胃液の殺菌作用及び腸内病原菌の胃通過に関する実験的研究

第1報 胃液酸度と胃内細菌との関係

山 菅 正

東京医科歯科大学微生物学教室 (主任 清水文彦教授)

〔受付: 5月17日 1954年〕

緒 言

胃液酸度と胃内細菌との関係を論ずる研究は、古来より内外多数の人々に依りその業績が発表されている。Hirschfeld u. Liefmann¹⁾ は胃の分泌及び運動が正常なる時は空腹時胃内は原則として無菌であり、胃の分泌、運動に変化が起るとき諸種の細菌の繁殖を見ると言っている。Latzel は空腹時胃内は無菌か、又は僅かの双球菌、*Bakt. coli commune*, *Leptothrix* を認めると言い、Wichels²⁾ は正常機能を有する空腹時胃液は一般に無菌で、正常又は過酸を示す胃液は経口的又は腸より上昇し来る菌に対して殺菌力を有する事は容易に思考し得ると言っている。Henning³⁾ は健康者及び諸種の胃疾患を有する患者についてその空腹時胃内生菌を検査した。そしてその結果に依ると、健康者空腹時胃内には少数のグラム陽性の乳酸菌と不定型葡萄球菌、緑色連球菌、酵母菌、四連球菌、腸球菌の少数を認めるが半数は無菌であつたと、尙潰瘍患者空腹時胃内細菌所見は胃健康なるものと略々同様であり、慢性胃炎では細菌の種類及び数は胃の塩酸分泌機能に一定の関係があると報告した。立林⁴⁾ は胃の切除材料より細菌を培養し、遊離塩酸を保有する例では大腸菌は原則として陰性で非病原性と看做される細菌の少数を見るのみ、そして、その1/3に於ては無菌であつたと言っている。又 Wichels, Olivet⁵⁾ 等も正常機能を有する胃の空腹時内容物は一般に無菌であると言っている。佐々木⁶⁾ は健康人より胃レリーフ、胃機能共に正常なるもの11例に就き空腹時胃液内細菌を検査し、増菌法にて無菌7例、有菌4例なる成績を得た。そして菌検出頻度は酵母菌3例、葡萄球菌、連球菌、乳酸桿菌各1例である。而して空腹時遊離塩酸を欠如するものに葡萄球菌を見た。以上諸氏の業績に見る如く胃機能正常の場合には胃内生菌数と胃液酸度とは多くの場合一定の関係を有する如くである。余はこゝに於て胃に何等の訴えを持たぬ患者及び少数の健康者につき、胃液酸度と

胃内細菌との関係を菌数を中心として追試を試みた。

実験方法及び成績

A) 胃液の細菌学的検索

検査材料

検査材料は総て医療法人財団河北病院の看護婦、外来患者及び入院患者で、その内訳は健康者4名、赤痢恢復期退院直前の患者11名、軽症無熱肺結核患者45名で、何れも胃に何等の愁訴を持たず特殊な胃疾患のないと思われるもののみである。

胃液採取方法

胃内容を全く無菌的に採取する事は不可能で、多数の細菌の棲息する口腔、咽頭及び唾液等で汚染された食道を通過する際、胃十二指腸ゾンデは汚染される。併し Hirschfeld u. Liefman は口腔内並に胃内細菌の同時検索をなし、口腔内からは多数の細菌陽性であつたにも拘らず健康なる空腹時胃内容は無菌であると言い、又 Henning は始めオリーブにゴム弁の附いたゾンデを用いたが、是を用いない場合と何等差異なき結果を得たと言う。依つて余は被検者早朝空腹時に、口腔、咽頭、及び歯列を3%過酸化水素水 200 cc を用いて反覆含嗽せしめ口腔内を比較的清浄ならしめ、而る後煮沸消毒した十二指腸ゾンデを嚥下せしめた。かくしてオリーブが胃内に入つた時滅菌した 20 cc の注射器で胃液を吸収し、数本の滅菌試験管に採取して実験に供した。

