

## 下痢症原因菌調査(2)

—カンピロバクターと大腸菌の水中での共生実験について—

微生物科

佐々木 陽子・石田 茂・井上 睦子  
田中 珠恵・寺谷 巖・深沢 義明

### はじめに

カンピロバクターによる下痢症は、その検索が導入されてから、<sup>1)~4)</sup> サルモネラと同等もしくはそれ以上に重要な地位を占め、散発下痢症や集団発生事例も明らかにされてきた。<sup>5)~11)</sup>

当所では、環境汚染を把握するために、昭和58年より環境からの分離を試みているが、<sup>11)</sup> 本菌が好気性菌であるために自然環境下での死滅が早いにもかかわらず、河川の水温が上昇した時期でも検出され、下水からは年間を通して定量できる程の菌量が得られている。又、集団発生例では水系感染の疑われるものが多く、<sup>8), 9), 11)</sup> 大腸菌も同時に検出される場合が殆んどである。<sup>13), 14)</sup> そこで、カンピロバクターの生存に大腸菌が関係しているのではないかと考え、mix cultureにより水中での生存を調べたので報告する。

### 材料と方法

使用菌株：Campylobacter jejuni 359（臨床分離株）、Escherichia coli sk1592株、NAG vibrio 83-153（都衛研分与株）、Salmonella 6141(O<sub>7</sub>群環境分離株）、Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853株を使用した。

方法：滅菌した100 mlの蒸留水、生理食塩水、河川水にそれぞれ菌を浮遊させ25℃で実験を行った。用いた河川水は、大腸菌群数 $10^6$  MPN/100mlとかなり有機物を含んだ水である。菌数測定は、カンピロバクターはPreston brothによるMPN 3本法<sup>15)</sup>を用いて42℃培養を行い、分離はButzier培地を使用、他の菌は普通寒天培地を用いた。

### 結 果

1 各種液中での大腸菌によるカンピロバクターの生存への影響（図1）

カンピロバクター単独と、それに約 $10^7$ /mlの濃度で大腸菌を混合した場合のカンピロバクターの生存を各溶液について比較した。

生理食塩水、河川水に大腸菌を混合すると、単独の場合より生存が延長され、生理食塩水で著明であった。蒸留水では菌の生存が一番良く、他の液中とは逆に大腸菌を混合した場合の方が、菌の死滅が早かった。対照として同様に行なった4℃の実験では伊藤らの生肉中、<sup>15)</sup> 島田らの牛乳中での報告と同じく3日目でも菌量は殆んど変わらず、カンピロバクター単独と大腸菌混合に差はみられなかった。

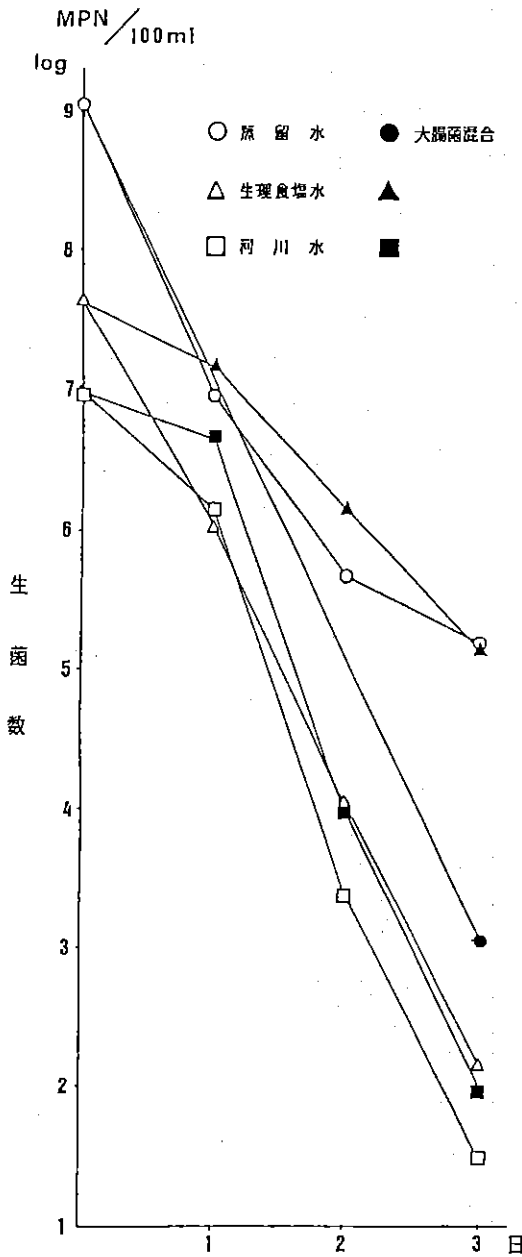


図1 各種液中でのカンピロバクターの生存

2 各種液中でのカンピロバクターによる大腸菌の増殖への影響(図2)

