

食物中毒之研究

第五報

大有村西瓜中毒案之蠟樣芽胞桿菌及B5W之分離研究

許喬木 徐金波

臺灣省衛生試驗所

多數成熟之瓜果既甜又香，蒼蠅及其他昆蟲類，多喜在其上舐吮；各種微生物亦可經由塵埃、泥土、昆蟲、水、人手、以及其他不潔器物或包裝物等而沾染各種水菓，如食之不慎極易招致疾病。水菓表面之微生物，有時亦可污染其內部組織，如西瓜等用清水沖洗後，雖可除去其表面附着之部份細菌，但經剖開之瓜肉，若未立即食用，而污染病原菌，久置後，其污染細菌數增至相當多之數目時，人類誤食之，往往便引起食物中毒。

著者等曾於民國五十一年六月六日承彰化縣衛生局，以長途電話洽請為協助檢查該縣埔鹽鄉大有村西瓜中毒案時，由剩餘之西瓜片中分離檢出蠟樣芽胞桿菌 (*Bacillus Cereus*) 及 *Bacterium Anitratum* (B5W) 二種原因菌。本案之處理結果，其概要除曾於中國藥學會暨臺灣省分會民國五十一年度年會發表外，另文發知彰化縣衛生局並呈報臺灣省衛生處在案。茲特載於本誌，供同道參考。

中毒發生狀況及疫學調查

一、中毒事件發生之概要

本案根據彰化縣衛生局調查報告及著者等前往實地補充調查結果，其中毒事件之概要如下：

本案經查彰化縣埔鹽鄉大有村員集路——八號居民陳榮寬，於民國五十一年六月四日晚間八時半，剖開一個重十四臺斤的西瓜，當時該瓜並無腐爛或損傷情形。首先三人分食其一部份約二公斤，然後就寢，均無不適之處。其剩餘之西瓜，用以前包內衣之塑膠袋蓋於西瓜剖面上放置於寢室內之桌上，經十小時後即第二日早晨六時半，將其剩餘西瓜

切為二十片，分送鄰居七戶住民計有十七人分食之，經二至三小時後，該十七人中十六人即發生嘔吐、腹瀉、腹痛等中毒症狀。其中較嚴重之幼童計二人於二十四小時後死亡。其餘就醫治療，均於三日後恢復健康。

二、流行病學調查

本案經實地之疫學調查結果，其概要如下：
中毒發生時間：民國五十一年六月五日上午九時。
中毒原因食品及攝取時日：民國五十一年六月四日下午八時半，剖開之西瓜片經放置十小時後，於六月五日清晨六時半攝食之。

中毒人數：十六人。
發病率：攝取同一西瓜者計十七人，其中十六人發生中毒，發病率為94.11%。
死亡率：十六人中中毒患者中，二人死亡，即死亡率為12.5%。

潛伏期：攝食西瓜至發病所須時間為2~3小時，大多為3小時。

中毒症狀：嘔吐、腹瀉、腹痛、眩暈、微熱 (37.2~37.8°C)。

又據診療醫師謂：中毒病患中死亡者，均有顯著之腹脹症狀。

訪查各中毒患者，於中毒前二日內，均未被人邀宴，亦未請客，更未攝食任何其他可疑食品。

原因菌之分離

本案之原因檢查，除獲得其剩餘西瓜片外，中毒患者之嘔吐物及排泄物均未留存。取該剩餘西瓜片，分別用普通瓊脂培養基、血液瓊脂培養基、葡萄球菌培養基 No. 110、SS Agar、EMB

Agar及Macconkey Agar等分離培養外，同時用Selenite F及Fluid Thioglycollate Medium等個別加以增菌培養後，再分離培養檢查之。

一般生菌數計算結果，發現含有無數之二種細菌，一為白色不透明聚落(A)，另一為灰白色半透明聚落(B)。另由Macconkey Agar與EMB Agar分離檢出透明乃至半透明之可疑集落