培養方法

培養基は牛肝汁を加えた1%葡萄糖寒天培養基で、嫌気性培養法としてはピロガロール、苛性ソーダ法を用い

YAMASUGE Tadashi: Experimental studies on germicidal activity of gastric juice and passing an enteric pathogen through the stomach of the mouse. I. Probable bacteria which can be alive in gastric acidity. Depart. of Microbiology, Tokyo Med. and Dent. Univ. — Jap. J. of Bact., 9(10), 801-804, 1954

第 1 表

	氏 名	性別	疾 病	胃液量	pH	総酸度	遊離 塩酸	結合 塩酸	胃液 0.5 cc中の好 気性菌数	胃液 0.5 cc中の嫌 気性菌数	菌 の 種 類
1	松島	♂	肺結核	45	1.6<	64	42	7	0	0	
2	大護	♂	肺結核	40	1.6<	59	41	4	0	0	
3	谷口	♂	肺結核	15	1.6<	56	36	7	0	0	
4	谷部	♂	肺結核	60	1.6<	54	38	6	2	0	Bacillus
5	鳥谷	♂	肺結核	60	1.6<	53	34	5	0	0	
6	井上	♀	赤痢	40	1.6<	52	38	9	0	0	
7	森田	♂	肺結核	24	1.6<	52	30	4	0	0	
8	幸元	♂	肺結核	50	1.6<	50	28	6	0	0	
9	岡丸	♂	健康者	30	1.6<	50	28	6	203	0	酵母菌, グラム陽性桿菌
10	丸山	♂	健康者	30	1.6<	48	24	10	0	0	
11	山中	♀	肺結核	15	1.6	44	28	4	3	0	Bacillus
12	白中	♂	肺結核	15	1.6	48	17	11	0	0	
13	三宅	♂	赤痢	50	1.6	46	27	7	2	0	酵 母 菌
14	三子	♂	肺結核	30	1.6	48	17	10	2	0	酵 母 菌
15	金崎	♂	肺結核	25	1.6	44	22	10	9	0	Bacillus
16	小貫	♀	肺結核	15	1.8	41	24	5	0	0	
17	岡沢	♀	肺結核	50	1.8	43	20	11	0	0	
18	海老原	♀	肺結核	60	2.0	42	22	7	10	0	Bacillus
19	小川	♀	赤痢	17	2.0	42	22	4	0	0	
20	川辺	♀	肺結核	20	2.0	42	10	8	12	0	酵 母 菌
21	山森	♀	赤痢	13	2.0	44	16	8	0	0	
22	森田	♀	肺結核	25	2.0	40	18	4	8	0	グラム陽性桿菌
23	森重	♂	肺結核	30	2.2	36	12	8	230	0	Bacillus グラム陽性桿菌
24	金山	♀	肺結核	40	2.2	32	15	4	190	0	酵母菌, グラム陽性桿菌
25	金子	♀	肺結核	40	2.4	26	17.5	5	0	0	
26	森下	♀	肺結核	50	2.6	27	3	6	155	0	酵 母 菌
27	鈴木	♂	赤痢	60	2.6	29	9	3	0	0	