大腸菌にカンピロバクターを混合した場合、大腸菌の増殖に影響するかどうかを調べた。

10<sup>7</sup> MPN/100ml程度のカンピロバクターを混合すると、河川水では増殖が促進され、カンピロバクターの菌量を多くすると増殖カーブが上昇した。生理食塩水では、大腸菌単独だと3日目まで減少しているのに対し、カンピロバクター混合では増殖している。蒸留水ではどちらも菌数が減少しており、生理食塩水、河川水とは逆に混合した方がより死滅が早くなっている。

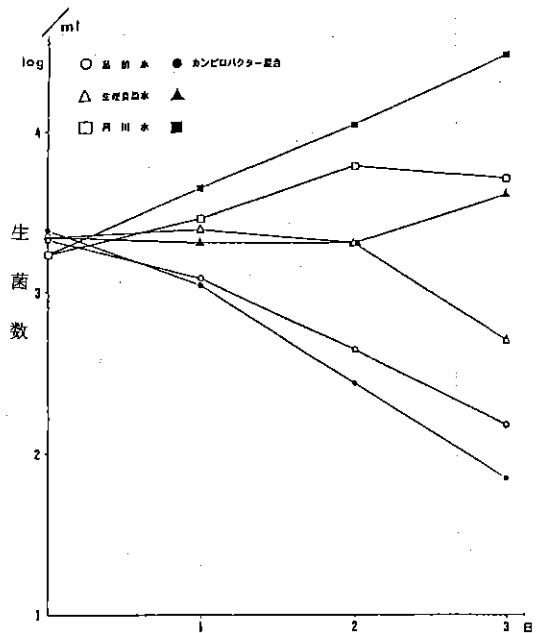


図2 各種液中でのカンピロバクターによる大腸菌の増殖への影響

3 河川水での各菌種によるカンピロバクターの生存への影響(図3)

カンピロバクターの生存が大腸菌によって延命される現象が、他の菌種でも現れるのか、河川に常在する菌について比較した。

NAGビブリオ、サルモネラ、緑膿菌を混合した場合でも大腸菌同様延命効果がみられたが、大腸菌では他の菌種よりも効果が大きかった。

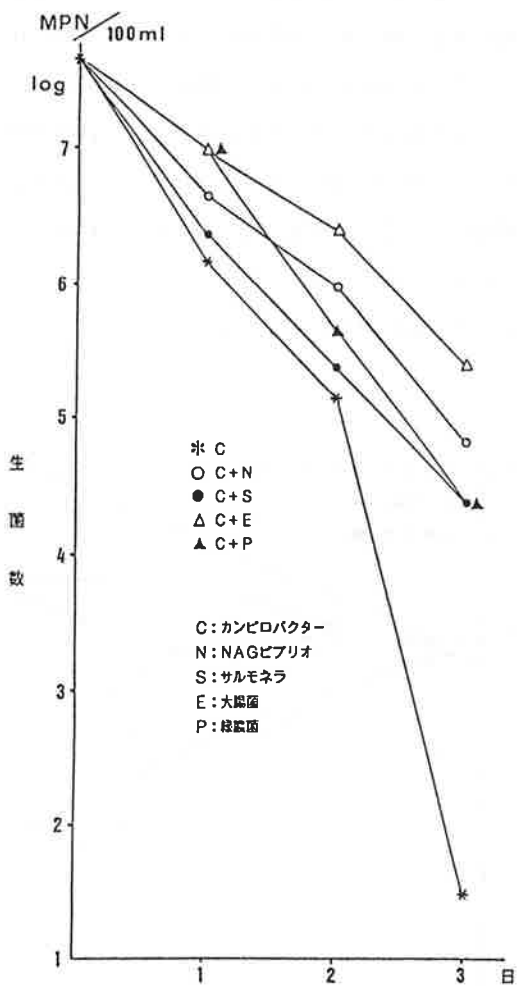


図3 河川水での各菌種によるカンピロバクターの生存への影響

4 河川水でのカンピロバクターによる各菌種の増殖への影響(図4)

