

ヒト糞便からの大腸菌群検出

金丸 佳郎

流石 登志巳*

大腸菌群検出の目的は、糞便汚染の指標としてであって、糞便中の病原微生物による伝染病等の発生を未然に防ぐことにある。ここでいう大腸菌群は、細菌分類上の *E. coli* とは意味を異にしている、この中には環境由来の菌種が多く含まれているため、真の糞便汚染の指標とはならないことが指摘されている¹⁾。したがって大腸菌群を型別し、*E. coli* に近い型 (*E. coli* I, II, III) を検出することが真の糞便汚染の指標となると期待される²⁾。*E. coli* 型が高温で増殖できることを利用し、44.5°C で培養する方法が *E. coli* 検出法として食品検査に用いられている³⁾。その他にもファージの宿主特異性に着目し大腸菌 T 系ファージを用いて *E. coli* を検出する方法も用いられている⁴⁾。当研究所では、これまでに種々の検体から分離された大腸菌群を IMViC 試験によって糞便性と非糞便性とに分類し、環境の汚染状況を調べて来た⁵⁾⁶⁾⁷⁾。今回は健康者糞便より、いわゆる大腸菌群を分離し、同時に糞便汚染の指標となるとされている腸球菌¹⁾の分離も行なったので報告する。

材料および方法

昭和50年8月、韭崎保健所管内食品業者の糞便検査として届けられた糞便109名分を検査材料とした。

糞便を1白金耳EMB寒天培地(栄研化学 K. K)に画線し、分離培養を行った。出現した集落の色調等を観察すると共に釣菌し、普通寒天培地で純培養をおこなった。この菌をグラム染色、乳糖ブイヨン培地での培養をおこない、大腸菌群に属することを確かめた⁸⁾。大腸菌群と認められたものをIMViC試験及びマッコンキー寒天培地による44.5°C高温培養によって分類した⁹⁾。

同一材料をEF寒天培地に画線し、分離培養をおこなった。出現した集落の色調によって腸球菌を決定した。

結 果

図1に示したように109名中大腸菌群陽性者は103人(94.5%)であり、腸球菌陽性者は106人(97.8%)であった。腸球菌を保有していなかった3人は、すべて *E. coli* I を保有していたので、大腸菌群、腸球菌ともに陰性の材料はなかった。

IMViC 試験による分類、及び44.5°C高温培養の結果

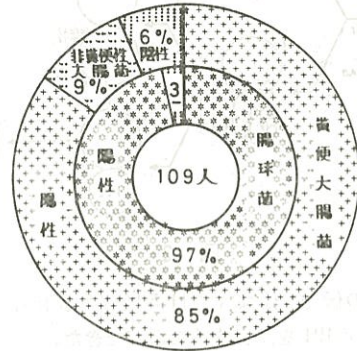


図 1

表 1

菌 型	37°C 培養		44.5°C 培養	
	菌株数	%	菌株数	%
<i>E. coli</i> type I	234	(71.3)	234	(84.2)
<i>E. coli</i> type II	3	(0.9)		
<i>E. coli</i> type III	8	(2.4)		
<i>C. freundii</i> I	53	(16.2)	18	(6.5)
<i>C. freundii</i> II	18	(5.5)	14	(5.0)
Irregular type II	11	(3.4)	11	(3.9)
Irregular type III	1	(0.3)	1	(0.4)
合 計	328		278	

菌型分類は Topley-Wilson (1964) および Coli-Aerogenes Subcommittee (1956) による。

果を表1に示した。IMViCによる分類では、分離株数328株中、*E. coli* Iが234株(71.3%)と最も多く、次いで *C. freundii* Iが53株(16.2%)であった。この結果から糞便性大腸菌 (*E. coli* I, II, III) は245株(74.7%)、非糞便性大腸菌は83株(25.3%)となった。もしこの結果に一般性があるならば、確実に糞便汚染をうけた検体では、そこから検出された大腸菌群は、ほぼ3対1に糞便性と非糞便性大腸菌に分類できることになる。高温培養(44.5°C)で増殖したのは278株であったが、この中には44.5°Cで増殖できないとされている *C. freundii* I, IIがそれぞれ18株、14株、含まれていて、*E. coli* Iは234株(84.2%)であった。高温培養出現株数は *C. freundii* I 53株中18株(34%)、*C. freundii* II 18株中14株(78%)であった。高温培養で得られた大腸菌群の中には、

