	4	小 湊	2
南 小 学 校	6	双 六	6
船川第一小学校	8	椿	24
船 川 中 学 校	1	台 島	9
椿5才未満	3	女 川	1
船川5才未満	2	南 平	3
船川5才以上	3	芦 沢	8
		船 川	8
計	70	計	70

III 検査の概要と検査結果

保菌者検索は患者発生と時を同じくして昭和36年11月12月の両月にわたり男鹿保健所、衛生研究所に於て実施した。

第 2 表 ジ フ テ リ ア 菌 検 査 の 概 要

検 査 場 所—男鹿保健所
 衛生研究所
検査年月日—昭和36年11月、12月
対 象—(イ)男鹿市内の小中学生徒（椿小、椿中、南小、船川第一小、船中）
 (ロ)流行地区の学令前幼児（椿地区等）
 (ハ)小学校職員（椿）・病院依頼
検診人員（流行地区の健康診断）—1778名
検査人員（患者及疑似患者）———460名
陽性人員———27名

検査対象者及び検査結果の内訳は第2表、第3表、第4表に示すとおりで、即ち、460名を検査して27名からジフテリア菌を検出した。検査人員の8割以上を占める男鹿市内小、中学校生徒396名中には26名の菌保有者があり、流行地区学令前の幼児55名を検査して、1名の保有者を見出した。患者の出ている小学校職員15名の検査結果は、凡て陰性であった。

検査方法（詳細後記）は、直接塗抹法と培養法を併用し、直接塗抹法で9件、培養法では19件の陽性であった。

第3表 対象別検査成績

対 象 別 検 査 成 績	検査人員	陽性人員
男鹿市内の小、中学校生徒	396名	26名
流行地区の学令前幼児	55	1
小学校職員、病院依頼	9	なし
計	460名	27名

第4表 検査方法別検査成績

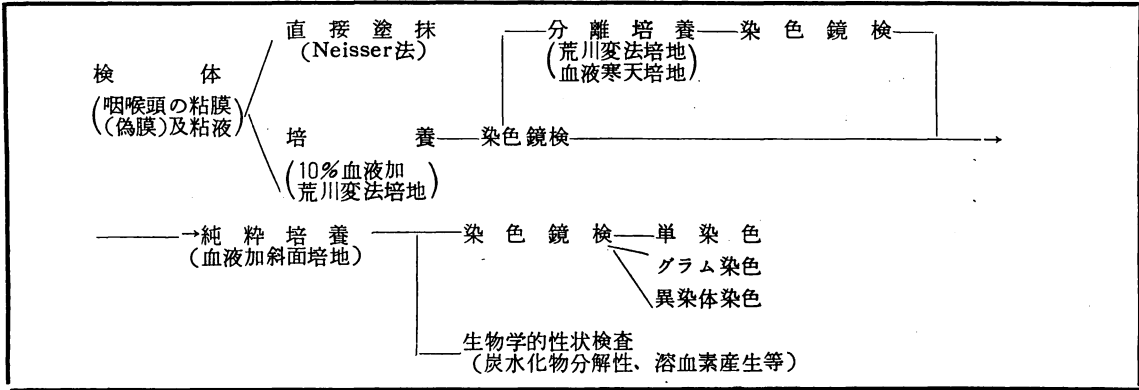
検 査 方 法 別 検 査 成 績	直 接 塗 抹		培 養	
	粘 膜 (偽膜)	粘 液	粘 膜 (偽膜)	粘 膜
陽性件数28(27名)	1	8	14	5
直接塗抹(+)・培養(+)の もの(1名)	1		1	

IV 検査方法

1 検査の材料及びその採取方法

検査材料は咽喉頭、鼻腔等の粘液及び偽膜で、医師が現地で採取（粘液—金属製の滅菌綿棒で局所をよくこすって採る。偽膜—長いピンセットでつまみ採る）したものを検査材料とした。

第5表 検査方法



2. 直接塗抹法

清洗した載物ガラスを現地に持参し、医師が採取した疑似患者の検査材料をいちいち一枚あて載物ガラスに塗抹した。但し特に注意を要するような疑似患者の場合（医師が患者の疑い濃厚と認めた者）は、一つの検査材料を2〜3枚の載物ガラスに塗抹した。検査材料を塗抹した載物ガラスは実験室に持ち帰り、異染体染色（Neisser法）を行って鏡検判定した。