これらの菌の増殖が、カンピロバクターの混合により影響されるか否かを調べた。

NAGビブリオ、サルモネラ、緑膿菌では、カンピロバクターを混合した場合も殆んど菌の増殖に変化はないが、大腸菌のみ増殖が促進された。

カンピロバクターと大腸菌の混合によって、カ

ンピロバクターの生存が延長され大腸菌も増殖が促進する現象が、水中の溶酸素量に関係するのではないかと考え、滅菌した河川水にカンピロバクター、大腸菌を接種したものを、フランビン、採水ビンで25℃72時間培養した後DO値を測定した。フランビンでは、大腸菌による酸素消費量が微好気性菌であるカンピロバクターに比べ多かったが、実際使用して実験を行った採水ビンの場合、対照の値と殆んど変わらない結果が得られ、溶酸素量の影響はないものと考えられた。

これらの現象が菌の何によって影響されているかをみるため、つぎの実験を行った。

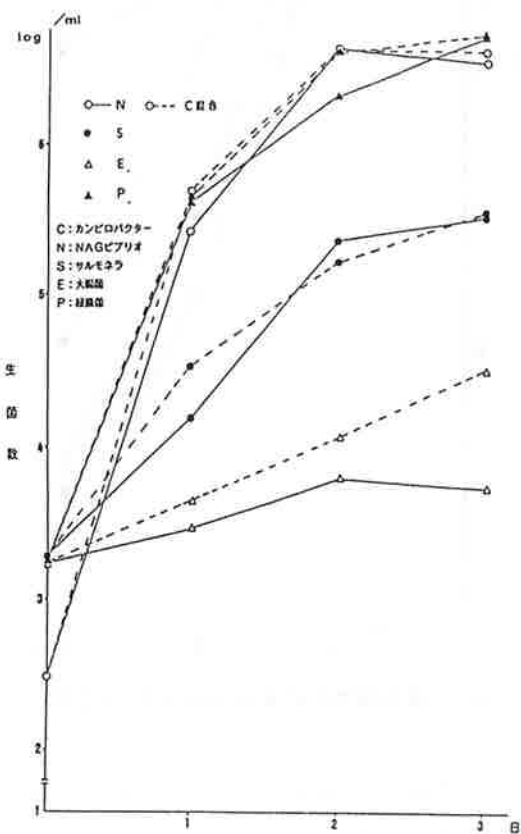


図4 河川水でのカンピロバクターによる各菌種の増殖への影響

5 生理食塩水での大腸菌によるカンピロバクター生存への影響要因

生理食塩水を用いて、加える大腸菌、カンピロバクターとも  $10^6$ /ml程度生理食塩水に浮遊させ、①生菌、②凍結融解を90回行い、菌が生存しないことを確認した菌体成分、③48時間培養後フィルターで除菌した代謝産物、④121℃15分滅菌による加熱菌をそれぞれ同量接種したものについて菌数を測定した。

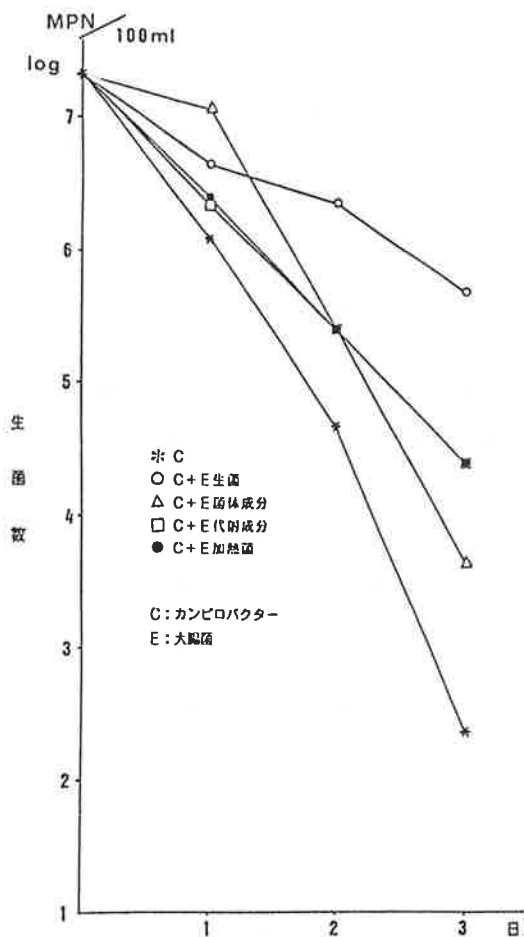


図5 生理食塩水での大腸菌によるカンピロバクターの生存への影響

カンピロバクターの生存への影響をみると(図5)、1日目では菌体成分による効果が一番良く、2日目、3日目では生菌の混合による効果程ではないが、大腸菌の菌体成分、代謝成分、加熱菌の何れの場合でもカンピロバクターの延命効果がみられ、単独の場合より明らかに菌の生存に差がみられた。

