原 著

保存血に於ける細菌汚染の実験的研究

千葉大学腐敗研究所 (主任 相磯和嘉教授)

小 島 竜 男

EXPERIMENTAL STUDIES ON BACTERIAL CONTAMINATION IN BANKED BLOOD

by

Tatsuo KOZIMA

Institute of Food Microbiology, Chiba University, Chiba

(Director: Prof. K. Aiso)

Abstract

The growth curves of three experimentally contaminated strains of *Pseudomonas* and one of *Aerobacter aerogenes* in banked blood were shown.

During first 24 hrs. after inoculation, the viable number of bacteria decreased remarkably on account of bactericidal activity of serum, but surviving cells started again to grow during the following 24 to 48 hrs., the growth being completed in 7 to 14 days.

Seventy-one per cent of 40 strains grew abundantly in banked blood when incubated at 5~6° C, while only one strain among other water bacteria (21 strains of *Achromobacter*, *Alcaligenes* and *Flavobacterium*) multiplied under these conditions.

Therefore, it is obvious that *pseudomonas* is the most dangerous contaminant among water bacteria.

In order to explain the mechanism of shock syndrome developing after the transfusion of contaminated blood, the effects of intravenous injection of washed bacterial cells into experimental animals were investigated.

A remarkable depressor action was demonstrated when the cell suspension of either *Aerobacter* or *Pseudomonas* was injected. On

the other hand, the action was not significant with *Micrococcus*. Should an accident occur, it is necessary to isolate the contaminated bacteria from the patient or after death.

The author demonstrated that if the contaminant was coli-aerogenes group organism, the causative agent was easily isolated from the human materials. However, the isolation was not successful in the case of *pseudomonas*, because the water forms of *pseudomonas* were destroyed in an early stage of injection.

緒 言

我が国に於て1951年加藤教授によつて始めて血液銀行が設立されて以来、ここに8年の才月が経過した。保存血利用は今日益々盛んになると共にこれが近代医学に貢献する事測り知れぬものがある。しかしその半面、保存血輸血に伴う副作用も少くない。此の中で細菌の濃厚汚染を受けた保存血輸血による副作用の報告が時折学会雑誌に発表される様になつた。

1953年千葉大学に於ける保存血輸血による致死事故を始めとして、現在迄に発表或いは確認されたものに、1955年3例、1956年2例、1959年2例

(6月1日現在)がある。此れ等の事故例は外国の文献を合わせると36例中21例が死亡しているので致命率58%となり、如何に危険なものであるかが窺われる。その他に輸血後、病因不明のショック症状で死亡し、家族に此の事故の発覚を恐れ、補償費の問題や法廷闘争の繁雑を避ける意味で世に出ず葬られてしまう事をも考え合わせれば、此の数字は更に高率になるであろう。

此の種の事故に対して当研究所に於ては相磯和嘉教授¹⁾の我が国第1例の報告を始めとして多くの研究報告がある。又事故の原因となり得る汚染菌で保存血中から当研究所で分離同定された菌種は約36株を数えているが、著者は保存血利用の盲点とも云われる此れ等副作用の防止のため、此の問題に関する基礎的実験を行つたので茲に報告し、御批判を仰ぐ次第である。

I. 水棲菌及び腸内細菌に於ける好冷菌の分布

保存血輸血事故で細菌の濃厚汚染により発生する事故の中、報告されているものでは総べての事故に於て、輸血された保存血中に生きた細菌が1cc当り1億から数億含まれていた事は間違いない事実である。此の汚染源が水、土壌、空気、器物にあるため汚染細菌の種類は水中菌、土壌菌、空中菌と非常に広い範囲にわたっている。Braude²⁾によれば表1に示す如く、広い意味での汚染

表1 血液銀行より搬出される前の39汚染血からの分離菌 (Braude)

菌 種 名	汚染血の数
Staphylococcus	21
coagulase (+)	2
coagulase (—)	19
Micr. Tetragenesis	4
B. alkaligenes	3
Diphtheroid	3
Str. viridans	2
B. Subtilis	2
Paracolon	1
Enterococcus	1
Ps. aeruginosa	1
B. freundii	1
計	39