28	加藤	♂	肺結核	15	2.6	26	10	4	2220	35	グラム陽性桿菌, 多型性糸状菌
29	小藤	♂	肺結核	15	2.8	24	8	7	59	0	酵母菌, グラム陽性桿菌
30	榎本	♀	肺結核	20	3.0	23	8	6	27	0	葡萄球菌, グラム陽性桿菌
31	藤井	♀	赤痢	60	3.0	23	5	6	10	0	Bacillus 葡萄球菌
32	磯田	♀	肺結核	40	3.0	20	8	8	245	0	酵 母 菌
33	磯留	♀	肺結核	20	3.0	20	6	4	12	0	Bacillus
34	岡田	♂	赤痢	15	3.0	20	4	3	1140	269	酵母菌, グラム陽性桿菌, 多型性糸状菌
35	深谷	♂	肺結核	20	3.2	18	4	2	3750	90	
36	塚原	♀	肺結核	10	3.2	16	4	2	3500	210	
37	塚大	♀	肺結核	40	3.4	16	— 2	0	2750	1070	
38	大中	♂	肺結核	40	3.6	14	— 3	0	14400	10400	
39	中磯	♀	肺結核	50	4.2	14	— 6	0	2650	545	
40	蒲田	♂	肺結核	25	4.2	13	— 6	0	5370	2500	
41	千山	♂	赤痢	50	4.2	13	— 4	0	9250	10500	
42	岡岡	♂	肺結核	50	4.6	10	— 5	0	72200	145400	
43	川辺	♀	肺結核	15	4.6	7	— 3	0	400000	685000	
44	崎川	♂	肺結核	50	4.6	7	— 4	0	5752000	2028000	
45	星野	♂	赤痢	35	4.8	4	— 2	0	4082000	1277000	
46	大岡	♂	肺結核	5	6.0	4	—10	0	5173000	2234000	
47	中川	♂	肺結核	25	6.0	2	—10	0	4545000	810000	
48	塚上	♂	赤痢	20	6.4	4	—16	0	11232000	2724000	
49	手村	♂	健康者	50	6.8	5	—18	0	1936000	488000	
50	佐上	♀	健康者	40	6.8	2	— 9	0	12140000	3142000	
51	山家	♂	肺結核	25	6.8	2	— 4	0	1570000	865000	
52	田山	♂	肺結核	35	6.8	0	—14	0	1420000	945000	
53	丸山	♂	肺結核	50	7.0	0	—14	0	2265000	625000	
54	上田	♀	肺結核	28	7.2	— 2	—10	0	950000	720000	
55	平塚	♂	肺結核	7	7.2	— 4	—10	0	2368000	312000	
56	高山	♂	肺結核	25	7.4	— 5	—15	0	4980000	1770000	
57	寺川	♀	肺結核	30	7.6	— 4	—14	0	11200000	7100000	
58	高岡	♂	赤痢	40	7.6	— 6	—15	0	4035000	904000	
59	高鈴	♀	肺結核	40	7.8	— 8	—32	0	9075000	435000	
60	句坂	♂	肺結核	17	7.8	— 8	—29	0	5772000	135300	

