

# ヒト及び河川からのウェルシュ菌の検出と 分離菌のエンテロトキシン産生性

小林 毅 鈴木 欣哉 小野 准子 川合 常明  
大森 茂 阿部 克己 菊地由生子

## 要 旨

札幌市におけるウェルシュ菌の分布を知るため、ヒトふん便及び河川水中のウェルシュ菌を調査した。その結果、ヒトふん便検体からの検出率は50.3%(398検体中200検体)、河川水ではほとんどの検体から検出され(検出率98.1%)、その最確数は7.3~14,000以上/100mlであった。分離した菌株のエンテロトキシン産生性を検討したところ、ヒトふん便由来株のエンテロトキシン産生率は3.0%であったが、河川水由来株ではその率は高く、7.5%であった。また、ヒトふん便及び河川水から分離したエンテロトキシン産生菌株20株中12株はHobbs型別不能であり、型別された菌株の血清型は4型と5型に偏った。

## 1. 緒 言

ウェルシュ菌はヒトや動物の腸管内、土壌及び下水など自然界に広く分布しており、また、その一部はヒトの食中毒の原因となるエンテロトキシンを産生することが知られている<sup>1)2)</sup>。一方、札幌市では1986年から1990年の5年間に38件の細菌性食中毒が発生した。その内、本菌が原因となったのは5件(13%)で、件数ではサルモネラと並び第3位であるが、患者数では560人(39%)と首位を占めた。そこで、本市におけるウェルシュ菌、特にエンテロトキシン産生性のウェルシュ菌の分布状況を把握するため、ヒトふん便及び河川水を対象に調査を行ったのでその結果を報告する。

## 2. 方 法

### 2-1 検査材料

検査材料としては、1989年度に当所に検査依頼のあったウェルシュ菌以外が原因と考えられた食中毒事例の患者ふん便161検体、同時に採取した調理人ふん便57検体及び健康人ふん便180検体を用いた。また、1989年8月から1990年3月にかけて市内3河川7定点及び1990年4月から1991年2月にかけては2河川5定点から隔月で採水した延べ53検体を河川水の検体とした。なお、河川水に関しては1990年3月までに採水した26検体に対してのみ分離菌のエンテロトキシン産生性を検討した。

### 2-2 ウェルシュ菌の分離方法

ヒトふん便からのウェルシュ菌の分離は直接分離培養と増菌培養の両方を用いて行った。分離培地にはカナマイシン加卵黄CW寒天培地(日水)を、増菌培地にはクックドミート培地(BBL)を用いた。河川水からの分離は最確数3本法で行った。河川水10mlをろ過した0.45µmメンブランフィルター及び河川水とその希釈液1mlを3本ずつ増菌培養後分離培養した。いずれの分離も非加熱で行い、同定は微生物検査必携<sup>3)</sup>に準じて行った。分離培地上でウェルシュ菌と推定されたコロニーを3個ずつ釣菌し、同定及びHobbs血清型別を行った。血清型が同一(不明も含めて)の場合はその中の1株について、異なる場合は各々1株ずつについて下記の方法によりエンテロトキシン産生性を検討した。

### 2-3 エンテロトキシンの検出方法

方法は微生物検査必携<sup>3)</sup>に従った。分離菌株をクックドミート培地で37℃18~24時間培養し、その1mlをチオグリコレート培地(OXOID)に接種して75℃20分加熱処理後、37℃18~24時間培養した。その0.5mlをDuncan & Strong培地に接種し、37℃18~48時間培養後、その遠心上清中のエンテロトキシンをPET-RPLA(デンカ生研)を用いて調べた。

## 3. 結果及び考察

表1にヒトふん便からのウェルシュ菌検出状況を示した。調理人および健康人からの検出率は60%前後

表1 ヒトふん便からのウェルシュ菌検出状況

由 来	検査検体数	ウェルシュ菌 陽性検体数	ウェルシュ菌 陽性率(%)
患者便*	161	52	32.3
食中毒関連 調理人便	57	30	52.6
健康人便	180	118	65.6
合 計	398	200	50.3

\*ウェルシュ菌以外が原因と考えられた食中毒由来

で、他の報告例<sup>1), 2), 4)</sup>と同様であった。これに比べて患者便からの検出率は低かったが、これは下痢のために腸管内のウェルシュ菌が減少したためと思われる。一方、河川水 53 検体中 52 検体からウェルシュ菌が検出され(検出率 98.1%)、その最確数は 7.3~14,000 以上/100ml であった。3 河川とも下流定点の最確数の方が常に高く、上流では 7.3~2,400/100ml ないしは検出されず(3.0 未満/100ml)、下流では 93~14,000 以上/100ml であったが、これは人為的汚染の影響とも考えられる。また、今回調査した限りでは、7 定点中 5 定点における最確数の変動は少なく、最高と最低で