細菌はグラム陽性球菌が一番多く、グラム陰性桿菌が分離された例は6株であると云う。此の中グラム陽性球菌では葡萄球菌、連鎖球菌、腸球菌や非病原性のミクロコッカスがあり、又グラム陽性桿菌では Diphtheroid, spore-forming bacteria 等であるが、グラム陰性桿菌では Coli, aerogenes group, 水中菌として Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, 腐敗菌として Proteus, Serratia 等がある。

保存血液を採血して後早期に無菌試験をして見ると汚染菌には球菌類が多いが、保存も後期となつてくれば若し検出されるとグラム陰性桿菌が多い。当教室の鴻³⁾は、各血液銀行で分離して送付されて来た汚染菌25株の細菌学的研究を行い報告した。

表2 某血液銀行で分離された汚染菌の同定 (小島)

菌 種 名	菌種数
Paracolon bacterium aerogenoides	5
Aerobacter	5
Proteus morganii	1
Serratia	1
Pseudomonas	1
Achromobacter	1
Bacillus	7
Micrococcus & Tetragenesis	5
計	26

著者は1958年京阪神の某血液銀行より送付された汚染菌26株の分離同定を行い、表2にある如き結果を得た。此れ等の表に見る如く Paracolon, Aerobacter, Escherichia, が比較的多く、Pseudomonas, Alcaligenes, Achromobacter, 等も良く出現していて汚染の実体を窺い知る事が出来た。

一たん保存血中に混入した菌も普通は凡そ次の理由から保存中でその増殖は阻止される。即ち1つは血清の殺菌作用であり、他は低温保存である。併し不幸にして汚染菌が血清の殺菌作用に抵抗性のある菌か、又は保存中に低温其他の理由により殺菌作用が不活性化されるか、又或いは汚染菌量の多い場合であつてしかもその菌が4~6

表3 汚染血に因る輸血副作用と原因細菌

汚 染 細 菌	事件 数	患者 数	転帰
Escherichia	5	5	死4, 生1
Aerobacter	3	7	死6, 生1
Paracolonbactrium	3	4	死4
Escherichia and Strept.	1	1	死
Pseudomonas and Escherichia	1	2	死1, 生1
Pseudomonas and or E. freundii	2	3	死2, 生1
Pseudomonas and or Aerobacter	1	1	生
Pseudomonas 外3種の菌の混合汚染	1	1	生
Achromobacter	2	2	死2
Alcaligenes faecalis	1	1	死
Diphtheroid	1	1	生
Enterococcus	1	1	生
菌 不 詳	1	1	死
記載なし	2	7	死2, 生5

℃の低温で増殖する能力を持つている菌種か菌株である場合、保存血中で増殖した時には1cc当り数億にも達する訳で当然副作用は避けられない。現在迄の此の種副作用の報告を原因菌別にまとめて見ると表3の如くなり、汚染菌の中多くのものが冷蔵温度で増殖可能の菌であつて、此の際の汚染菌はグラム陰性の低温菌株か、若しくは中温菌中の低温増殖様に限られている。従つて我々はこゝではグラム陰性桿菌特に好冷菌である螢光菌を中心とした水棲菌と、中温細菌である大腸菌群の好冷菌種に問題の焦点を合わせて良いと考える。所謂中温菌と云われる細菌はその発育温度の範囲も狭く、38℃～27℃以外は増殖しない菌種であるが、中には4～6℃の低温で増殖可能の好冷菌株が変異株として混在している。

Aerobacter, Escherichia freundii, Escherichia coli, 等の所謂 Coliform bacteria が事故の原因菌であつたケースが非常に多いのは此の低温変異菌によるためと思われる。相磯教授⁴⁾は当研究所に於て中温細菌として主として27℃で培養分離した非病原菌 403株について、1%葡萄糖ブイヨンを用いて4～6℃で7日培養して濁濁により発育の如何を判定する方法で低温増殖株が

どの程度存在するかを調べたが、その結果、21株5.2%に好冷菌株が見られた。此の中、グラム陰性桿菌丈をとると6.2%となり、大腸菌、エロバクター、プロテウス、菌の何れにもその存在が証明された。

