各種検査材料より分離せる大腸菌群の生物学的性状 及び其分類について

広 松 靖 一 郎

高知縣立安藝保健所細菌検査室

[受付: 11 月 28 日, 1950 年]

緒 言

各種細菌検査材料及び家畜、家禽の糞便及びその他各種衛生試験材料等より大腸菌群を多数分離し、その生物学的性状を各種培養基にて検査したるに性状中特に糖分解能は区々にして成書に見る如き結論を得るに至らなかった。

蒐集菌株をその性状により乳糖分解性大腸菌及び非分解性大腸菌の二群に分け更に Mac. Konkey 氏分類法及 Parr の Invic system により分類比較し公衆衛生に及ぼす大腸菌群の意義を明らかにし防疫対策樹立の一助としたい。

実験方法

1. 材料の蒐集, 2. 分離培養, 3. 鑑別培養,
4. 生物学的性状試験, 5. 結論, 6. 文献

1. 材料の蒐集 (I 表)

材料の蒐集範囲

A 各種検査材料——腸管系傳染病患者糞便, 尿(チフス 20, バラチフス 4, 赤痢 6) 計 30 件, 健康者糞便, 尿(糞便 250 件, 尿 25 件)計 275 件, 不良な清涼飲料水 18 件, 飲料用水(主として井水, 河水) 40 件, 銭湯の汚水 12 件, 野外便所の糞尿, 塵芥計 10 件, 病的患者尿(膀胱炎, 尿道炎, 妊婦の尿) 19 件

B 家畜, 家禽糞便

1. 家畜 牛, 馬, 乳牛, 山羊, 緬羊, 豚, 犬, 猫, 家兎 9 種 54 頭
2. 家禽 雞, アヒル, 鳩, 燕, 雀, 日白, 鶯, ヒワ, ルリ, 七面鳥, 鵜白 10 種 38 匹
3. その他, 家兎 2 種 10 匹計 102 件

2. 分離培養 (II 表)

A 使用培地——下記の培地を使用した。

遠藤氏培養基

Bromthymolblau Lactose Agar (B.T.B. Agar)

B 方 法

検査材料を可及的速かに生理的食塩水にて Emul-

第 I 表

材 料	件 数	E. Coli	A. Aero- genes	Inter- mediate	Outher	
糞便(尿)	チフス	20	43	18	15	10
	バラチフス	4	15	8	1	2
	赤 痢	6	8	3	0	4
健康者糞便	250	280	47	29	185	
健康者尿	25	11	0	13	18	
糞便	家 畜	54	118	28	45	27
	家 禽	38	52	0	18	13
	鼠	10	15	2	6	8
自 然 水	40	68	42	23	152	
飲 料 水	18	59	34	10	29	
汚 水	12	19	16	5	97	
病的患者尿	19	28	0	16	11	
塵芥其の他	10	12	25	28	198	
計	509	728	223	209	754	

tion とし、之を遠藤氏培地及び B. T. B. Agar とに塗抹し 37°C 24 時間培養後、各 Kolony より Gram 陰性更に Sporen, Kapsel を否定する桿菌を選び斜面寒天培養基に移植すると共に之が純粋培養を行つた。

3. 鑑別培養 (III 表)

分離培養後純粋培養を行つた菌株を更に下記の培地に移植培養した。

(1) Barsiekow 氏培地変法

Aq. dest 1000 cc, Pepton 10 gr. NaCl. 5 gr. B.T.B. (0.2% 溶液) 12 cc に各種糖類 10 gr を加えた。

HIROMATSU Seiichiro: Study of Biological character and classification of Coli-Aerogenes Group isolated from many examination materials. Laboratory of Bacteriology for Health Center Aki (Kochi)

第 II 表

Lactose fermenters 1373 strains	Aerogenic 1040 strains	E. coli 728 strains	—type I	415
			—type II	108
	Anaerogenic 333 strains	A. aerogenes 223 strains	—type III	205
			—type I	54
Lactose anfermenters 541 strains	Aerogenic 304 stains	Intermediate 209 strains	—type II	89
			—type III	80
	Anerogenic 237 strains	Outhera group. 184 strain	—type I	46
			—type II	29
			—type* III	32
			—type IV	83
			—type V	13
			—type VI	6
			(other group)	