*北里大学衛生学部産業衛生学科

非糞便性大腸菌は、わずか15.8%しかなく、37°C培養での28.7%と比較してこの方法の有用性がわかる。大腸菌群陽性者について各型の保有状況をみると、E. coli Iのみの保有者は49人(47.6%)、E. coli Iと非糞便性大腸菌を保有していた者は35人(34%)、E. coli I、E. coli IIの保有者は2人(1.5%)、E. coli I、E. coli IIIの保有者は3人(2.9%)、E. coli I、E. coli IIと非糞便性大腸菌を保有した者1人(0.9%)、E. coli I、E. coli III、と非糞便性大腸菌を保有した者が1人(0.9%)、E. coli IIIと非糞便性大腸菌を保有した者2人(1.5%)であった。非糞便性大腸菌のみを保有していた者は10人(9.7%)であった。したがって糞便性大腸菌の保有者は90.3%となった。

EMB寒天培地に発育する大腸菌は黒色で金属光沢をもつ集落を作るが、大腸菌に属する他の型の菌がどのような性状を示すかを観察した。集落の色調から、黒色金属光沢、黒色スムーズ、黒色ラフ、中心のみ黒色、中心黒色表面灰色、茶色、中心茶色の7種類に分類した。図2に示したように328株中黒色ラフ型コロニーが102株(31.1%)と最も多く検出され、ついで黒色スムーズ型72株(21.9%)、黒色金属光沢58株(17.7%)、中心のみ茶色44株(13.4%)であった。また、黒色系と茶色系とにわけると、黒色系が263株(80.2%)、茶色系が65株(19.8%)であった。色調別に大腸菌群の各型に分類すると、黒色金属光沢を示す集落58株中55株(94.8%)がE. coli Iであり、他はC. freundii I、IIであった。また黒色スムーズ型ではE. coli Iが58株(80.5%)と多く、つぎはC. freundii Iであった。黒色ラフ型では、E. coli Iが77株(75.5%)となり、他はC. freundii I、Irregular IIであった。中心のみ黒色を示す集落は同様にE. coli Iが20株(71.4%)と多く検出された。中心黒色で表面灰色を示す集落は僅か3株であったが、いずれもC. freundiiのI、IIに分類された。茶色ではE. coli Iは21株中9株であり、C. freundii I 6株、C. freundii

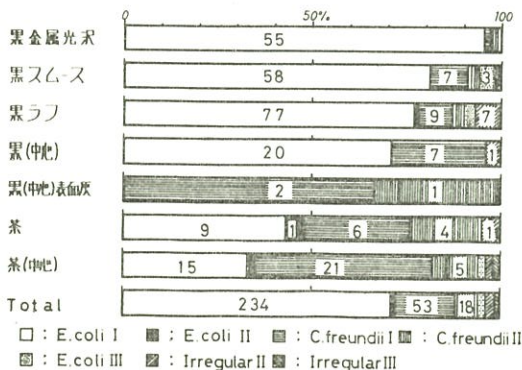


図 2

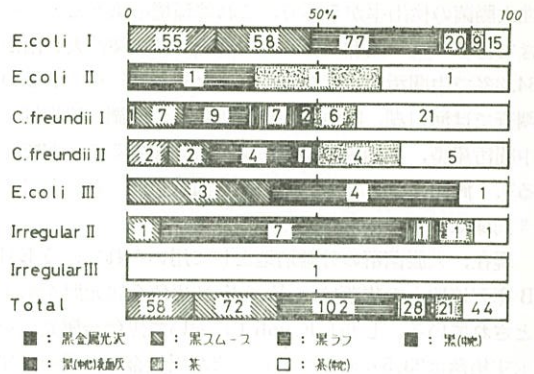


図 3

II 4株、合計でC. freundii I、II 10株(47.6%)となった。中心のみ茶色の集落はすべての菌種から検出され、C. freundii Iが21株(47.7%)、E. coli I 15株(34.1%)となった。図3は各菌型について色調によって分類したものである。7種類のすべての色調が含まれた菌型は、C. freundii Iであって、そのうちもっとも多い色調は中心のみ茶色を示す集落であった。E. coli Iでも中心黒色表面灰色集落が見られないのみで、他の6種類のすべての色調を示した。もっとも多く検出された色調は黒色ラフ型集落であり、黒色金属光沢を示したのはわずか23.5%であった。茶色、中心のみ茶色の茶系の集落を形成したE. coli Iもそれぞれ3.8%、6.4%あった。