水棲菌については自然界に於ける分布が広く、汚染の機会は極めて多いものである。例えば当教室の鴻は、自然物から0～4℃で2週間培養して釣菌した菌の9株の菌種別分布を見る実験を行っているが、水棲細菌に属するものが圧倒的に多い。

著者は又同様の方法で後述した如く Pseudomonas 40株, Achromobacter 4株, Alcaligenes 7株、(当教室長谷川、中村、志賀らが食品、水、土壤から分離した)を用いて実験した。

Ⅱ．好冷菌の保存血中での増殖実験

好冷菌が保存血液の低温保存中に一定の速度で増殖をとげる事は、相磯⁵⁾、鴻³⁾等によつて実験的な研究が発表されているが、著者は此の問題について更に細い点を再検討した実験を試みた。

相磯等の低温菌の増殖曲線を見ると、菌移植後2～3日後増殖を始め、4～7日で対数期に達し、8～14日で定常期となつている。その形は大体中温菌のそれと同様であつて、只あたかも中温菌の増殖曲線の時間の目盛を日の目盛に換えた場合と同様である。併し両者の曲線に相違のあるのは、誘導期にあたる移植後24～48時間に於ける移植菌の消長である。此れも移植菌の多少により違いのある事が推定される。此の点を追求して見た。

実験方法：菌を1%葡萄糖ブイヨン中にて48時間増菌培養し、1cc当り数千個～数万個の割合ににし、前もつて10cc宛分注した中試験管中のA C D液加血液に分注、よく振盪混和し、正確に4～6℃に保たれた電気冷蔵庫中に保存した。菌移植後よく混和してその一部をとり移植菌数を菌数計算し、その割合を確かめ以後2時間、4時間、24時間、14日間の菌数の消長を観察した。使用した菌株は4株で Pseudomonas 3株と Aerobacter BD 株1株である。

実験成績：

図1 ACD液加保存血に於ける移植細菌の消長
(24時間以内, 移植菌量多き場合)

註 P—*Pseudomonas* BDW—*Aerobacter aerogenes*.

1. ACD液加保存血に於ける短時間の菌数の消長

菌移植は少々大量1 cc当り10万～15万個前後として、その直後より2時間、4時間、24時間の菌数の消長を観察した。図1に見る如く各時間共4株の菌に於て菌数の激減を認めている。特に *Pseudomonas* 40に於ては2時間に於ては約400分の1と激減、24時間にて約150分の1と若干増加している。*Aerobacter* BDW株に於ても2時間にて30分の1、24時間にて約16分の1と減少している。*Braude*の詳細なる実験によつては、室温で被験菌の中グラム陽性菌の47%、グラム陰性菌の53%が血液中で殺菌若しくは発育阻止が見られたが、此の作用は被験菌の菌種、菌株により著しい差異があり、他方血液の側の個人差も認められている。保存血の菌増殖は此の血清の殺菌、発育阻止作用が欠除したか、又は保存中に失われた場合にのみ見られると論じている。

勿論実際の場合、血液の汚染に関係する菌は1種と限っていないし、4～6℃に於て増殖する菌についての比較実験は信すべき文献が無いのであるが、汚染菌の大部分は低温に於て血液中で死滅するのであるが、若干のものが殺菌作用に抵抗して増殖する能力のある事も明らかであるし、又低温に於て殺菌作用そのものが部分的に不活性化される傾向も否定出来ないものである。

図2 移植菌量少き場合

(註) P—*Pseudomonas*. BDW—*Aerobacter aerogenes*

図3 汚染細菌のACD液加血液中に於ける低温増殖曲線

(註) P—*Pseudomonas* BDW—*Aerobacter aerogenes*

2. ACD液加保存血に於ける短時間の菌数の消長

次に菌数を1 cc当り最低5,600個から最高12,000個程度として前回の10分の1の菌量を移植して、同様にして2時間、4時間、24時間の菌の消長を観察した。図2に示した様に結果は *Aerobacter* BDW株に於ては約100分の1と激減せる他、皆一様に減少著明であつた。従つて此れ等の成績を採用して2週間培養の増殖曲線を描くと図3の如くなる。