第 III 表

Mac. Konkey に よる分類法	グル コー ゼ	ラク ト ー ゼ	サツ カ ロー ゼ	ツル チ ット	ア ド ニ ット	澱 粉	マン ニ ット	マル ト ー ゼ	トレ ハ ロー ゼ	中 性 紅	牛 乳	ゲ ラ チ ン	運 動	Parr の分類法
B. coli communior	+	+	+	+	—	±	+	+	+	+	+	—	±	E. coli I
B. coli communis	+	+	—	+	—	±	+	+	+	+	+	—	+	E. coli I
B. Grünthal	+	+	—	±	—	±	+	+	+	+	+	—	+	E. coli III
B. Coscoroba	+	+	+	—	—	±	+	+	+	+	+	—	±	E. Coli III ?
B. Oxytoens peri.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	A. aerogenes II
B. Cloacae	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	±	A. aerogenes I
B. Acidlactis	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	—	—	E. coli II
B. lactis aerogenes	+	+	+	±	±	±	+	+	+	+	±	—	±	A. aerogenes I
B. Paracoli A	+	—	+	+	—	—	+	+	+	—	+	—	—	Intermediate
B. Paracoli B	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	
B. Paracoli C	+	±	±	±	±	±	+	+	+	±	±	±	±	
?	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	+	—	+	A. aerogenes III

使用糖類は次のものを使用した。(和製品)

Glucose, Saccharose, Lactose, Maltose, Tre-
harose, Amylum, Solubite, Inulin, Adonit,
Mannit, Dulcit, Inosit,

(2) 普通寒天培養基

肉汁を主体として製し pH 6.9~7.4 までとし
た、肉エキスの時は Aq. dest. 1000 cc に NaCl
5 g Pepton 10 g 肉エキス 3.5 g とし上記 pH
域とした。

(3) ペプトン水 (pH 7.2~7.4)

1%のものを使用し主として Indol 反應用に用

ひた。

4. 生物学的性狀試験 (IV 表)

生物学的性狀試験の種類、及び使用培地、試薬につ
いて

A. Indol 産成能

前記ペプトン水を使用し各菌を 18~24 時間培養
後 Indol 反應を検した。北里, Salkowski 氏法及
び Ehrlich 氏法を併用した。

B. Methyl rot-test (M.R.)

Glucose 加磷酸塩 Pepton 水に菌株を移植 5 日後
之に Methyl rot 溶液を滴下し観察した。

C. Voges-Proskauer 氏反應 (V.P.)

M.R. 同様 Glucose 加磷酸塩 Pepton 水にて5日間培養後 Leifson 氏法により V. P. を檢した。前記 Glucose 加磷酸塩 Pepton 水は次の組成のものである。

Glucose 5 gr, 照内 Pepton 5 gr, 第2磷酸ソーダ 5 gr を Aq. dest 1000 cc にとかしたものである。

D. Gram 氏染色法

Hucker の変法である Krystalviolett と蓚酸アンモンによる方法を使つた。

E. 枸橼酸ソーダ培養試験

Koser 氏の変法による $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.5 gr, K_2HPO_4 1.0 gr, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 gr, 枸橼酸ソーダ 2.5 gr, Aq. dest 1000 cc のものを用ひた。

F. 中性紅還元性試験

規定の方法によるものを使用した。

第 IV 表

Name	Indol Re.	Methyl red	V.P.	Citrat	Strains
E. coli I	+	+	—	—	415
E. coli II	—	+	—	—	108
E. coli III	+	—	—	—	205
A. aerogenes I	—	—	+	+	54
A. aerogenes II	+	—	+	+	89
A. aerogenes III	—	—	—	+	80
Intermediate I	—	—	+	—	46
" II	—	+	—	+	29
" III	+	+	—	+	32
" IV	—	+	+	+	83
" V	—	+	+	—	13
Other group	±	+	—	±	6

第 V 表

群	菌名	ラクトーゼ	ラモクムスケ	ゲラチン	グラム染色	運動	インドール	V・P	サツカロローゼ	ツルチット	アドニット	イヌリン	イノシット
I	B. Acidi Lactici	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—
	B. levans	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+	—
	B. Grunthal	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
	B. Vesiculosus	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
	B. Coli Mutabile	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II	B. Coli. Communis	+	+	—	—	+	+	—	—	+	—	—	—
	B. Schutteri	+	+	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—
III	B. Oxytocus perniciosus	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	B. Friedlander	+	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	+
	B. Communion	+	+	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—
IV	B. lactis aerogenes	+	+	—	—	—	—	+	+	—	+	—	+
	B. Gasiformans nonliquefaciens	+	+	—	—	—	—	±	+	—	+	—	+
	B. Coscoroba	+	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—
	B. Cloacae	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—	—	±

G. 運動性の有無

Oldekop の変法にならひ中性紅, Glucose を省き 0.5% の寒天含有量のものを用ひた。

H. Gelatin 培地の溶解性

本培地は慣例のものを使用した。

I. 牛乳培地及び B.T.B. モルケ

牛乳培地は常法のものを用ひ B.T.B. モルケは従来の Lackmus モルケの代りに B.T.B. 0.2% 液を 1! に対し 12 cc 加えた。

J. 芽胞染色及び莢膜染色法

芽胞染色法は Möllersche Method を, 莢膜染色法は Hissche method を使用した。

その他必要に応じて各種の試験 (Katalase, 硫化水素等) を実施した。

尚各種培養及び性状試験実施の際、培養及び観察の間は支障なき限り 10 日から 20 日間とした。判定法は何れも常法により判定した。

5. 結 論

本実験を通じてみるに分離菌株 1914 株中大腸菌群に属するもの 1160 株、所属不明菌株 754 株を算し殊に大腸菌群中 *Escherichia coli* に属するもの 728 株 *Aerobacter aerogenes* に属するもの 233 株、Intermediate に属するもの 209 株を算する事が出来た。