6 生理食塩水でのカンピロバクターによる大腸菌の増殖への影響(図6)

カンピロバクターの生菌と処理菌を大腸菌に混合すると、1日目では菌体成分による増殖が一番良いが、3日目では生菌による増殖が良く、僅かであるが菌体成分、代謝成分、加熱菌でも大腸菌単独の増殖に比べて効果がみられた。図には示していないが、カンピロバクター混合による増殖の影響が大であった河川水を用いてカンピロバクターの加える菌量を変えると、菌量の増加に伴い増殖カーブが上昇する傾向がみられた。

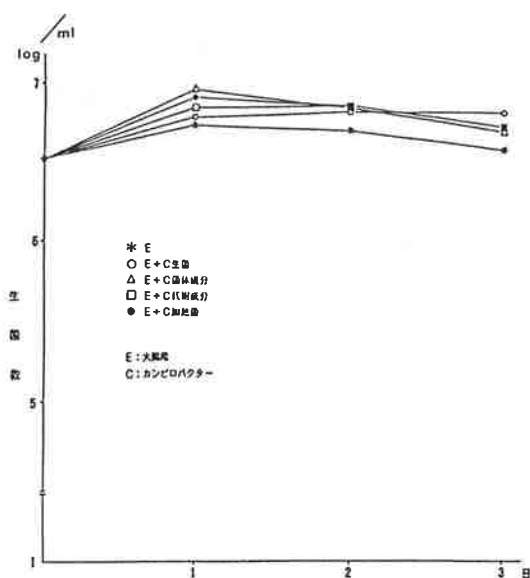


図6 生理食塩水でのカンピロバクターによる大腸菌の増殖への影響

## 考 察

カンピロバクターの水中での生存は、蒸留水が一番良いようにみえたが、接種菌量を  $10^7$ MPN/100 ml とすると、河川水同様 3 日目で死滅した。このことから接種菌量が多くなると生存する菌の割合も増えるものと考えられ、蒸留水、生理食塩水、河川水にあまり差はないものと考えられた。

大腸菌との混合培養では、生理食塩水、河川水で延命効果があり、蒸留水では単独よりも逆に死滅が早まった。このことは大腸菌についても同様で、混合培養による効果は生理食塩水、河川水で見られ、蒸留水では生存が阻害されるように働き、死滅傾向が増して、細胞壁の浸透圧、pH、自家融解系の活性、菌体成分等が要因であろうと考えられた。

蒸留水での混合培養が、生理食塩水、河川水とは逆に、カンピロバクター、大腸菌とも単独の生存より死滅が早められたことは、菌体成分によるのではないかと推察し、凍結融解した菌体成分を加えて比較した。カンピロバクターは、大腸菌の菌体成分を加えても菌の生存に変化はみられなかったが、大腸菌にカンピロバクターの菌体成分を加えると急激に死滅した。これはカンピロバクターの毒素作用とも考えられるが、生理食塩水を用いた実験では菌体成分による増殖がみられ、毒素の影響は考えられなかった。

カンピロバクターの河川水での生存が、大腸菌以外の菌種によっても延長されたが、その効果は大腸菌が一番良好であった。また、カンピロバクターによる増殖の促進は、NAGビブリオ、サルモネラ、緑膿菌には見られず大腸菌のみに認められ、カンピロバクターと大腸菌の共生が示唆され

た。

生理食塩水での大腸菌によるカンピロバクターの延命効果をみると、生菌を加えた時の効果に比べると少ないが、大腸菌の菌体成分、代謝成分、加熱菌の何れでも延命効果はみられた。また、カンピロバクターによる大腸菌の増殖への影響も、カンピロバクターの菌体成分、代謝成分、加熱菌の何れを加えたものでも増殖が促進された。カンピロバクターの生菌を加えた時の大腸菌の増殖は、生理食塩水よりも河川水を用いた方がより効果的であったので、河川水を用いた方がその差が明瞭であろうと思われた。