3. *Pseudomonas* 属菌株の低温増殖

表4 *Pseudomonas* 40株の低温増殖（5℃）

ブイヨン中の発育		人血液中での発育 (cc当り菌数)	
高 度	23*	10 ⁵ 以上	7*
		10 ⁷ ~10 ⁸	8
		10 ⁹ ~10 ⁷	8
中 等 度	10	10 ⁵ 以下	10
軽度並びに陰性		0	0

* 数字は菌株数

水棲菌の代表的菌等である *Pseudomonas* の保存血に於ける低温増殖については相磯、鴻等によつて報告されているが、本研究所保存株のうち *Pseudomonas* と同定されている40株⁶⁾ を使用してブイヨン中の低温培養及び保存血中の増殖を観察した。表4にあげた如くブイヨン1cc当り10⁵ 程度に移植したがその殆んどは7日の保存期間にて已に10⁷~10⁸程度に迄発育し、maximumに達すると考えられる。此の菌株のうち中等度以上に増殖した33株に1cc当り10⁴ に移植した場合、人血液中では5℃7日培養で1cc当り10⁶ 以上に増殖した株が23株71%を示し、10株が10⁵ 以下であつた。ブイヨンの場合に比し人血では増殖の比率は低下するが、それにしても如何に此の菌が濃厚汚染の原因菌となり得る可能性の多いかを示すものである。

4. *Alcaligenes* & *Achromobacter* による実験

本研究所菌株保存株中の *Alcaligenes* & *Achromobacter*⁷⁾ 11株を使用して本実験を行つた。此の菌株は人血中に於て *Pseudomonas* に比して低温菌でありながら、増殖する比率が極めて低い事が特徴的である。併し内外の文献により *Achromobacter* の事故例も2例に見られるし、相磯教授によれば或る程度人血中に増殖可能の株がある事が判明しているの、染汚菌としてやはり注意する必要があるが、只 *Achromobacter* は同定が非常に難しく、*Pseudomonas* を誤つて *Achromobacter* とする危険が少くないので、本菌の意義については尙慎重な検討を行うべきであらう。

5. *Flavobacterium* による実験

表5 *Flavobacterium* 10株の低温増殖

菌 株	人血 5℃, 7日培養 (cc当りの菌数)
F 45	0
S W	0
19	0
11	0
F 11	0
17	0
24	0
V11	93×10 ⁵
F 10	0
27	0

本研究所菌株保存株中の *Flavobacterium*⁸⁾10株を使用して本実験を行つた。此の際A C D液加保存血中増殖を認めたのは表5に示した如く1株であつた。前回相磯教授は *Flavobacterium* 85株中24株に好冷菌株を認めている。

6. *Proteus* による実験

本菌は腸内細菌の1つに数えられているが広く自然界にも分布し、蛋白分解作用の強い所から好気性腐敗細菌の代表的なものである。健康な人の腸にも10%前後検出されるし、*Proteus morganii* 等は古くから小児の下痢症と関係があると考えられて居り、又食中毒菌の1つにも擬せられている。

1%加ブイヨン 中にての低温増殖を *Proteus morganii* 9株を用いて実験した。全管に増殖を認めたが人血中では1株が僅かに30×10⁴ 程度に増殖したかに見えた丈で他は明な増殖は認められなかつた。此の中 *Proteus morganii* AY 株は、相磯、柳沢教授等によつてサンマ桜干し中毒検体に蓄積されているヒスタミンの産生源となつている菌株である。試みに本株を人血中に移殖して27℃で培養した場合の実験ではpH 6.8を示し、ペーパークロマト法にて測定し得る程ヒスタミンの産生は見られなかつた。

Ⅲ. 汚染菌輸入による血圧降下作用

前述の如く多数の汚染菌の種類の中で、低温で増殖し血液1cc当り10⁷~10⁸ 以上に増殖するものがあるわけであるが、此の様な汚染菌混入保存血輸血による副作用の症状は現在迄に報告せられて

いる例に見る如く、汚染菌の種類により2つに分けられる。その1つは非病原性のグラム陽性球菌及び桿菌、他の1つは非病原性グラム陰性桿菌の場合である。前者は比較的短時間で恢復し、全身状態も極度に重篤とならず、1局部症状、1又は2の自覚他覚的症状をもつて発病し、或る程度の治療を要するか又は要せずして恢復するものである。