考 察

今回おこなった調査で109人中103人が大腸菌群に属する菌種を保有しており、保有率は94.5%であった。腸球菌保有者は106人(97.3%)となっており、腸球菌陰性者はすべてE. coli Iを保有していたことに問題は残るとはいえ、糞便汚染の指標として腸球菌を用いるのは有意義であると考えられる。大腸菌群陽性者で非糞便性大腸菌のみの保有者は10人もあり、糞便大腸菌と腸球菌の保有率を比較すると、それぞれ82.6%、97.3%であり、腸球菌保有率が高いので糞便汚染の指標として腸球菌が適当のようである。IMViCによって分類するとE. coli Iが最も多く71.3%、糞便大腸菌は74.7%であったが、これは桑原らによる調査とも一致する²⁾。また44.5°C培養の場合E. coli Iは84.2%の高頻度で検出された。以上の事から人糞便はE. coli型(糞便性大腸菌)が高頻度に分離されるので、大腸菌群検査の目的である糞便汚染を知るためには糞便性大腸菌、特にE. coli Iを検出する必要がある。またE. coli Iを検出するには44.5°C培養が有用である。糞便性大腸菌と非糞便性大腸菌分離比が約3:1のとき糞便型汚染があったとするならば、昭和47年10月におこなったケーキ類の大腸菌群汚染では糞便

性大腸菌の検出率が5%で、これは環境汚染型というべきであろう⁹⁾。昭和48年の河川調査では糞便性大腸菌が64.3%で中間汚染型となる⁶⁾。また昭和49年富士五湖の調査では河口湖、山中湖が糞便汚染型、西湖、精進湖が中間汚染型、本栖湖が環境汚染型と分類することができる⁷⁾。岡田によっても食品および簡易水道での調査におき同様な報告がなされている¹⁰⁾。

現在、大腸菌群の分離培地として用いられているEMB寒天培地上の集落は、E. coliが黒色金属光沢を示すとされている。しかしE. coli Iにおいて黒色金属光沢を示す集落は23.5%のみであり、また黒色金属光沢を示す集落は、大腸菌群として分離されたものの17.7%のみであった。EMB寒天培地上より、BGLB培地等に移植する場合、黒色金属光沢のみを選択すると、30%以上の大腸菌群が検出できないことになる。また、培地中の乳糖を少しでも分解し、黒色系を示したとしても、黒色系の集落は80.2%で、茶色系集落を形成する20%の大腸菌群を検出できない危険がある。このことからEMB寒天培地に出現した集落は、完全な白色集落以外はすべて大腸

菌群に属する菌種であるとみなして検査を進めるべきである。

参 考 文 献

- 1) 柳沢文徳；食品衛生学 192 (1960) 續文堂
- 2) 桑原驥児；用水汚水ハンドブック 39 (1969) 産業用水調査会
- 3) 春田三佐夫ほか；食品製造における品質管理の諸問題 169 (1974) 三秀書房
- 4) 地田修一；水道協会誌 100 72 (1972)
- 5) 金丸佳郎ほか；山梨衛研年報 16 50 (1973)
- 6) 山梨衛研年報；業務報告 17 13 (1974)
- 7) 田中正二郎ほか；山梨衛研年報 18 65 (1975)
- 8) 日本薬学会編；衛生試験法注解 36 (1973) 金原出版
- 9) 相磯和嘉ほか；食品衛生学事典 415 (1972) 医歯薬出版
- 10) 岡田博志；第10回山梨県公衆衛生研究発表会講演抄録 43 (1975)