

健康成人糞便中のウエルシュ菌の調査

細菌病理科

金

鉄三郎

まえがき

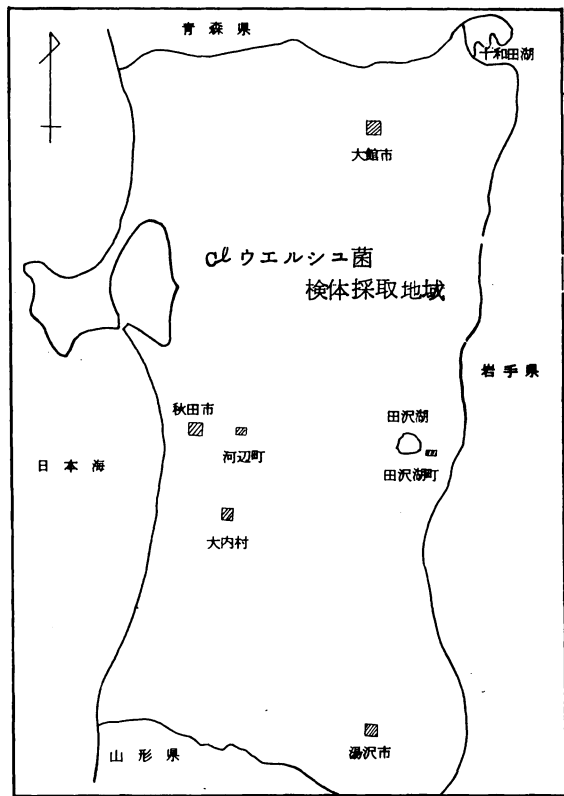
食中毒原因菌としてウエルシュ菌の研究に大きな関心が払われて十余年、以来各方面においてその業績報告が見られるが、山口衛研¹⁾山県による土壌内分布、健康者のHobbs型ウエルシュ菌保有率の研究、最近では国立予研赤真らによる健康人の糞便中に常在するウエルシュ菌²⁾とその耐熱性、更に北海道衛研相川、飯田による乳幼児学童における耐熱性ウエルシュ菌、特にHobbs, type³⁾の分布等について明らかにされたことは、注目されるものがある。

秋田県における食中毒事例からは、原因菌としてウエルシュ菌の報告はいまだ見られないが、ウエルシュ菌に由る食中毒究明の手懸りとして今回健康成人515名の糞便について細菌学的検査を行い、その保有率ならびに耐熱性ウエルシュ菌のHobbs, typeの分類について若干の知見を得たので報告する。

実験材料と方法

1. 検体：健康成人男女の糞便合計515件

- ① 第1回採取は42年5月、秋田市周辺および県南地区の2市2町（秋田市、河辺町、田沢湖町、湯沢市）より採取の130検体。
 - ② 第2回採取は48年1月、県北、由利、県南の1市1町1村（大館市、大内村、田沢湖町）より採取の385検体。
- （採取地域 図1.）
- ③ 検体は県衛生虫予防協会の提供を受けたもので寄生虫検査済みの新鮮検体であるが、年令の掌握は出来兼ねた。



2. 培地

- ① ウエルシュ菌数計算用には市販のカナマイシン加0. W寒天基礎培地（ニツサン）に卵黄を加えて使用した。
- ② 耐熱性ウエルシュ菌数計算用としては、カナマイシン不含の同上培地を使用した。
- ③ 耐熱菌の増菌培地としては自家製の馬肝々片ブイヨンを使用した。

第1表 検体採取表

採取年月	地 区	性 別		計
		男	女	
42 ・ 5	田沢湖町	10	15	25
	秋 田 市	10	11	21
	湯 沢 市	19	1	20
	河 辺 町	80	84	64
48 ・ 1	大 内 村	77	80	157
	大 館 市	45	64	109
	田沢湖町	55	64	119
	計	264	269	515

3. 嫌気性培養法：従来から当所で使用する真空ポンプ吸引によるノービ氏のシャー方法で行なつた。

4. 菌数計算法：総菌数および耐熱性菌数は、第1回採取糞便50検体について行なつた。糞便1gに生理的食塩水10mlを加え混和、その全量を脱脂綿漏過を行い、一部を総菌数計算に用い、残りは100℃1時間加熱の耐熱性菌数検査に供した。