後者は全く重篤となり、強力な治療をもつてしても恢復しない場合が多い。症状は **shock syndrome** であり、**peripheral vascular collapse** である。輸血中或いは輸血後1時間、遅くも数時間内に悪寒戦慄と共に血圧の急激な下降が始まり悪心、嘔吐、発熱が必発である。激しい下痢、痙攣様の腹痛、尿閉も屢々見られる。末梢部のチアノーゼも顕著である。

此の症状を実験的に簡単に再現するには、血圧降下作用と発熱作用である。発熱については菌体内発熱物質ピロジェンの存在が証明されている。著者は此れ等の点につき次の如き実験を行った。

実験方法： 1%葡萄糖ブイヨンにて供試細菌を48時間培養後遠沈、水洗してこれを3~4回繰り返して得た菌体を秤量、湿菌量を定め、食塩水に浮遊させ此れを家兎耳静脈中に徐々に注入し、注入前血圧、注入後の血圧を非観血的方法(福田・川口式)血圧測定器にて測定、5分又は10分毎に記録を行つた。

1. *Aerobacter aerogenes* BD 株の場合：

使用家兎 2.3kg の湿菌量80mgを注入するに徐々に血圧下降起り、呼吸促迫となり、鼻尖はチアノーゼを呈し、瞳孔は軽度に散大し、かつ動脈収縮状態著明となり、狂騒状態となる。注入後35分にして最高血圧で60mmHg、最低血圧で50mmHgの低下を認む。尙此の状態は24時間後も続き下痢激しく、血圧は最高血圧40mmHg、最低血圧0にして衰弱激しく26時間にして斃死した(図4)。

2. *Micrococcus* 2 A18-1 菌株の場合：

使用家兎 3.0kg の同様の方法にて湿菌量を少々大量 200mgを家兎耳静脈内に注入した。注入後25分

図4 汚染血注射家兎の血圧曲線
(*Aerobacter aerogenes* BD株)

図5 汚染血注射家兎血圧曲線
(*Micrococcus* 2 A18-1 株)

図6 汚染血注射家兎血圧曲線
(*Pseudomonas* AHH-21株)

にして最高血圧で15mmHg、最低血圧で18mmHgの低下を認めたに過ぎなかつた。即ち血圧下降物質の含有量は **Coliform bacteria** 並びに後述の **Pse-**

udomonas に比較して顕著に少い事が判明した(図5).

3. *Pseudomonas fluorescens* 21株の場合:

使用家兎 4.1kg ♂同様の方法にて湿菌量 100mg を家兎耳静脈に注入後, 10分後から徐々に下降し初め, 55分後に至りて本格的に血圧下降し, 注入後80分に至る間に最大血圧で54mmHg, 最低血圧で50mmHgの低下を認めた(図6).

IV. 輸血事故の際の汚染菌の検査法

1. 分離菌の同定, 並びに低温増殖試験.

2. 副作用のあつた場合の残存血液, 患者死体からの分離.

3. 血液銀行或いは病院に於ける輸血前の無菌検査等が主な問題となる. 前述した如く保存血の細菌が増殖しても此れを肉眼的に判別する事は困難な場合が多い. 従つて汚染血輸血の機会をなくするためには何等かの方法で輸血する直前に発見する方途を考えなくてはならない. 最も簡単で効果があると思われるのは, 輸血前に病院で直接塗抹標本にて単染色又はグラム染色で鏡検する事である. しかし此れは輸血を絶対的に信頼している医師の間では到底耳をかさぬ事実で, 術前又は輸血前の繁雑さにまぎれて実行出来ない事が多い様である. しかしやれば簡単な事であるし, 少く共濃厚汚染又は誰でも容易に発見し得る. 現に嬉野病院に於て岩永氏等は輸血直前に此の方法で汚染を発見し患者を救つてゐる. 従つて無菌検査はどうしてもやらなければならぬ手続きである.

