

**吉田三郎, 加藤み子: 敗血症患者より分離した一球菌の同定に関する研究****Saburo Yoshida and Emiko Kato: Identification of a coccus which was separated from a septicemic Patient.**

We have separated a coccus from a septicemic patient. To identify this coccus, biological behaviors and resistance against antibiotics were studied about its four stamms.

(Received August 1, 1961)

**1. まえがき**

敗血症の病原菌としてはブドウ球菌, 連鎖球菌が最もよく知られているがその他肺炎双球菌, インフルエンザ菌, 大腸菌等も本病の原因となり得る事が報告されている。

昭和34年5月岐阜市内のH開業医より岐阜県衛生研究所に敗血症の疑いで血液培養の依頼があり培養を試みたところ gram 陰性の溶血性のある一球菌が得られた。その後6月末までに10回に亘ってほぼ同様の球菌が患者血液より培養された。

著者らはこの球菌について集落の性状, 形態, 各種の生物学的性状並びに抗生物質に対する抵抗性等について検討を加えたところ, 本菌は, 敗血症の原因菌として従来殆ど報告されていないものであり, また従来菌の同定には Bergey's manual に依るのが通常とされていたが本菌はこの Bergey's manual では同定し難いものであることが明らかになったのでその大要を報告する。

**2. 患者**

23才の男子で, 昭和34年4月8日頃, 下痢, 腹痛, 発熱があり, この症状はすぐに消退した。4月12日頃より4, 5月の間再び38~39.5°Cの発熱があり患者は感冒と考え, 薬局より薬を買い飲んでいった。(恐らく抗生物質)。このため熱は一時下降したが, 5月に入り再び, 38~40°Cの発熱があり, 5月9日岐阜県医科大学で診断を受けたところ病名は不明とされ, ただ治療薬としてクロロマイセチン30錠(1錠50mg)を服用した。然し熱はあまり下降せず, 5月10日H医院に来診した。H医師は, 発熱その他の経過から敗血症を疑い, 衛生研究所に血液の培養を依頼したものである。衛生研究所で, 患者血液より菌が分離され, さらに抗生物質の抵抗性試験が行われ, これに基づき治療が加えられ6月29日, 7月14日には菌の培養も陰性となり, 病状も消退し病気は治癒した。

**3. 実験に使用した菌株**

患者の血液は, 5月14日, 5月26日, 5月30日, 6月2日, 6月5日, 6月10日, 6月16日, 6月19日, 6月26日, 6月27日, 6月29日, 7月14日の12回に亘り培養が実施され, 6月29日及び7月14日は陰性であったが, 5月14日より以後10回はいずれも陽性であった。実験に使用したのは, 5月14日に分離したものの中から2株(No.1, No.2), 6月10日のものから2株(No.3, No.4)合計4株である。なお対照として, 杉浦株, 大腸菌0-55, ブドウ球菌寺島株を使用した。杉浦株は, 昭和32年秋, 衛生研究所がやはり敗血症患者より分離した gram 陰性の球菌である事からこの杉浦株との比較を行う必要もあるため対照菌株とした。

ちなみに, 血液の培養方法は, 患者の血液(クエン酸ナトリウムで凝固を阻止)2ccを48°Cに保った普通寒天培地20ccに混和しシャーレに流して平板とし, 37°C, 24~48時間培養するのである。出現した集落を普通寒天培地斜面に釣菌して実験菌株とした。

**4. 分離株の集落, 形態発育条件等**

## (1) 集 落

普通寒天平板上の 27°C, 24 時間後の集落の性状は, 直径 1~2 mm の円形で, 半球状に隆起し, 帯白色で光沢がある. 透過光線で見ると半透明で内部構造はない.

## (2) 発育条件

本菌株を普通寒天斜面培地に接種し, 37°C, 27°C 及び室温 (10°C 位) で培養を試みたところ, 第 1 表に示すように, 27°C が最もよく発育した. また細谷氏の嫌気瓶を使用しこれに CO<sub>2</sub> ガスを送りこみ嫌気性として培養したところいずれの株も発育した.

第 1 表 培養条件による発育状況

Strain No.		1	2	3	4	杉浦	0—55	寺島
好 気 的	27°C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	37°C	++	++	++	++	+++	+++	+++
	室 温	++	++	++	++	+++	+++	+
嫌 気 的	27°C	++	++	++	++	+	+	±

## (3) 形態およびグラム染色

普通寒天培地を用い, 37°C, 27°C, 室温の各種の温度で 24 時間培養し, メチレン青, フクシンで染色して形態を見たが, いずれの場合も球状を呈し, その配列には特定のものが見られなかった.

またグラム染色を試みたが, いずれの場合もグラム陰性であった.