①総菌計算法：適宜希釈倍数した検体0.1ml宛0. Wカナマイシン加卵黄培地平板に、コンラージ棒にて全面に塗抹・嫌気性培養を行なつた。判定は約20時間培養後のコロニー数と希釈倍数によつて、その平均値を求め計算を行なつた。

②耐熱性菌数計算法：100℃1時間加熱の検体を適宜希釈倍数した検体0.1ml宛0. W卵黄寒天培地平板に、コンラージ棒にて全面に塗抹、嫌気性培養を行なつた。判定および計算は総菌数と同様である。

5. 耐熱性菌の分離法：肝マブイオンに糞便1gを投入、懸濁液とした後100℃1時間加熱後37℃フランキ内にて24時間以上72時間培養観察を行ない、ガス発生によつて明らかに増殖したと認められるものについて、0. W卵黄寒天平板に分離、嫌気性培養を行なつた。

6. 分離菌株の形態および生化学的性状検査

①形態・グラム染色法による。

②好気培養試験・普通寒天およびツアイスラー

の血液寒天、37℃、20時間好氣的に培養し、發育しないことを確認した。

③炭水化物分解試験

Bacto-Thioglycolate Medium Without Dextrose (Difco)に乳糖、ブドウ糖、白糖の各1%を加えて作成した糖分解試験用培地に接種、37℃、8日間培養後、0.2% B. T. B溶液2〜8滴加し、黄変したものを陽性とした。

④インドール試験

Proteose Peptone (Difco) 2%
リン酸2ナトリウム 0.2%
チオグリコール酸ナトリウム 0.1%
寒 天 0.1%
精 製 水 PH 7.2

各成分を加温溶解後小試験管に3ml宛分注し、121℃、15分間滅菌後被検菌を接種、37℃3日間培養後コバツク氏試薬にて検査、インドール產生せず。(陰性)

⑤牛乳凝固試験

市販の牛乳をPH 6.8に修正、小試験管に3ml宛分注約1cmの鉄クギ1本を投入、121℃15分間滅菌後被検菌を接種、37℃、24時間以上3日間観察した。ウエルシュ菌は強く牛乳を凝固するとともに著しいガス発生するものを陽性とした。

⑥レンチナーゼ抑制試験

0. W卵黄寒天をシャーレに分注、培地が未だ固まらないうちにA型抗毒素ろ紙をシャーレの中央位置の培地中にうめてから凝固させ、培地乾燥後、ろ紙と直角に交る方向に被検菌を直線塗布して、嫌気性培養下で37℃、20時間培養した。培地中の乳糖を分解し乳光反応が阻止されるものをウエルシュ菌とする。

⑦運動性試験

Bacto-Thioglycolate Medium Without Dextrose (Difco)に寒天0.15%を加え、PH 7.2。これを3ml宛分注、121℃、15分滅菌後、被検菌穿刺、37℃〜48時間培養した。ウエルシュ菌は運動を認めない。(陰性)

⑧耐熱性ウエルシュ菌の血清学的型別法
市販の耐熱性ウエルシュ菌(A型)血清を用い、
て、Zeissler寒天に純培養の被検菌液を作

製、のせガラスにて凝集反応を実施してその型
別を分類した。

第2表 総菌数および耐熱性菌数 (50検体)