表2 分離菌のエンテロトキシン産生性

由 来	供試菌株数	エンテロ トキシン 産生菌株数	エンテロ トキシン 産生率(%)
健康人便	127	3	2.4
食中毒関連 ふん便	76	3	3.9
ヒトふん便 合 計	203	6	3.0
河 川 水	187	14	7.5

表3 分離菌の Hobbs 血清型分布

由 来	Hobbs 血清型																	合計	型別不能株
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	13	15	16	17				
食中毒関連 ふん便	1(0)		3(0)	2(1)	2(1)				1(0)			2(0)					11(2)	65(1)	
健康人便	1(0)	1(0)	1(0)	3(0)	3(1)		1(0)	1(0)		1(0)	1(0)	5(0)		1(0)			19(1)	108(2)	
河 川 水	1(0)		1(0)	4(1)	10(4)	1(0)					2(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)		23(5)	164(9)	
合 計	3(0)	1(0)	5(0)	9(2)	15(6)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	3(0)	8(0)	1(0)	2(0)	1(0)		53(8)	337(12)	
エンテロトキシン 産生率(%)				22	40												15	3.6	

( )内はエンテロトキシン産性菌株数再掲

2~10 数倍程度の差であった。残りの 2 定点(同一河川の中流と下流)では約 50 倍及び 500 倍以上の変動が認められ、冬季の 2 月及び夏期の 8 月に高くなった。いずれにしてもこの結果は、我々が調査している河川のナグビブリオの、夏期に高く冬季に低くなる最確数<sup>5)</sup>とは大きく異なっていた。

表 2 に分離菌のエンテロトキシン産生性を示した。健康人便由来株のエンテロトキシン産生率は 2.4% であり、健康人ふん便中ではエンテロトキシン非産生菌がウェルシュ菌の大部分を占めるという従来の報告<sup>1), 2), 4)</sup>を裏付ける結果だった。食中毒関連ふん便由来株の産生率も健康人便由来株と大きな差はなく、これらを合計したヒトふん便由来株は、その 3.0% (203 株中 6 株) がエンテロトキシンを産生した。しかし、河川水由来株のエンテロトキシン産生率は 7.5% と高かった。この、河川水から分離したエンテロトキシン産生菌は 14 株中 4 株が同一検体から得られた他は 3 河川 5 定点から時期的な偏りなく検出された。このことから札幌市内河川にはエンテロトキシン産生性のウェルシュ菌が常在していると考えられる。

表 3 に分離菌の Hobbs 血清型を示した。分類された 15 の血清型の中でエンテロトキシンを産生したのは 4 型と 5 型に限られていた。一方、エンテロトキシン産生菌株 20 株中 12 株は Hobbs 型別不能であった。Hobbs 型別不能のウェルシュ菌による食中毒も少数ではあるが各地で発生していることから、エンテロトキシンを産生する Hobbs 型別不能のウェルシュ菌の型別方法を確立し、広く利用できるようにすることは疫学調査上、重要であると考えられる。

#### 4. 結 語

札幌市におけるウェルシュ菌の分布を調査し、分離

した菌株のエンテロトキシン産生性を検討したところ、次のような結果が得られた。

- (1) ヒトふん便からのウェルシュ菌の検出率は50.3% (398検体中200検体)であった。また、河川水からの検出率は98.1% (53検体中52検体)で、その最確数は7.3~14,000/100ml以上であった。
- (2) ヒトふん便由来株のエンテロトキシン産生率は3.0%だったが、河川水由来株ではその率は高く、7.5%であった。
- (3) ヒトふん便及び河川水から分離したエンテロトキ

シン産生菌株20株中12株はHobbs型別不能であり、型別された菌株の血清型は4型と5型に偏った。

## 5. 文 献

- 1) 安川章, 他・食衛試, 16, 313-317, 1975.
- 2) 砂川紘之, 他・食衛試, 28, 119-124, 1987.
- 3) 日本公衆衛生協会・微生物検査必携, 細菌・真菌検査 (第3版), D153-D165, 1987.
- 4) 刑部陽宅, 他・食衛試, 19, 236-241, 1978.
- 5) 小林毅, 他・札幌市衛研年報, 17, 46-49, 1990.

# Incidence of *Clostridium Perfringens* in Human Feces and River Water and Enterotoxin Production of the Isolates

Takeshi Kobayashi, Kin-ya Suzuki, Noriko Ono, Tsuneaki Kawai, Shigeru Ohmori, Katsumi Abe and Yuko Kikuchi

## ABSTRACT

*Clostridium Perfringens* in human feces and river water were examined in order to determine their regional distribution in Sapporo. The results were as follows: *Clostridium Perfringens* were detected in 200 samples out of 398 in human feces, 50.3%, and in almost all samples in river water, 98.1%. The most probable number was 7.3-14,000 or more per 100ml. As a result of examining the enterotoxin production of the isolates, the production rate was 3.0% in the isolates derived from human feces and 7.5% in the isolates derived from river water. Moreover, 12 enterotoxin production strains out of 20 in both human feces and river water could not be typed into the Hobbs' serotype, and the typable strains were concentrated in serotypes 4 and 5.