## 5. 各種の糖の分解

伝研学会編の細菌学実習提要に従って, 分離菌株についての各種の糖分解試験を行った. 用いた糖は, glucose, lactose, fructose, rhamnose, arabinose, galactose, maltose, sucrose, dulcitol, salicine, ado-

第 2 表 各種の糖の分解

Strain No.	1	2	3	4	杉浦	0—55	寺島
Arabinose	—	—	—	—	—	+1	—
Xylose	—	—	—	—	—	+1	—
Glucose	—	—	—	—	—	+1	+2
Fructose	—	—	—	—	—	+1	+2
Galactose	—	—	—	—	—	+1	+4
Maltose	—	—	—	—	—	+4	+4
Lactose	—	—	—	—	—	+1	+2
Rhamnose	—	—	—	—	—	+1	—
Sucrose	—	—	—	—	—	—	+2
Adonitol	—	—	—	—	—	—	—
Dulcitol	—	—	—	—	—	+2	—
Glycerine	—	—	—	—	—	+2	+7
Salicine	—	—	—	—	—	—	—

(+1: 1 日目に分解したことを示す. 他も同様)

nitro, xylose, glycerine, の13種類である。

これらの糖を Barsiekow 培地を使用して実験を試みた。

(Barsiekow 培地というのは、糖0.5g, プペトン1g, 食塩0.5gを水100mlに加えこれを加圧滅菌して約3mlを試験管に入れ、更に糖分解による酸の産生の有無を見るために指示薬として B. T. B. 色素を入れたものである。) 観察は2週間行った。その成績は第2表に示した通りであるが分離株は No. 1, 2, 3, 4ともいずれの糖も分解しなかった。対照に用いた杉浦株は同様、いずれの糖も分解しなかったが、大腸菌 0-55, ブドウ球菌 寺島株は成書通りの成績を示した。

### 6. その他各種の生物学的性状

細菌学実習提要に従って、次のような各種の試験を行った。即ち

- (1) インドール産生の有無
- (2) Voges-Proskauer 反応 (ブドウ糖分解産物である Acetylmethylcarbinol の産生の有無をみる)。
- (3) Methyl Red 試験 (培地が酸性になるか否かをみる)。
- (4) シモンズのクエン酸ナトリウム培地に発育するか否か (C源としてのクエン酸ナトリウム, N源としてリン酸二水素アンモニウムの入った培地)。
- (5) 硝酸塩培地を還元するか否か。

第3表 その他の生物学的性状

Strain No.	1	2	3	4	杉浦	0-55	寺島	0×19
Indole の 産 生	-	-	-	-	-	+ <sup>1</sup>	-	-
Methyl Red 試 験	-	-	-	-	-	+	+	-
Voges-Proskauer 反 応	-	-	-	-	-	-	-	-
Ammonium Citrate	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	-	-	-
Urea の 分 解	-	-	-	-	-	-	-	+
Catalase の 産 生	-	-	-	-	+	-	+	-
KNO <sub>3</sub> の 還 元	±	±	±	±	-	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	-
Litmas milk { Acid の 産 生	-	-	-	-	-	+ <sup>1</sup>	+ <sup>5</sup>	-
	-	-	-	-	+ <sup>4</sup>	-	-	-
Milk Agar (色 素 産 生)	-	-	-	-	-	-	G. Y	-
Potato (色 素 産 生)	L. B	L. B	L. B	L. B	-	-	G. Y	-
Löffler { Pigment	-	-	-	-	-	-	G. Y	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
S. I. M. 培 地 { Motility	-	-	-	-	-	+	-	-
	-	-	-	-	-	+ <sup>3</sup>	-	-
Gelatin の 液 化	-	-	-	-	+ <sup>4</sup>	-	-	-
溶血性 (兎) { 24hr 後	-	-	-	-	+	-	±	-
	-	-	-	-	+	-	+	-
	+	+	+	+	+	-	+	-
Peroxidase 産 生	-	-	-	-	+	-	-	-

G. Y=Golden Yellow

L. B=Light Braun

+<sup>3</sup>: 3日目に陽性となったことを示す。

(6) 牛乳寒天培地およびジャガイモ培地における色素の産生の有無.

(7) Löffler 培地における色素の産生および培地の溶解の有無.

(Löffler 培地というのは, ウマ血清 300ml を 1%ブドウ糖ブイヨン 100ml に混合して斜面培地とし, 血清凝固器内で間歇滅菌をしたものである).

(8) S.I.M. 培地における硫化水素の産生および運動性の有無 (S.I.M. 培地というのは, 肉エキス 3g, ペプトン 30g, チオ硫酸ナトリウム 0.05g, 塩酸シスチン 0.2g, クエン酸鉄アンモニウム 0.5g, 寒天 5.0g を水 1000ml に加えたもので, H<sub>2</sub>S 産生により黒変する).

(9) ゼラチンを液化するか否か.

(10) リトマス牛乳培地の酸産生による凝固の有無.

(11) Catalase および Peroxidase 産生の有無.

(12) 尿素の分解の有無.

(13) 溶血性の有無.

この 13 項目 18 種類についての試験の結果は第 3 表に示したが, 分離株は, クエン酸を利用するがその他の生化学的試験は殆ど陰性で, 生物学的に不活性であった. また溶血性 (兎の血液) は 72 時間後において  $\beta$  型の溶血を示した.

## 7. 薬剤耐性

ストレプトマイシン, クロロマイセチン, テトラサイクリンに対する薬剤耐性試験を行った.