3. 培養法

10%羊血液加荒川変法培地（市販の荒川変法培地に綿羊の脱纖維素血液を10%の割合に加えたもの）を現地に持参し、医師が採取した疑似患者の検査材料をいちいち1枚あて平板培地の一端に塗抹して実験室に持ち帰り、2次的に検査材料の塗抹部分に滅菌0.85%NaCl水をつけ

て型の如く平板培地全面に白金耳で塗抹培養を行った。特に注意を要するような疑似患者の場合は、直接塗抹法の場合と同様に一つの検査材料を10%羊血液加荒川変法培地2〜3枚を用いて塗抹培養を行った。

現地での検査材料塗抹は、雑菌の発育を防止する意味で、初めに培地に検査材料の半面を塗抹し、後から他の半面を載物ガラスに塗抹した。

尚検査材料を塗抹培養するに当っては、荒川変法培地はある程度雑菌の発育を抑制するので、少し濃い目に白金耳で塗抹培養を行った。

検体を塗抹した10%羊血液加荒川変法培地は37°Cのフランクに2日間入れて、菌が充分に発育して来るのを待って染色鏡検を行い、定型的な形態を示す菌を認めた場合は、10%羊血液加斜面培地(Heart infusion寒天培地に綿羊脱纖維素血液を10%の割合に加えたもの)に純粋

培養を行った。一方集落の状態、染色鏡検の所見で疑わしい場合は、再度荒川変法平板培地と10%羊血液加平板寒天培地（Heart infusion 培地に綿羊脱纖維素血液を10%の割合に加えたもの）を用いて分離培養を試み、染色鏡検して定型的な形態を示す菌を認めてから10%羊血液加斜面培地に純粋培養を行った。純粋培養した菌については型どおり菌の染色性及び生物学的性状検査を実施した。

V 生物学的性状査検

比較的初期に分離したジフテリア菌12菌株についての

第 6 表 生物学的性状検査成績

菌株番号	区分	被 検 査 者 氏 名	年 令	形 態	集落の性状	Glucose	Saccharose	Dextrin	Starch	Maltose	Glycogen	Galactose	溶血素產生	菌膜形成
1		○ 藤 ○ 博	7歳	+	gravis型	+	-	+	+	+	+	+	+	+
2		○ 木 ○ 子	9	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
3		○ 田 ○ 博	5	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
4		○ 山 ○ 子	7	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
5		○ 木 ○ 智子	7	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
6		○ 藤 ○ 春	9	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
7		○ 原 ○ 子	12	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
8		○ 坂 ○ 信	9	+	"	+	-	+ ³	+ ²	+	+	+	+	+
9		○ 木 ○ 義	11	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
10		○ 山 ○ 一	11	+	"	+	-	+	+ ²	+	+	+	+	+
11		○ 原 ○ 郎	12	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+
12		○ 山 ○ 悦	10	+	"	+	-	+	+	+	+	+	+	+

註 1. 「+」符号の右上数字は日数を示す。

2. 被検査者は椿地区幼児及び椿小学校生徒

炭水化物分解性=Hiss の血清水培地を用いて、Glucose, Saccharose, Dextrin, Starch, Maltose, Glycogen, Galactoseの7種について実験し、被検菌を移植して37°C5日間観察した結果、12菌株ともSaccharoseは非分解であるが、他の6種は大部分は37°C 24時間で分解し、遅れても2日乃至3日目には分解している。

溶血素產生=Popeの半合成培地（第7表）1.0ccに被検菌を37°C24時間培養して5%家兔血球浮游液0.5cc、滅菌0.85%NaCl水0.5ccを加え、よく振盪混和する。これを37°Cの恒温槽に一時間おいて観察し、更に1夜冷室（2~4°C）において観察した結果、供試12菌株は凡て培地全体が暗紫赤色となり溶血性を有することを認めた。

生物学的性状検査の成績は、第6表のとおりである。

形態—Löffler法、Hucker法、Neisser法により染色標本を作って鏡検し、グラム染色陽性のジフテリア菌形態であることを認めた。

集落の性状—荒川変法培地の平板を用いて37°C 48時間培養した集落は、12菌株とも周辺部は灰白色扁平、多少の鋸歯状を示し、中央部は灰黒色小隆起があり、又集落の大きさは約2~3mmで成書にある gravis 型の性状に類似している。