次に事故者の検査として, 輸血に用いた血液の一部5ccを氷室に24時間保存しておく習慣があれば事故の時, 残存血液で迅速に原因の究明が出来る. 培養試験にては前述の菌を目標とする限りに於て, 血液寒天を用いる必要はない. 普通のブイヨン寒天培地で *Coliaerogenes group*, *pseudomonas* は必ず捕捉出来る筈である. 但し此の際注意しなくてはならないのは培養温度である. *Coliform bacteria* の時は37°Cで良いが *Pseudomonas* では *Pseudomonas aeruginosa* を除いて他の菌種では37°Cでは発育しないか, しても極めて弱い. 20~27°Cの孵卵器があると最も好都合で

ある. 尤も20°Cの孵卵器は普通のものでは調節がむずかしく, 冬以外は使えない. 実験室の室内温度より少し高い27°Cのものがあればそれが一番良い. 37°C丈では好冷菌を落す危険が極めて多い.

4~6°Cの孵卵器でも良いが, 増殖に時間がかかり診断的の意味では遅い. 矢張り20~27°Cの孵卵器で24時間, 時には48時間培養する必要がある.

次に患者又は死体から汚染菌を分離する場合には *Coliform bacteria* では容易に分離出来るが, *Pseudomonas* の場合はその分離がかなり困難である. 此れに関して次の実験を試みた. *Aerobacter*, *Pseudomonas* の増殖高度に達せし slautより菌をかき取り, 菌量を測定しておき食塩水に浮遊させて家兎耳静脈へ注入した. *Aerobacter aerogenes* BD 株の培養菌体60mgを10ccの食塩水に浮遊して家兎に注射して60分, 3時間, 6時間毎に採血し, 死後各臓器について菌の分離を行つて見ると, 60分ではcc当り数万個の菌が証明され, 3時間で減少し, 6時間で再び数万個が証明された. 6時間30分で斃死したので肝, 脾, 腎について分離を行つたが総ての例に於て多数の菌が分離された. 所が *Pseudomonas fluorescens* の90mgを同様に注射すると, 60分, 3時間では平板にも菌数算定用培地にも集落は見られず, 3時間30分で斃死したが心, 肝, 脾, 腎の各臓器からも24時間培養では集落は見られなかつた. しかし48時間経過すると若干の集落が出現し, 血液1cc当り60個の集落を認めた. 此の様に *Pseudomonas* の場合は注意して丹念に観察しないと見落す程に分離困難のものである. 此の理由は納得のいく程度には明らかではないが, 生体に注入された *Pseudomonas* は急速に死滅して行く事が観察された.

此処で昭和31年11月1日~30日間, 全国49カ所の大学病院, 国公立病院の協力により行つた保存血細菌汚染調査報告を東大輸血部の調査統計⁹⁾¹⁰⁾により検討して見ると次の如くである.

1. 培養試験: チオグリコレート流動培地使用 4800本中, 細菌陽性数79本, 陽性率1.62%.

2. 塗抹標本試験: 3週間迄 4本中 2本37°C,

2本22°C~25°C, 4527本中24本, 陽性率0.53%.

3. 培養温度別陽性例: 79例中37°Cのみ⊕は37本, 46.8%, 37°C25°C共に⊕は23本, 29.1%, 25°Cのみ⊕は19本, 24.0%となつて居る. 此の値はBraude, Pittmannの調査に比して稍低い値が出ているが此れが直ちに我が国の血液銀行の優秀性を現わしていると見て良いかどうか疑問である. 恐らく調査を繰返し技術が熟練する事によつて少し高い汚染率が立証される事と推定されると相磯教授は報告されている.

4. 分離菌の同定並びに低温増殖試験:

己に述べた如く, *Paracolobacterium* を初めとして, *Aerobacter*, *Escherichia freundii*, *Escherichia coli* 等の所謂 *Coliform bacteria* が事故の原因菌となる事が多いが, 我々は Bergy's manual 1948年版に従い分類を進めている. 只 *Escherichia* よりも乳糖を遅く分解する *Paracolon* に注意する事が必要である. *Pseudomonas* の同定については *Protease pepton glycerol* からなる螢光色素産生培地の使用が便利である.