カンピロバクターと大腸菌の混合培養による延命効果、あるいは増殖促進効果は、死菌の菌体や代謝産物が菌に保護的に働くのか、あるいは栄養的な効果を持つのか、代謝、菌膜の作用などの相互作用によるものか、これらの実験では明らかにすることはできなかった。しかし、カンピロバクターの水中での生存は、25℃という夏場の水温に匹敵する温度条件でも、大腸菌の存在によってかなり生き長らえることは、カンピロバクターの水系汚染、あるいは食品の汚染等に大腸菌の存在が認められる現状から考えて、食中毒発生の要因に荷担するものと考えられる。

## ま と め

1 蒸留水、生理食塩水、河川水での25℃におけるカンピロバクターの生存は、生理食塩水、河川水でその単独より大腸菌との混合による延命効果が認められたが、蒸留水では逆に死滅が早められた。また、大腸菌の増殖は、生理食塩水、河川水におけるカンピロバクターとの混合で良く、蒸留水での混合では死滅が早められた。

2 大腸菌、NAGビブリオ、サルモネラ、緑膿菌との混合による、河川水でのカンピロバクターの生存は、その単独生存よりいずれも延命効果が見られ、とくに大腸菌との混合が最も効果的であった。

3 カンピロバクター混合による河川水での大腸菌、NAGビブリオ、サルモネラ、緑膿菌の増殖は、大腸菌のみ増殖促進が認められ、他の菌では単独と混合による増殖の差は認められなかった。

4 生理食塩水を用いたカンピロバクターと大腸菌の生菌、菌体成分、代謝成分、加熱菌の混合では、いずれもカンピロバクター単独より延命効果が認められるが、とくに生菌の場合が著明であった。

5 大腸菌の増殖を、生理食塩水でカンピロバクターの生菌、菌体成分、代謝成分、加熱菌と混合すると、単独の場合と比較していずれも増殖の促進が認められた。

これらのことから、水中でのカンピロバクターと大腸菌の共生関係が示唆されたが、その作用機序は不明であった。

報文の要旨は、第56回日本感染症学会西日本地方総会(昭和61年11月、松山)において発表した。

## 文 献

- 1) 仲西寿男、貫名正文、村瀬稔：カンピロバクター腸炎一下痢症における意義と検索法一、食品衛生研究、31(6)、65-77、1981
- 2) 深見トシエ：Campylobacterの分離と同定、検査と技術、19(11)、880-886、1981
- 3) 伊藤武、斉藤香彦：Campylobacter属、Medical Technology、10(3)、216-219、1982
- 4) カンピロバクターの分離と同定：工藤泰雄、松橋直編、1-21、厚生省レファレンスシステム研究班、1985
- 5) 吉崎悦郎、神木照雄、坂崎利一、田村和満：Campylobacter fetus subspecies jejuniによる下痢症について、感染症学雑誌、54(1)、17-21、1980
- 6) 田中博、大瀬戸光明他：小児の原因不明急性胃腸炎の病原の究明、愛媛衛研年報、42、9-12、1980
- 7) 吉崎悦郎、神木照雄、坂崎利一、田村和満：散发性Campylobacter腸炎に関する調査研究、感染症学雑誌、56(12)、1153-1159、1982
- 8) 藤野訓男、金田一達男：食中毒集団事例の調査一岩手県におけるCampylobacter jejuniによる集団下痢症について、岩手衛研年報、23、45-51、1980
- 9) 林英夫、塚田正和他：大型スーパー食中毒事例について、食品と微生物、1(1)、46-52、1984
- 10) 伊藤武、斉藤香彦、柳川義勢：カンピロバクター食中毒とその疫学、北里メディカルニュース、32(4)、1-19、1985
- 11) 病原微生物検出情報
- 12) 松崎静枝、片山淳他：山口県内の野生動物におけるCampylobacter jejuni/coli保有状況について、感染症学雑誌、56(10)、845-850、1982
- 13) F. J. BOLTON, P. M. HINCHLIFFE, D. COATES, L. ROBERTSON: A most probable number method for estimating small numbers of campylobacters in water, J. Hyg, Canb, 89, 185-190, 1982
- 14) Martin J. Blaser, Pavid N. Taylor and

- Roger A. Feldman : EPIDEMIOLOGY OF CAMPYLOBACTER INFECTIONS, *Campylobacter Infection in man and animals*, 143 - 161, 1982
- 15) 伊藤武、芥藤香彦、高橋正樹、坂井千三 : *Campylobacter jejuni*の食品中における発育態度 1 生肉中における本菌の生存、食品衛生微生物研究会 要旨集、39、1982
- 16) 島田邦夫、辻英高、小野一男、木村英二 : 小兒下痢症 : 特に *Campylobacter jejuni/coli* について、*感染症学雑誌*、58(12) 1271 - 1278、1984