No	地 区	氏 名	性別	総 菌 数	耐 熱 性 菌 数	耐熱性菌 増菌培養
1	田 沢 湖	○ 崎 リ ヨ	女	9×10^4	(-)	(-)
2	"	○ 崎 亀 治	男	5×10^6	2×10^2	(+)
3	"	○ 原 通 善	"	1.2×10^3	(-)	(-)
4	"	○ 倉 フジノ	女	6×10^6	(-)	(-)
5	"	○ 鯨 チ イ	"	4×10^5	(-)	(-)
6	"	○ 石 重 雄	男	1×10^4	(-)	(-)
7	"	○ ロ チ ャ	女	4×10^7	(-)	(-)
8	"	○ 村 喜 市	男	1.8×10^7	2×10^2	(+)
9	"	○ 村 吉太郎	"	4×10^4	(-)	(-)
10	"	○ 原 連 子	女	8×10^4	1.2×10^3	(+)
11	秋 田	○ 原 チエノ	"	1.2×10^5	(-)	(-)
12	"	○ 藤 キミエ	"	1.4×10^5	(-)	(-)
13	"	○ 藤 幸 子	"	2.8×10^5	(-)	(-)
14	"	○ 木 リ ヨ	"	1.8×10^8	(-)	(-)
15	"	○ 木 ノ ブ	"	1.5×10^6	(-)	(-)
16	"	○ 原 チヤ子	"	1×10^5	(-)	(-)
17	田 沢 湖	○ 田 一 衛	男	5.2×10^4	(-)	(+)
18	"	○ 本 洋 子	女	4×10^3	(-)	(-)
19	"	○ ロ ミヨ子	"	1.2×10^4	(-)	(-)
20	"	○ 内 長治郎	男	8×10^5	(-)	(-)
21	"	○ ロ ツルエ	女	1×10^7	(-)	(-)
22	"	○ 田 稔	男	4×10^2	(-)	(-)
23	"	○ 田 恭 子	女	(-)	(-)	(-)
24	"	○ 藤 明 子	"	(-)	(-)	(-)
25	"	○ 本 善 治	男	6×10^4	(-)	(-)

26	田 沢 湖	○ 村 源 蔵	男	1.9×10^6	1×10^2	(+)
27	"	○ 藤 蓉 子	女	2.3×10^6	(-)	(-)
28	"	○ 村 ヨ シ	"	8×10^5	(-)	(-)
29	"	○ 藤 サ ヨ	"	2.2×10^4	(-)	(-)
30	"	○ 田 幸 子	"	2.2×10^5	(-)	(-)
31	"	○ 橋 恵 子	"	1.6×10^5	(-)	(-)
32	秋 田	○ 浦 ハ ナ	"	6×10^6	(-)	(-)
33	"	○ 賀谷 金五郎	男	1.5×10^4	(-)	(-)
34	"	○ 原 金之助	"	4×10^5	(-)	(-)
35	"	○ 藤 稚 子	女	6×10^4	(-)	(-)
36	"	○ 田 茂	男	1.4×10^7	8×10^2	(+)
37	"	○ 田 金太郎	"	1.8×10^4	(-)	(+)
38	"	○ 藤 二 郎	"	2.4×10^7	(-)	(-)
39	"	○ 坂 初 子	女	2×10^7	8.5×10^3	(+)
40	"	○ 々木 勇 吉	男	1.8×10^5	(-)	(-)
41	"	○ 木 清	"	6×10^6	2×10^3	(+)
42	"	○ 田 悦 子	女	1.1×10^4	(-)	(-)
43	"	○ 々木 トミエ	"	2×10^8	(-)	(-)
44	"	○ 木 忠 三	男	7×10^6	(-)	(-)
45	"	○ 摩屋 清 吉	"	7×10^3	(-)	(-)
46	"	○ 佐美 金次郎	"	1×10^7	(-)	(-)
47	湯 沢	○ 橋 英 夫	"	1.2×10^5	(-)	(-)
48	"	○ 利 徳 蔵	"	2×10^6	(-)	(-)
49	"	○ 橋 正 弘	"	5×10^2	(-)	(-)
50	"	○ 野 敏 夫	"	2×10^4	(-)	(-)

実 験 成 績

1. ウエルシュ菌数, および耐熱性ウエルシュ菌数

①糞便50検体(男26名女24名)のウエルシュ菌数は表(2)のとおり最高 2×10^8 , 最少 4×10^2 を示し, 全くコロニーの発生を見なかつたもの2検体で, その陽性率は96%を示した。