分離菌の低温増殖試験には, ACD液個人血液に1cc当り $10^3 \sim 10^4$ 程度の菌を移植して菌数を概ね計算し, 5°Cで7~14日間培養して菌数計算を行う. 尙其他の検査法として最近黒川等は輸血直前に短時間にて汚染の有無を検する方法として, 汚染細菌の代謝産物を化学的に定性又は定量測定する事, 及び代謝過程中の酵素の反応を測定する事により検出する事を試みた. 同氏等は目下実験続行中である.

考 按

保存血液の細菌汚染に因る輸血副作用は臨床医学の立場から症候, 治療, 予防の問題として採り上げなければならないのであるが, 同時に衛生細菌学の立場からも汚染経路, 汚染細菌の低温発育, 副作用の発生機作等病因に関する面で研究の対象となる分野が少くない. 著者は後者の衛生細菌学の側に立つて相磯研究室の此の方面の研究の一環として汚染細菌をめぐる諸問題について研究を進めた. 問題となる汚染細菌を *Pseudomonas*

を中心とする水棲細菌と *Paracolobacterium* を中心とする大腸菌群の2グループにしぼつた事については, 相磯教授等の再三に亘る報告で明確になつておるので説明を要しない.

ACD液個人血液中に上記の汚染菌を移植して実験的に増殖曲線を描いて見た時, 最初の24時間に起る菌の消長については此れ迄詳細の報告はなかつた. 此の時期は普通の細菌の増殖カーブの誘導期にあたるものではあるが, 意味は全く異つており, 低温と, 血清の殺菌力に抵抗する斗争の場であつて, 少数の適応菌が撰択されそこから誘導期が始まるわけである.

汚染源としての *Psychrophiles* の分布, 腸内細菌に於ける *Psychrophilic strains* の分布について鴻³⁾の報告に次いで蒐集菌の分類の修正をまつて再検討し, より正確な数字を出す事が出来た. 汚染菌の輸入による重篤な shock 症状はその1つの現れとして強い血圧降下を伴うものである. 此の血圧降下原因物質が輸入菌の菌体成分に含まれるのをかなり正しく認むことが出来, その物質の分布が菌の種類によつて相違する事を実験的に証明し得た.

汚染菌の検査法の手技については汚染菌が所謂非病原細菌であるため, 不慣れの人が多い事を予想して詳しく記載した.

汚染菌の侵入経路, 侵入後の増殖阻止の実験は特に行わなかつたが, 此の問題については最近フライブルグ大学の Heilmeyer 内科教室の Matthes¹¹⁾の研究がある. それによると給血者の血液を採取する場合, 瓶内の陰圧のため, どこからか外界の空気が入つて細菌汚染を起す事が精密検査で証明された. 勿論 Matthes は今迄採取血液を消毒する目的で20種以上の薬物が用いられたが余り効果なかつたが, 空瓶を高圧蒸気釜で消毒する時に瓶内に静注用クロラムフェニコール (CM) の3mg%を入れて置くこととした. 加熱するとCMの効果は30%減少するが, 1lの血液に対しては0.1mgCMを加えた程度となる. Matthes が特にCMを用いた理由としては, 空気による細菌汚染としてグラム陰性の大腸菌や *Pseudomonas*

が多いので、此れ等に対してCMが他の抗生物質よりも最も有力に作用する事、又人体に抗原性感作を起す事も少ない事、更に細菌のCM耐性を惹起する事も稀れである事等から用いたものである。その上静注用CMを葡萄糖液に溶かして血沈を採取する前に、或いは後に適量瓶に入れて陰圧を調節し、或いは除去し得るから特に選んだと言う。同教室では此の様に25000回の保存血液を使用して1度もCMの感作作用を起さず、又従来見られた発熱や血行反応も $\frac{1}{3}$ に減じた。又CMで処理した滅菌陰圧硝子瓶1000本を最短80日間も保存して後最も嚴重に細菌検査を行った所、1度も細菌は汚染を発見しなかつた事を追記している。