第 7 表 pope の半合成培地の変法

○基礎塩類溶液	
硫酸マグネシウム	0.2g
塩化カルシウム	0.1g
リン酸一水素ナトリウム	1.0g
リン酸二水素カリウム	1.0g
シスチン液	1.0cc
（シスチン20g、濃塩酸20cc、水100cc）	
水 酢 酸	3.0cc
蒸 溜 水	1.000cc
上記の基礎塩類溶液	
ペプトン（ポリペプトン使用）2% } PH8.0	100°C30分加熱して濾過、分注、滅菌
グルコース 0.2% }	

菌膜形成=Popeの半合成培地を用い、37°C 24時間培養して観察するに、供試12菌株は液面膜状發育の傾向

があることも認めた。

Ⅵ 判 定

以上述べた如く生物学的性状はジフテリア菌の性状に一致する。即ち、ジフテリア菌様の形態であること。集落のgravis型発育を示すこと。炭水化物分解性、特にSaccharoseは非分解でGlucose, Dextrin, Starch, Glycogenを分解すること。溶血素産生、菌膜形成すること、等の所見から供試12菌株はジフテリア菌のGlycogen型と考えられる。

第 8 表 各種培養基の発育試験成績

菌 株 番 号 培 地 区 分	No. 1 ~ No. 12
普通寒天培地	37°C24時間、48時間培養で非常に小さい集落 Heart infusion寒天培地は稍発育が良い程度 集結の性状は不明
Heart infusion 寒 天 培 地	
Heart infuison 寒 天 培地 (10%羊血液加)	37°C24時間培養で2mm位の集落 灰白色、半透明、湿潤性、周辺は軽度の鋸歯状
荒 川 変 法 培 地	37°C48時間培養で2~3mm位の集落 周辺部—灰白色、扁平で多少の鋸歯状 中央部—灰黒色、小隆起 血液を加えた場合は稍発育が良い程度 37°C24時間培養では集落が極小で性状判然とせず。
荒 川 変 法 培 地 (10%羊血液加)	

10%羊血液加Heart infusion寒天培地は発育が良く37°C24時間培養で2mm位の集落となり、その性状は灰白色、半透明、湿潤性で周辺は鋸歯状を示しいる。

荒川変法培地と10%羊血液加荒川変法培地では、両者とも37°C48時間培養で2~3mm位の集落になり、周辺部は灰白色、扁平で多少の鋸歯状を有し、又中央部は灰黒色小隆起がある。培地に血液を加えた場合は、加えない場合より稍発育が良い。

Ⅷ ま と め

男鹿地区のジフテリア集団発生に際して、罹患したと思われる流行地区の小、中学校生徒、学令前幼児等460名を直接塗抹法と培養法を併用して保菌者検索を実施し27名からジフテリア菌を検出した。

直接塗抹法は、異染体染色法である Neisser法で染色して鏡検し、培養法は、市販の荒川変法培地に綿羊脱纖維素血液を10%の割合に加え37°C48時間培養して分解培養を行った。

比較的初期に分離したジフテリア菌12菌株については、生物学的性状検査を行い、ジフテリア菌様の形態であること。集落のgravis型発育を示すこと。炭水化物分

Ⅶ 各種培養基の発育試験

比較的初期に分離したジフテリア菌12菌株については、更に普通寒天培地 Heart infusion 寒天培地、10%羊血液加Heart infusion寒天培地、荒川変法培地、10%羊血液加荒川変法培地の5つの培地を用いて発育比較試験を行い、その結果は第8表のとおりである。即ち普通寒天培地とHeart infusion寒天培地の集落は37°C24時間、48時間培養では、非常に発育が悪く集落の性状は不明である。

解性、特にSaccharoseは非分解でGlucose, Dextrin, Starch, Glycogenを分解すること。溶血素産生、菌膜形成すること等の所見から供試12菌株は、ジフテリア菌のgravis型と考えられた。

更に、前記12菌株については、数種の培養基を用いて菌の発育比較試験を行った。

普通寒天培地とHeart infusion寒天培地では、ジフテリア菌の発育が非常に悪く、分離培地として適しないことを認めたが、10%羊血液加Heart infusion寒天培地では37°C24時間培養で2mm位の集落になり、集落の性状は明らかで、ジフテリア菌分離の可能なることを認めた。