これらの検出率は *E. coli* 38%, *A. aerogenes* 11% Intermediate 10% であつた、更に *E. coli* を性状により I, II, III, に分ち *A. aerogenes* を I, II, III, Intermediate を I, II, III, IV, V. に分つた。之の検出状況は表 (IV) を参照されたい。

表 (IV) (III) の如き結果を Mac. Konkey の分類表 (V) と比較すると、Mac. Konkey は Lactose を分解する Gram 陰性の桿菌を Sacchrose, Dulcitol に対する作用により分類したものであるが筆者も之に倣つて (III) 表に示す如き結果を得たが Adonit. Dextrin, 中性紅に対する作用が明確ならざるもの多く使用糖類の種類が多い程その差異が大になる。之を Parr の Invis System による分類法にあてはめると (III) (IV) 表の如くなる。我々が日常特に公衆衛生上汚染度の判定の対象とするものは大腸菌が大部分を示めているが此の大腸菌は種類多く近時腸内細菌の研究、特に *Salmonella* や *Shigella* の研究が盛んになるにつれて近似種たる *Coli-Aerogenes* Group の研究も発達して来たが大腸菌とは常に Lactose, Glucose を分解する狭義の普通大腸菌がとり上げられていたが、現在までの筆者の実験では所謂「乳糖非分解性大腸菌」特に *Paracoli* の一群が約 10% 近く検出され狭義の大腸菌検索では、当然之が検出は不能であらうし又該菌による汚染度も低くはないと推定される。特に飲料水の検査等に於ては現在の方法では *Paracoli* の検出不可であり、公衆衛生上面白からざる結果を招く事となるので大腸菌検索に当り *Paracoli* 検出の不可欠を提唱すると共に、従来までの大腸菌分類法は糖分解能の変異性

多きためその結果も区々にして判断に苦しむ事少なからずよつて比較の変異性少なき Parr の Invis system による分類法を広く採用されん事を要望する。

本文を草するに当り種々御指導と教示を與えられし前東大傳染病研究所長田宮猛雄教授、東大傳染病研究所故岡本啓助教授及び実験上の便宜と常に變りなく指導されし高知縣衛生部長聖成稔氏、前高知縣立安藝保健所長清水愛夫氏、現高知縣立安藝保健所長清岡庸彦氏及本実験遂行上多大の友情を寄せられた保健所員一同に深謝の意を表します。

(本実験の一部は昭和 24 年 6 月第 2 回四國医学会にて発表したものである)。

文 献

- 1) Mac. Konkey: J. Hyg. Vol. 5, p. 333 (1905), J. Hyg. Vol. 6, p. 23, p. 385 (1906), J. Hyg. Vol. 9, p. 86 (1909).
- 2) E. Friedberger, & R. Pfeffer: Lebrbuch Der Microbiologie (1919).
- 3) Clark & Lubus: J. inf. Dis. Vol. 17, p. 160 (1915), J. Bact. 4, p. 409 (1915).
- 4) Koser: J. Bact. Vol. 8, p. 493 (1923), J. Bact. Vol. 9, p. 59 (1924), J. Bact. Vol. 11 p. 409 (1926).
- 5) Voges & Proskauer: Z. Hyg. Bd. 28, S. 26 (1898).
- 6) Leifson: J. Bact. Vol. 23, p. 353 (1932).
- 7) Topley & Wilson: The Principle of Bacteriology & immunology 2ed. p. 521-536 (1936).
- 8) V. S. Treasury: Department, Standard Methods for the Examination of Waters and Sewage (1936).
- 9) Jordan & Burroughs: Textbook of Bacteriology (1947).
- 10) Simmons Gentzkow: Laboratory Methods of the United States Army (1946).
- 11) 岡本啓, 志村士士: 厚生科学. Vol. 2, No. 1, p. 13.
- 12) 岡本啓: 水道協会雑誌. 117, 昭 18 年 2 月.
- 13) 武部貞次郎: 日本微生物病理学雑誌. Vol. 37, No. 2.
- 14) 矢追秀武: 実験医学雑誌. Vol. 9, p. 838.
- 15) 北里研究所: 細菌学雑誌 (各号).
- 16) 日本傳染病学会: 日本傳染病学雑誌 (各号).