試験方法としては, 今日, 拡散法 (寒天平板拡散法, 重層法), 系列希釈法 (液体培地を用いる法, 固形培地を用いる法), 比濁法があるが, 著者らは, 固形培地を用いて系列希釈法で行った. すなわち, Hear+Infusion 培地 20cc に各抗生物質を加えて, 100 r/cc, 50 r/cc, 25 r/cc, 12.5 r/cc, 6.25 r/cc, 3.12 r/cc, 1.56 r/cc, 0.78 r/cc, 0.37 r/cc, なる希釈系列となし, これをシャーレに流して平板とし, これに 24 時間培養の菌を接種し翌日菌の発育の有無を見るのである.

菌が発育した最高濃度をその菌のその抗生物質に対する抵抗性とする.

その成績は第 4 表に示したが, 分離株はストレプトマイシンに対していずれも  $<0.39$ , クロロマイセチンに対しては 3.12, テトラサイクリンに対しては 3.12~6.25 の抵抗性を示した.

第 4 表 薬 剤 耐 性 (抵抗性)

Strain No.	1	2	3	4	杉 浦	0-55	寺 島
ストレプトマイシン	$<0.39$	$<0.39$	$<0.39$	$<0.39$	$> 100$	0.78	25
クロロマイセチン	3.12	3.12	3.12	3.12	6.25	3.12	1.56
テトラサイクリン	6.25	3.12	3.12	6.25	12.5	3.12	0.39

## 考え方およびむすび

敗血症患者より分離された gram 陰性の球菌の中の 4 株を選び, 成書に従い各種の生物学的性状, 抗生物質に対する抵抗性について検討を加えてみた.

従来, 敗血症の原因菌の中, 球菌として知られているものは既に述べた如く, ブドウ球菌, 連鎖球菌が最も代

表的のものであるが、この他 *Neisseria subflava*, 肺炎双球菌等も報告されている。

著者らがここに検討を加えた菌は、未だ、血清学的性状を明らかにしていないから直ちに結論する事は危険であるが、本菌はここに挙げた、ブドウ球菌、連鎖球菌、*Neisseria subflava*, 肺炎双球菌とは糖分解の点よりみて異なる事は明らかである。そこで本菌を Berggy's manual (1954年版)について見ると、gram 陰性、球菌、糖を分解しない事の点より *Neissera Catalis* に属するように考えられる。

然し既に *Neissera Catalis* として同定された杉浦株を比較するとき、Catalase 及び paroxidase, Litmas, milk, gelatin, の3点において一致しない。

この事は、菌の同定がこのような生物学的性状によって考えられる従来の考え方になお一考を要することを提起するものであろう。

また供試4株は、ストレプトマイシン、クロロマイセチンに対してはそれぞれほぼ一定の価を示したが、テトラサイクリンに対しては、3.12~6.25と若干の動揺が見られた。これはテクニクエラーによるものか或は菌自体によるものか不明であるが、抗生物質を治療に使用されていることから菌の変異であるとも考えられる。

終りに臨み本研究に多大の便宜と激励を賜った。恩師岐阜薬科大学学長宮道悦男先生、直接御指導賜った岐阜県衛生研究所井上博士、岐阜薬科大学広瀬先生に深謝の意を表します。

#### 吉田三郎：醱酵副生物による酒質判定の衛生化学的研究

### Saburo Yoshida: Hygienische Untersuchung von Sake (Japanische Wein) bezüglich ihre Urteilung mit der Menge von der Gährungsnebenprodukte.

Vor einigen Jahren hat H. Rebelein erstmal die Alkoholische Gährung von dem stechiometrischen Standpunkt beobachtet und die Beziehungen zwischen der Menge der Gährungsnebenprodukte (Glycerin u. Butylenglykol) und der des Gährungsalkohols begründet. Es wird diese Arbeit auf die Untersuchung von Sake (Japanischer Wein) übertragen und die dabei erhaltenen einigen vertieften Erkenntnissen werden mitgeteilt.

(Received August 1, 1961)

#### 緒 論

清酒は複雑な醸造工程を経て製せられ、その個々の過程については不明な点が多い。市販されるものは夫々品質に応じて、特級、一級、二級酒として取扱われ、その試験項目としては Alcohol 含量、エキス分、鉍物質、酸類、糖質、総窒素、フーゼル油等があげられるが、規格は殆ど Alcohol 並びにエキス含量によって決められる。これらには決定的な判定の基礎に乏しく、特に戦後 Alcohol 添加が酒造の常法となった今日むしろ感覚的な試験に傾く実情である。

欧米ではブドウ酒の判定にその副生物たる Glycerin 含量が従来論議の対称となり、又最近では Butylenglykol 含量が酒質判定の一助とする研究が採り上げられこれらの成分測定が単に酒質の衛生化学的な判断に留らず又課税の対称としての問題も包括している。

清酒について果してどの程度に価値づけられるものか、あるいは酒質判定に現今許されている Alcohol 添加量(白米 1500kg に対し 30% Alcohol 1.44L まで許可されている)に対し化学的な鑑定法を求めため本研究を計画した。