②同上検体を100℃1時間加熱に耐えたものは、9株でありウエルシュ菌数の最高は 3.5×10^3 であった。

2. 耐熱性ウエルシュ菌の分離数

同上50検体に引き続き465検体について耐熱性のウエルシュ菌の増菌分離培養の結果、

99株に検出することが出来た。

3. 耐熱性ウエルシュ菌のHobbs type

以上の検査において分離した108株の耐熱性菌株をHobbs. type 血清型により分類した結果、表(a)のとおり、型別分類されたものは32株(29.6%)となつた。

第3表 耐 熱 性 分 離 数 と Hobbs type

地 区	検 体 数	耐 熱 性 ウエルシュ 菌 分 離 数	分 離 率 (%)	分 離 株 の Hobbs 血 清 型 別									
				1	2	3	4	6	7	10	11	13	型 別 不 能
田 沢 湖	25	5	20								1	1	8
秋 田	21	4	19		1							1	2
湯 沢	20	2	10	1									1
河 辺	64	3	4.6	1								1	1
大 内	157	30	19	1			1	8			2	2	21
大 館	109	50	45.8	2		1	3	1	2	1			40
田沢湖	119	14	11			1	1	3				1	8
計	515	108	20.9	5	1	2	5	7	2	1	3	6	76

考 察

赤真らは人糞便中からのウエルシュ菌検出率のこれまでの報告例で大きな差があるのは、検索の不備によるものであると指摘し、その実験成績でウエルシュ菌は100%の陽性で100℃60分の耐熱性菌の保有率は50%という報告である。

今回私の行なつた菌数計算のための健康成人50名の糞便検査の結果では、ウエルシュ菌陽性者は48人、96%の検出であり、その最高菌数は1g当り2億を数え、100℃60分の耐熱性菌は9件、約19%でその菌数最高は1g当り 3.5×10^3 個を算えることが出来た。

又別に行なつた、耐熱性菌のみを対象とした465名の糞便についての検査では、99株の21%陽性率であつた。この成績は、赤真らの50%を著しく下回つたものであるが、地域的には耐熱性菌の分離が45.8%という大館地区もあり、最

低の4.6%の河辺町という地域差があつた。これはその生活環境に一因があるのではないかと考えられる。

その耐熱性株についてのHobbs. type による血清型別ができたのは32株、型別不能が76株で、Hobbs. 1, 4, 6, 13型が多いことが知られた。

今回の健康成人の糞便検査によつて、ウエルシュ菌の正常人における一端が把握出来たことにより、今後のウエルシュ菌食物中毒発生における場合の処置について多くの示唆を得ることが出来た。

む す び

1. 健康成人50名の糞便からウエルシュ菌検査を行なつた結果、その48名に検出し、96%の検出率であつた。その糞便の1gあたりの最高菌数は 10^8 を数えることが出来た。更にこの糞便の100℃1時間加熱に耐えたものは9件

で18.75%，その菌数の最高は1 g当り 10^3 を数えることが出来た。

2. 健康成人465名の糞便を耐熱性ウエルシュ菌の検出のみを目的として検査を行った成績は99件，21.3%の陽性率であつた。
3. 1, 2法によつて分離した耐熱性ウエルシュ菌の平均検出率は20.9%である。
4. 健康成人515名より分離した耐熱性菌株108株のHobbs type 血清型を凝集反応によつて分類を行なつたところ，型別出来たものの32株(29.6%)，型別不能なもの76株であり，Hobbs type の6, 13, 1, 4が高率に見られた。

終りに検体提供に格別の御配慮を頂いた秋田県寄生虫予防協会に深謝を申上げる。

文 献

1. 山県宏，田村勇：健康者のHobbs型ウエルシュ菌保有率について。山口県衛生研究所業績報告。第1号(1963. 3)
 2. 赤真清人，大谷昌，亀山昭一，伊藤明治，村田良介：健康人糞便中常在菌としてのウエルシュ菌に関する研究(第1報 総菌数と耐熱性菌数) 日本細菌学雑誌，21，10 (1966)
 3. 相川孝，飯田広夫：乳幼児及び学童における耐熱性ウエルシュ菌及びHobbs type の分布について。北海道立衛生研究所報 No 17 (1967)
- 辺野喜正夫：ウエルシュ菌食中毒とその検査法について。(食品衛生特殊技術講習会テキスト 厚生省編 1965)