，經個別加以詳細檢查之，但未檢出其他病原性葡萄球菌、沙門氏菌、或痢疾菌屬等。

分離菌之性狀

本案由剩餘西瓜片中分離培養檢出之二種可疑細菌，經以A及B二株分別實施生物學性狀檢查結果，其檢查成績，如表I所示：

表I. 分離菌之生物學性狀比較一覽表

檢驗項目	檢查結果	A	B
革蘭氏染色及形態		陽性桿菌，有芽胞	陰性短桿菌，兩端染色較濃，雙球菌狀，具有大荚膜
Desoxycholate Agar		—	菌集落微紅色
SS Agar		—	透明
Macconkey Agar		—	透明
E MB Agar		—	半透明
Nutrient Agar		白色不透明	半透明
Motility		—	—
TGC Medium		上面發育 (需氣性)	—
Brth		均勻濁濁	濁濁
Peptone water		均勻濁濁	濁濁
Indol 產生		—	—
Kligler iron Agar		—/⊕	—/—
H ₂ S 產生		—	—
Urease		—	—
MR Test		—	+
VP Test		—	+
Sodium Citrate Medium		±	+
Gelatin liquefaction		—	—
Nitrate reduction		—	—
Sucrose mannitol Medium		—/⊕	—/—
碳水化合物分解能 (Carbohydrates fermentation)			
Adonitol	戊五醇	—	—
Arabinose	阿拉伯糖*	—	+
Dulcitol	甜 醇	—	—
Dextrose	葡萄糖	—	+
Inositol	肌 醇	—	—
Inulin	菊 糖	—	—
Lactose	乳 糖	—	1%—, 5%+
Mannitol	甘露醇	—	—
Rhamnose	鼠李糖	—	+
Salicin	水楊苷	—	—
Sorbitol	已六醇	—	—
Sucrose	蔗 糖	—	—
Trehalose	雙 糖	—	—
Xylose	木 糖	—	+

註1: 表中+產酸或陽性, ⊕產酸並gas發生, —陰性。

所分離之A及B二種菌株，經上述之培養特性及生物學性狀等綜合結果：A菌符合於蠟樣芽胞桿菌 (*Bacillus cereus*)，B菌符合於 *Bacterium anitratum* (B5W)。

分離菌之毒性試驗

本案所分離之A及B菌二株分別注射小白鼠及天竺鼠，檢查其毒性，其試驗方法及所得結果，概要如次：

I. 接種材料：

1. A及B菌株，個別接種於Broth，經37°C培養15小時後，各該菌液供動物注射之用。

2. 接種於Nutrient Agar slant在37°C下經

15小時發育後之苗苔做成食鹽水浮游液，供動物注射之用，其濃度為生理食鹽水每2ml中浮游着一白金環量之菌苔。

3. 用Broth及Saline為對照試驗動物之注射材料。

II. 試驗動物及注射部位
注射於小白鼠及天竺鼠之腹腔內。

III. 接種量

Broth培養液及菌體浮游液均對天竺鼠各注射5ml 對小白鼠各注射0.5ml。

VI. 試驗結果

所分離之 A 及 B 二種菌株，經分別對於小白鼠及天竺鼠毒性試驗結果，所有之供試動物被注射後，均顯食慾不振及沈鬱現象，於 4~10 小時內死亡，如其毒性試驗結果，如表 II 所示。

表 II. 分離菌之毒性試驗成績一覽表

菌種別	試驗結果	致死時間	
		小白鼠	天竺鼠
A 菌	Broth 培養液 菌體浮游液	6.5 hrs.; 10 hrs.	"
B 菌	Broth 培養液 菌體浮游液	6 hrs.; 8.5 hrs. 4 hrs.; 5 hrs.	8 $\frac{1}{4}$ hrs. 7 $\frac{1}{4}$ hrs.

V. 斃死動物之解剖觀察

經注射上述接種材料而斃死之動物，經解剖檢查結果，如表 III 所示：

表 III. 動物屍體解剖之肉眼所見一覽表

解剖結果	解部內臟	
	小白鼠	天竺鼠
腹腔內臟	無漿液 出血，肥大 (邊有淤血)	無充出 漿液 血，肥大 (無異狀)
腹肝	淤血，肥大 (slant 僅顯充血)	
肺	充血，肥大	
脾		
腎		

註2：天竺鼠二隻屍體，腹腔均發生大量瓦斯。

VI. 討論：

所分離之 A 及 B 兩種細菌，經上述生物學性狀檢查結果，獲知 A 種為蠟樣芽胞桿菌，B 種為 *Bacterium anitratum* (B5W)。再進而加以分別接種於 Broth 追究各其細菌數增殖與毒性之關係，所得結果：該兩種細菌經接種約 6~22 小時均呈對數增加之情形，而當 12~22 小時，即其對數增殖期之後半，該兩種細菌均顯有毒性，然後其毒性徐徐消失。由此可知，該兩種細菌原均為非病原性細菌，但有時期能變為有毒者。至於本中毒案之潛伏期較短且中毒相當嚴重，概因該兩種細菌之混合污染且均變為有毒作用所致。

