

閉鎖施設児童の腸内細菌叢

富山県衛生研究所

児 玉 博 英
石 倉 康 宏
久 保 田 憲 太 郎

緒言

精神薄弱児童の収容施設であるK学園においては、過去数回集団赤痢の発生ををみており、特に昭和44年には10月と12月の2回にわたり、児童43名、職員8名、計51名にのぼる患者を出し、学園の機能が麻痺する状態に至った。当時検査を担当した著者らと、学園当局の間で予防対策を協議し、赤痢、サルモネラを対象として、全員の保菌者検索、施設内のふきとり検査、および上水、施設周辺の用水、海水等の細菌学的検査を、昭和45年6月から翌年3月までの10ヶ月間、毎月1回実施することになった。対照として、同様の施設でありながら、過去5年間に1度も赤痢の発生を見ていないT学園を選んだ。

そこで、これら両学園の児童の間に、腸内細菌叢に関して、何か定量的な差がみられるかどうか、更にこれまでに便の定量培養の報告は多いが、^{1, 2, 3, 4)}同一人を長期間定量的に追跡することを目的として以下の実験を行なった。

予備調査の結果、園児の知能指数、新入園児の検便、帰園児の検便、給食関係者の検便等、両学園に差はなく、生活環境上異なっていたのは次の3点であった。

1. K学園は職員を含めて125名、T学園は60名の収容人員であった。
2. K学園はK市の末端に位置し、市街地を通過した用水が施設周辺をとりまき、近くの海にそそいでいるが、T学園はT市郊外の小高い丘の中腹にあり、近くに人家があまりない。
3. T学園では毎日給食として、脱脂粉乳に乳酸飲料をまぜて約100ml飲ませている。

脚註 ※乳酸菌数 原液：1.2~1.4×10⁹/ml

希釈後：5×10⁷/~2×10⁸/ml

実験材料および方法

両施設から児童14名、職員6名をそれぞれ選びK学園は毎月1回、T学園は隔月、便をバックで得、可及的に新鮮な状態で実験に供した。便1gを計量し、9mlの生理食塩液に入れ、Thermomixerを用いて懸濁し、以下10倍段階希釈を行なった。6種類の培地(BTB、CM 25γ/ml加BTB、EMB、EF、変法LBS⁵⁾、およびKM200γ/ml加CW寒天)を用いて、それぞれ予測される便の希釈液0.05~0.1mlを塗抹培養した。変法LBSは1mlを混積、寒天を重層、KM加CM寒天は嫌気ジャーを用い、水素置換培養を行なった。

BTBおよびCM加BTB培地では、乳糖分解菌と非分解菌を別々にかぞえ、EF培地ではえび茶色の集落を形成するStreptococcus faecalisと黄色のStreptococcus faeciumを区別した。更にLBS培地では、乳酸飲料由来と思われる比較的小型の埋没集落とそれ以外の大型集落を区別した。

耐熱性ウエルシュ菌の分離は次のように行なった。10倍希釈の便1gをcooked meat培地に入れ、100°C、30分加熱、急冷後、そのまま培養し、1夜後濁濁を生じたものについて、KM加CW寒天平板に塗抹、レシチナーゼ反応を示した集落については、抗血清による中和をもってウエルシュ菌を同定し、同時にHobbsの型血清を用い、生菌のスライド凝集反応によって型を決定した。

赤痢菌およびサルモネラ菌の検出のためには、便を直接SS-SB寒天培地に塗抹、培養した。

結果

調査期間中、赤痢、サルモネラの保菌者は1例も見出されなかった。

便の定量培養のまとめをTable 1に示した。BTB培地を用いた場合の乳糖分解菌又は非分解

菌の菌数、CM加BTB培地を用いた場合の乳糖分解CM耐性菌の出現頻度およびその菌数等、両者の間に著明な差は認められなかった。

腸球菌および非加熱のウエルシュ菌も同様であった。両学園児童における唯一の違いは、変法LBS培地（培養時のpH5.5~5.7）を用いた場合の乳酸菌数であった。K学園では 10^4 以下が43%もあったが、T学園では総て 10^4 以上、平均 10^6 であり、その殆どは乳酸飲料由来の菌と同一のコロニーの形状を呈していた。

CM耐性大腸菌の検出率および菌数は、Table 1および2に示した通り、K、T両学園の間に差を認めなかったが、保菌状態を個人別に追跡すると非常に興味あるパターンが得られた。例えば、K学園の児童1人は9カ月連続して 10^3 ~ 10^8 の菌数で職員の1人も8カ月連続して 10^3 ~ 10^7 の範囲で保菌状態を保っていた。T学園においても同様で、児童の1人は5回連続（隔月なので10カ月連続の可能性あり） 10^6 ~ 10^7 の範囲で、職員の1人も又5回連続 10^2 ~ 10^6 の範囲で排便し続けていた。