総括

以上の実験成績を総括すると次の如くである。

(1) 保存血液の細菌汚染による輸血事故の場合、原因細菌となる *Pseudomonas*, *Coli-aerogenes group* の代表株を用いてACD液加人血液の5℃保存時に於ける増殖の様相を精査すると、移植直後から24時間迄は菌数は急速に減少し、血清の殺菌力と低温の影響を受けるが残存した少数の抵抗菌から漸次増殖を始める。相磯の報告している増殖曲線の誘導期に相当する部分を修正し、より正確なカーブを作製する事が出来た。

(2) *Pseudomonas* 40株中5℃のブイヨンで強く増殖する株は82%である。此の中増殖の強かつた33株について人血中での低温増殖を見るとその71%増殖しており、汚染菌として最も危険なものである事が判明した。*Achromobacter* 4株、*Alcaligenes* 7株、*Flavobacterium* 10株計21株について同様の実験を行ったが *Flavobacterium* の1株が 93×10^5 まで増殖したのみで他は強い増殖をましたものはなく、*Pseudomonas* に比して低温増殖力の弱い事が明らかになった。

(3) 汚染血による副作用の *shock syndrome* を説明するため、汚染菌4株をもつてその培養菌の洗滌菌体食塩水浮遊液を家兎血管に注入して血圧の下降作用を見たが、*Aerobacter*, *Pseudomonas* の場合は強い血圧降下作用が見られた

が、*Micrococcus* の場合はその作用が緩徐であつた。

(4) 副作用発生時に患者から汚染菌を分離する場合、大腸菌群の時は血液、諸臓器から容易に分離出来るが、*Pseudomonas* の場合は多くの場合分離出来ない事を実験的に証明した。汚染血からの汚染菌の発見をも含めて此れ等の汚染菌を分離する場合には20~27℃の孵卵器を使用すべきである。

(5) 某血液銀行からの汚染菌の同定を依頼されたが、グラム陰性桿菌のうち *Paracolibacterium* が多かつた。

稿を終るにあたり、終始、御懇篤な御指導と厳正な御校閲を賜つた恩師相磯和嘉教授に心から感謝致すと共に、絶えず御協力を頂いた飯田助手始め教室員諸氏、並びに食中毒研究部、小倉助教授、都立豊島病院内科医長名尾良憲博士、長汐病院院長長汐達也氏、及び当内科富平輝夫、斎藤英夫両氏に深く感謝致します。尚本論文の要旨は1957年第5回輸血学会総会に於て報告した。

参考文献

- 1) 相磯和嘉他：血液と輸血，1：128 (1954).
- 2) Braude, A.I., Sanford, J.P., Bartlett, J.E. & Mallery, O.T.: J. Lab. & Clin. Med., 39: 1902, 1952.
- 3) 鴻孝義：千葉医学会誌，32：100, 1956.
- 4) 相磯和嘉：外科研究の進歩，5：81, 1958.
- 5) 相磯和嘉：日本医事新報，1956.
- 6) 長谷川広吉：千葉医学会誌，33：851, 1958.
- 7) 中村喜之助：千葉医学会誌，33：842, 1959.
- 8) 志賀信雄：千葉医学会誌，33：128, 1957.
- 9) 日本輸血学会，東大輸血部：血液と輸血，4：131, 1957.
- 10) 日本輸血学会，東大輸血部：血液と輸血，4：33, 1957.
- 11) Matthes: Dtsch. Med. Wschr., 84：483, 1959.
- 12) 岩永光陸他：医療，9(12)：10, 1955.
- 13) 黒川正治他：日本輸血学会誌，5(5)：252, 1959.
- 14) 山口晴一他：血液と輸血，4(5)：244, 1953.
- 15) 菅原香苗：血液と輸血，4(6)：340, 1958.
- 16) 小島竜男他：千葉医学会誌，34：205, 1959.
- 17) Officer, R.: Australia & Newzealand J. Surg., 12：111.
- 18) Mollison, P.L.: Brit. Med. J., 1：529 & 559, 1943.
- 19) Whitby, L.: In Blood Transfusion, Edited by G. Keynes, Baltimore, Williams and Wilkinson Company, p. 46, 1949.
- 20) Borden, C.W. & Hall, W.H.: Newzealand J. Med., 245：760, 1951.
- 21) Pittman, M.: J. Lab. & Clin. Med., 42：273, 1952.