查 A 種即蠟樣芽胞桿菌為一種需氧性產芽胞腐敗細菌，遍佈在土壤中、水中、植物表面、牛奶、及自然界各地。B 種即 *Bacterium anitratum* (B5W) 通常為一種非病原性腸內細菌，但有時能使人發生敗血症致死之該菌於人之尿或痰中，以及鷄或火雞等之腐敗印，或孵化中止之卵中，亦常可分離得之。

結 論

1. 民國五十一年六月五日彰化縣埔鹽鄉大育村居民陳梁寬等十七人，分食業已剖開，且擱置十小時之西瓜發生中毒致死事件，經查究獲知其病原細菌。

2. 本案依據中毒現場之調查、中毒症狀（嘔吐、腹瀉、腹痛、眩暈、發熱），其經過、潛伏期（3 小時），發病率（94.1%），死亡率（12.5%）等流行病學調查報告，以及由剩餘西瓜片之病原細菌分離培養檢查（表 I）與毒性試驗結果（表 II 及表 III）等，綜合研討之，判定為蠟樣芽胞桿菌（*Bacillus cereus*）與 *Bacterium anitratum*

（B5W）二種細菌混合污染所致，並非由西瓜之一般腐爛或注射色素於瓜內，而發生。

由剩餘西瓜檢體未檢出病原性葡萄菌、沙門氏菌，及其他中毒原因細菌，亦未檢出巴拉松等農藥或其他化學毒物。

3. 所分離之上述二種原因細菌，經分別對於小白鼠及天竺鼠施行毒性試驗結果，均顯有毒性，即於 4~10 小時內致死，詳見表 II。

各該動物於斃死時，其腹腔內產生多量氣體，並有顯著腹脹之情形。各該動物屍體亦加以解剖檢視比較，其結果，如表 III。據診察醫師稱：中毒死者，亦有顯著之腹脹症狀，此與動物試驗結果顯然相符。

4. 本中毒事件，綜合多方調查及檢查研究所得之結果，可知該西瓜剖開後，在瓜面上污染上述二種病原性細菌，且擱置太久（經十小時），間得到適當之溫度、養份、及水分等條件下，發育增殖，而引起中毒。

參 考 文 獻

- (1) 許喬木、徐金波：中國藥學會暨臺灣省分會五十一年度年會手冊，16. 第 21 講題（1962）
- (2) 臺灣省衛生試驗所：衛試細字第 7186 號函（1962）
- (3) 臺灣省衛生試驗所：51. 9. 27 衛試細字第 3420 號函（1962）
- (4) 邊野喜正夫、善養奇浩：細菌性食中毒，208, 209（1959）
- (5) 日本營養化學株式會社：Modern Media, 8, (No. 2), 60（1962）
- (6) 林誠：藥局：11 702（1960）
- (7) 秋葉朝一郎：病原微生物學 206（1963）

SUMMARY

Studies on the Food Poisoning

Part V. Studies on the *Bacillus Cereus* and

Bacterium anitratum (B5W)

Isolated in a Case of water melon

poisoning

By Chiao-mu Hsu and Chin-pou Hsu

Taiwan Provincial Hygienic Laboratory

1. On 5 June 1962 there were 17 villagers (one of them named Chen Laing-kuan) at Ta-yu Tsun in Pu-yen Village of Chang-hua Hsiang (District) ate a water melon which had been dissected for ten hours and died of poisoning. The epidemiological report which includes on-the-spot investigation, symptoms, incubation period (3 hours), rate of morbidity (94.1%), rate of mortality (12.5%); the pathogenic bacteria isolation (culture and examination) of the remainder water melon (See Table I) and the toxicity test (See Table II and III) proved that the water melon was contaminated by *Bacillus cereus* and *Bacterium anitratum* (B5w) and was not the ordinarily rotten. Neither the pathogenic *staphylococcus*, *salmonella* and other bacteria which may cause poisoning was found nor the agricultural chemical agents.
2. The said isolated bacteria were respectively tested for toxicity with mice and guinea-pig. They all appearance which may cause death in 4-10 hours (See Table II). The inquest over the dead bodies (See Table III) was made and a great amount of gas was found in the abdominal cavity of the said rats. Meanwhile the doctors who diagnosed the said victims also pointed out that there are apparant abdominal tension during dying. It was corresponding to the results of rat tests.
3. The finding of the poisoning case through various reseaches was that the surfaces of the dissected part of of water melon were contaminated by the said two pathogenic bacteria. Especially, when it was left there without eating for a long time (ten hours), the bacteria were generating promptly under these proper temperature, nutrition and juice. This is the cause of why this poisoning case happened.