耐熱性ウエルシュ菌の検出率とそのHobbs型別をTable 3に示す。個人別に見ると、その保菌状態は極めて不定であり、3回以上連続して菌が検出された場合も、Hobbs型別で同一の菌型が連続するのは稀であった。

考察および総括

1. 便の定量培養の結果を全体として見ると、著者らが調べた範囲内では、K、T両学園の児童の間には、乳酸菌数以外に顕著な差を認めなかった。

T学園児童において、乳酸菌が他の大腸菌、腸

球菌、ウエルシュ菌等の菌数にあまり影響を与えないような成績が得られたのは、毎日飲用している脱脂粉乳で希釈した乳酸飲料の菌数が、市販のその $1/10$ ~ $1/20$ であり、飲用量を考慮しても摂取総菌数が市販品1本分の $1/4$ ~ $1/6$ と少ないことに起因するのもかも知れない、この問題は今後更に追究したい。

2. 耐熱性ウエルシュ菌の保菌状態は極めて不定であり、その際、Hobbs型別による菌型も不定であった。型別可能なものの中では、6型と13型が比較的多かった。

3. CM耐性大腸菌の保菌状態に関しては、耐熱性ウエルシュ菌の場合と異なり、個人別に特徴あるパターンが得られ、同じ閉鎖的施設で集団生活を営んでいても、決して菌叢が画一的でないことが判明した。

文 献

1. Ketyi, I. & K. Barna. : Studies on the human intestinal flora, I, The normal intestinal flora and stability of its constituents, Acta Microbiologica 11, 173, 1964.

2. Smith, H. W. : Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition, J. path. Bact 89, 95, 1965.

3. 佐々木正五。常在細菌叢の生物学的意義。日本細菌学雑誌 25、79、1970。

4. 光岡知足。動物とヒトにおける腸内細菌叢とその成立。日本医師会雑誌 67、132、1972。

5. 光岡知足。腸内フローラとその分離法。モダンメディヤ 16、171、1970。

Table 1 Summary of Quantitative Cultivation of Feces

Institution		K	T
Culture media		Total numbers examined : 184	Total numbers examined : 90
BTB			
Lactose + (E. coli etc)		7.0 (5-9) *	6.8 (5-8)
Lactose - (Proteus etc)		40% : <6.0 others : 7.1 (6-9)	46% : <6.0 others : 7.0 (6-8)
BTB-CM			
Lactose + (CM-resist. E. coli)		54% : <2.0 others : 4.3 (2-7)	52% : <2.0 others : 4.4 (2-7)
Lactose - (Yeast, Proteus)		35% : <2.0 others : 3.8 (2-7)	49% : <2.0 others : 3.7 (2-7)
EMB (E. coli etc)		6.4 (4-8)	6.3 (4-8)
EF			
Str. fecalis		28% : <3.0 others : 4.9 (3-8)	34% : <3.0 others : 5.0 (3-8)
Str. fecium		21% : <3.0 others : 5.1 (3-8)	10% : <3.0 others : 5.0 (3-9)
LBS (modified) Children		43% : <4.0 others : 5.9 (4-7) (large colony)	5.8 (4-7) (small colony)
Adults		16% : <4.0 others : 5.6 (4-7) (large colony)	6.3 (5-7) (large colony)
Nagler (Cl. welchii)		12% : <2.0 others : 4.5 (2-8)	14% : <2.0 others : 4.0 (2-7)

* log₁₀ (range)

Table 2 Appearance of CM Resistant Escherichia coli

Institution	Month												T	
	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
K	18/19	14/20	14/17	14/20	10/19	8/20	5/18	4/16	3/16	3/17	93/182			
	94.7%	70.0	82.4	70.0	52.6	40.0	27.8	25.0	18.8	17.7	51.1			
T	10/18	-	10/18	-	14/18	-	-	0/16	-	3/18	37/88			
	55.6		55.6		77.8			0		16.7	42.0			

Table 3 Appearance of Heat Resistant Clostridium Welchii (100°C, 1 hr)

Institution \ Month		6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
		K		0/13	1/14 *	3/12	8/14	8/13	1/14	1/14	2/13
Children			UT-1	UT-3	UT-6 T13-2	UT-7 T3-1	UT-1	T6-1	UT-1 T13-1	UT-1 T6-1	UT-5 T1-1
Adults		1/6 T6-1	1/6 UT-1	1/6 UT-1	2/6 UT-1 T13-1	4/6 UT-2 T2-1 T6-1	2/6 UT-2	0/5	0/5	4/6 UT-4	1/6 UT-1
T		2/13		3/12		0/12			1/10		2/13
Children		T4-1 T8-1		UT-1 T6-1 T13-1				T6-1			UT-1 T8-1
Adults		1/6 UT-1		1/6 UT-1		3/6 UT-2 T1-1			1/6 T13-1		2/6 UT-2

* untypable