又荒川変法培地と10%羊血液加荒川変法培地では、37°C24時間培養の集落は小さく、性状は明らかでないが、37°C48時間培養することにより集落は2~3mm位の大きくなって、性状も明瞭となり両培地ともジフテリア菌分離には37°C48時間培養の必要なることを認めた。尚荒川変法培地と血液を加えた場合と加えない場合を比較するに、37°C48時間培養で集落の大きさに大差は認められなかった。

K む す び

1. 男鹿地区のジフテリア集団発生に際して、罹患したと思われる流行地区の小、中学校生徒、学令前幼児等460名の保菌者検索を実施し、27名からジフテリア菌を検出した。

2. 初期に分離したジフテリア菌12菌株について、生物学的性状検査を行い、12菌株は同一性状を有する *C. diphtheriae* の *gravis* 型を思われた。

3. 初期に分離したジフテリア菌12菌株については、更に数種の培養基を用いて発育試験を行い、次のことを認めた。

a) 普通寒天培地と Heart infusion 寒天培地は非常に発育が悪く、37°C 48時間培養でもジフテリア菌分離培地としては不適當と思われる。

b) 10% 羊血液加 Heart infusion 寒天培地は非常に発育良く、37°C 24時間培養ジフテリア菌分離可能な集落になる。

c) 荒川変法培地と10% 羊血液加 荒川変法培地は、37°C 48時間培養ではジフテリア菌の発育に大差はなく、血液を加えない荒川変法培地でもジフテリア菌分離培地として使用可能と思われる。

参考文献

- 1) 厚生省編纂：衛生検査指針 I 細菌血清学的検査指針 (I) 1950
- 2) 厚生省編纂：衛生検査指針 I 細菌血清学的検査指針 (VII) 1957
- 3) 男鹿保健所：棒地区ジフテリア集団発生報告 昭和37年
- 4) 中村 豊：細菌学免疫学講本 (2) 昭和22年
- 5) 中村 豊：細菌学血清学検査法 昭和17年
- 6) 戸田忠雄：戸田新細菌学 昭和28年
- 7) 伝染病研究所学友会編：臨床細菌学提要 昭和30年
- 8) Jordan- Burrous: The Textbook of Bacteriology 1949
- 9) 三沢、沖中、美甘、田坂、大島：臨床検査の実際 1956
- 10) 福見、牛場、三橋、山本：病原微生物学 (細菌編) 1959
- 11) 水原：モダンメデイア 4 巻 7 号 昭和33年
- 12) 佐々木：モダンメデイア 7 巻 4 号 昭和36年
- 13) 赤真：メデイヤサークル 7 号 昭和35年
- 14) 金子、須藤、高木：メデイヤサークル 17 号 昭和36年

同一健康者から分離したチフス菌と

緑膿菌と思われる桿菌の性状について

大曲保健所技師 高 橋 嘉 一 郎

衛生研究所技師 茂 木 武 雄

I ま え が き

和昭34年8月、大曲市食品業者の保菌者検索を実施して、健康者と思われるものからチフス菌を検出した。以来この健康者 (以下保菌者と記す) からは、尿、胆汁を検査する度に殆んど毎回のよう同一菌を検出した。

保菌者は昭和11年10月、臨床決定で腸チフスと診断され隔離病舎に収容された既往歴があるといわれ、その時からチフス菌保有者であったのではないと思われる。

余等は前記保菌者から分離したチフス菌について、性状と動物に対する病原性を実験したのでその結果を報告する。

尚保菌者は昭和36年4月から同年9月にわたって東京都某病院に入院、胆嚢摘出術を行い、退院後は再度尿、胆

汁の検査を実施したがチフス菌を検出することは出来なかった。然し乍ら肝汁の検査では2回にわたって緑膿菌と思われる桿菌を検出し、その性状及び動物に対する病原性を実験したので併せて報告する。

被検査者氏名 佐 ○ 末 ○ (男)
(保 菌 者)

明治35年12月22日生

住所 職業 大曲市 菓子製造業

II チフス菌について

I ウイダル互反検査

昭和34年9月、標準菌株を用いて保菌者血清との凝集反応検査を行い次 (第1表) の成績を得た。