た。さて採取した胃液は酸度の高いものでは好気性、嫌気性共、胃液 0.5 cc ずつをシャーレに取り 予め溶解して置いた上記の培養基を用いて混和培養を行つた。酸度の低いもの或は酸を欠如せる胃液では、その 0.5 cc をそのまま培養せずに滅菌生理的食塩水にて 900~1600 倍に希釈して用いた。これは菌数計算を便にする為である。尚同時に胃液の白金耳ずつを用いて、好気性、嫌気性の塗抹培養も行つた。培養成績は好気性菌では孵卵器内に置くこと 24 時間、嫌気性菌では 36~48 時間後に之を検した。菌数の非常に少ないものでは塗抹培養陰性の場合が少からずあつた。かゝる場合には菌数計算に用いた培養の深部コロニーを白金耳で掻き取つて用に供した。かくして得たる菌株は分離培養を行い、更に塗抹標本を作製してグラム染色によりその形態を検し、必要に応じてその他の性状を調べた。

検査成績

第 1 表に見る如く細菌数の多寡は胃液 pH の高低に関係した。そして pH は塩酸がその主要部をなす総酸度に関係があつた。pH が低く総酸度の高い程好気性菌嫌気性菌共に少く、pH が上昇するに従ひ細菌数は次第に増加した。即ち pH 1.6< (総酸度 50 以上) の 9 例では無菌 7 例、有菌 2 例、pH 1.6<~2.2 (総酸度 48~32) の 15 例では無菌 6 例、有菌 9 例、pH 2.4~3.0 (総酸度 29~20) の 10 例では無菌 2 例、有菌 8 例となつて居り、pH がそれより高いものでは全部有菌で無菌例はなかつた。而して pH 3.4~4.2 の 5 例に見る如く塩酸を欠如していても胃液が或る程度酸性なときは、細菌数は好気性、嫌気性両菌共比較的少く殊にその内の 4 例では 1 万以下であつた。以下 pH がそれより高くなるに従ひ細菌は急速に増加し、胃液 0.5 cc 中好気性菌は数百万か

ら一千万にも達し、嫌気性菌も数十万から数百万に及んだ。

次に菌の種類について見ると pH 1.6< の群では Bacillus 1 例、酵母菌 1 例、グラム陽性桿菌 1 例であつた。pH 1.6~2.2 の群では酵母菌 4 例、Bacillus 4 例、グラム陽性桿菌 3 例であつた。pH 2.4~3.0 の群では酵母菌 4 例、グラム陽性桿菌 4 例、Bacillus 2 例、葡萄球菌 2 例、而してこの群の 2 例に初めて嫌気性菌が出現し共に多型性糸状菌であつた。pH 3.2 以上では次第に菌の種類も増加し、一つ一つ菌種の確定を行なかつた。

B) 胃液の口腔内細菌に対する殺菌作用

被検者数名を選び早朝空腹時、被検者が未だ口腔内清掃を行う前に、滅菌生理的食塩水 20 cc を以て約 30 秒間充分に含嗽せしめその含嗽液を滅菌三角コルベンに採る。而る後 3% 過酸化水素水で型の如く口腔内を清浄ならしめ胃液を採取した。採取せる胃液はザイツ細菌濾過器を通して無菌となし、この無菌胃液 9.5 cc 中に前に採取して置いた口腔内菌を含む含嗽液 0.5 cc を加えて全量 10 cc とす。そして 37°C に温度を保持しつつ一定時間毎に好気性及び嫌気性培養を行つた。

1) 胃液に塩酸を有する場合

胃液に塩酸を有し pH も強酸性を示す場合は Bacillus、酵母菌以外の口腔菌は好気性、嫌気性の両菌共 3/~6/ 以内に死滅した。(第 2 表)

2) 塩酸を有せぬ弱酸性胃液の場合

胃液を 1/10 N NaOH にて滴定し遊離塩酸、結合塩酸を除去して pH 4.0~4.2 の弱酸性胃液となして実験した。その結果塩酸を欠如した胃液でもメデウムが尚酸性を呈する時は或る程度の殺菌力が認められた。(第 3 表)

3) 中和胃液の場合

第 2 表

氏 名	pH	総酸度	遊離塩酸	時間分	0	3	6	10	15	菌 種
大 岡	1.6<	59	41	好嫌	28400 9400	0 0	0 0	0 0	0 0	
名 護 耶	1.6<	56	36	好嫌	50400 12400	1 0	0 0	0 0	0 0	
三 宅	1.6	45	27	好嫌	672300 156820	37 2	16 1	13 0	14 0	酵 母 菌
金 子	1.6	44	28	好嫌	776000 13050	23 0	26 0	14 0	13 0	Bacillus
森 田	2.0	40	18	好嫌	424000 25200	14 4	1 0	3 0	4 0	Bacillus

第 3 表

氏名	pH	時間分	0	3	6	10	15
井出	4.0	好嫌	219000 105000	9200 2600	7280 560	920 11	750 0
有賀	4.2	好嫌	160600 78000	2000 580	1500 0	170 0	0 0
寺川	4.2	好嫌	510000 55000	3320 12600	1330 7500	510 2640	500 2160

第 4 表

氏名	pH	時間分	0	10	20	30	40
有賀	7.0	好嫌	151600 47000	116000 42500	157000 42500	174000 42000	160000 40100
鈴木	7.0	好嫌	209000 36000	224000 35000	196000 35400	228000 36600	240000 37600

胃液を 1/10 N NaOH にて滴定 pH 7.0 に中和して実験した。その結果中和胃液には全く殺菌力のない事を知った。(第 4 表)

C) 各菌種の生物学的性状

グラム陽性桿菌(乳酸桿菌)：肝汁加 1% 葡萄糖寒天には淡白色、半透明、微細な聚落を作る。グラム陽性で芽胞を有せず、大小稍と不同、カタラーゼ陰性多くは牛乳を凝固し、pH 7.0 の 1% 葡萄糖加 ブイヨンに培養すること 24~48 時間で培地の pH を 4.0~4.5 の酸性に変化させる。

酵母菌：上記寒天培地に良く発育し、白色不透明の円形大型の聚落を作り光沢がある。グラム陽性、部分的に陰性の茄子型特有の大なる発芽菌である。

Bacillus：培地上に広く、大葉状乃至板状に発育し辺縁稍と隆起し凹凸がある。表面は粗で葉脈状の皺襞をもつ。光沢なく黄灰白色不透明である。グラム陽性の桿菌で特有の芽胞を有する。主として枯草菌と思われる。

葡萄球菌(白色)：培地上に白色の小なる円形の聚落を作る。不透明で光沢があり、グラム陽性球菌で芽胞を有せず。

多型性糸状菌、灰白色微小半透明の聚落を作り、グラム陽性の桿菌で糸状或は樹枝状を呈する。

考察及び総括

以上の成績を考察すると、実験 A に依つて胃液の pH は塩酸を主成分とする総酸度に略と並行する事を知った。併し第 1 表の 37 例以下数例に見る如く塩酸を欠如しても尚 pH 4.0 前後の酸性を示したものがあつたが、これ等では有機酸が関与しているものと考えられる。次に胃内細菌に就ては胃液 pH が低い程細菌は数、種類共に少く、pH が高くなるに従い次第に増加した。而してこゝに興味あることは塩酸を欠如した pH 3.4~4.2 の胃液(37 例中 5 例)に於てその菌数が好気性菌、嫌気性菌共に比較的少く、殊に 4 例では菌数が 1 万以下であつた事である。これはこれ等胃液に尚殺菌作用のある事を推定せしめたが、実験 B に於て口腔内菌が塩酸を欠如した弱酸性胃液により比較的短時間に相当程度殺菌された事実と一致する。そしてこの事は胃液の殺菌作用は胃液の塩酸のみに依るものではなく、塩酸を欠如しても胃液が有機酸その他で或る程度以上酸性を呈する時には尚殺菌力のある事を実証したものである。次に中性及び弱アルカリ性胃液に於ては、第 1 表に見る如くその菌数は好気性嫌気性両菌共に莫大で、これは実験 B に見る如く中和胃液に何等殺菌作用のない事実と一致するものである。以上総括すると健康胃では胃内細菌の多寡は Bacillus 酵母菌、乳酸桿菌等の酸に強い菌を除いて、胃液の酸度と略と並行して居り、胃液が強酸性を呈する時は無菌例多く、酸度が低下するに従い菌数が増加した。そして胃液の殺菌作用は塩酸のみに依るものではなく有機酸その他も参与する如くである。

参考文献

- 1) Hirschfeld u. Liefmann: Berl. Kl. W. Nr. 30 S. 1407. 1907,
- 2) Wichels: Ztschr. f. Kl. Med. 100, S. 535, 1924.
- 4) Henning: Arch. f. Verdgs'kht. XLVII. S. 1, 1930.
- 4) 立林: 実験消化器病学会. 10 巻. 688 頁.
- 5) Olivet: Kl. W. 8, S. 307, 1926.
- 6) 佐々木: 十全会雑誌. 48 巻, 1639 頁, 昭和 18 年.