尿路感染症に関する研究

第4報 同定不能グラム陰性桿菌群の諸性状 ならびに免疫学的検索

日本大学医学部泌尿器科教室 伊 藤 孝 義
(主任: 永田正夫教授)

STUDIES ON URINARY INFECTION REPORT IV PROPERTIES AND IMMUNOLOGICAL STUDIES OF UNIDENTIFIABLE GRAM-NEGATIVE BACILLACEAE

Takayoshi Ito

From the Department of Urology, Nihon University School of Medicine.

(Director: Prof. Masao Nagata)

Of 22 strains of unidentifiable Gram-negative rods obtained from urine specimens and mortar liver lesions in secondary infection, the biological properties of 10 strains preserved so far were studied. Furthermore, immunological studies were performed, with the following results, by the use of the above strains and *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Alcaligenes faecalis* whose sources were known.

1. Ten strains of unidentifiable Gram-negative rods used in the present study can be classified into two types according to their properties.

2. In the biological identification method, these microorganisms exhibited properties altogether different from those of intestinal flora and similar Gram-negative rods.

3. Into strains of unidentifiable Gram-negative rods can be distinguished immunologically from *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Alcaligenes faecalis*.

4. Unidentifiable Gram-negative rods used in the present study could not be identified by the biological and immunological methods. For this reason it seems reasonable to treat these rods as a group of unidentifiable Gram-negative rods.

5. The distribution of the unidentifiable Gram-negative rods by diseases was similar to that of *pseudomonas aeruginosa*. For the clarification of the clinical significance of the rods, it is desirable that the pathogenicity and virulence of the microorganisms should be examined.

緒 言

私は協同研究者と共に第1報¹⁾で一次感染症, 第2報²⁾で2次感染症に於ける菌検索成績について述べたが, このうち2次感染症から分離した293株中20株すなわち4.1%に同定不能グラム陰性桿菌を得た。引続き第3報³⁾では漆喰腎病巣から2種の同様な桿菌を分離し, その性状について述べると共に, この菌群を抗原とした凝集反応を患者ならびに健康者について行い, 患者については比較的高い凝集価を得て, その感染に対する意義を或る程度窺うことが出来た。近年尿路感染症はその治療の面で各種抗生物質および化学療法剤の選択に際し, 起炎菌と

しての菌種の同定と共に感受性試験を実施することが必須の条件となり, 泌尿器科領域でもこれに関する報告は枚挙に暇がない現状である。本邦に於けるこのような諸家の報告を詳細にみると, 尿路感染症の主役を演じているのはなんといつてもグラム陰性桿菌群であり, 殊に2次感染症に於ける変形菌, 緑膿菌の割合は1955年土屋等⁴⁾の警告以来著しく増加の傾向にある。このようなグラム陰性桿菌群のうち菌型不詳, 未同定, 同定不能等の名称で記載される一群が存在するが, 特にこの菌群に注目し, 詳細な検索を加えた報告は未だ見当たらないように思われる。今回私はこれら菌群の性状を追究し, 免疫学的

検索を併試して、その同定を企図し、2次感染症および漆喰腎病巣から分離し、現在迄保存し得た同定不能グラム陰性桿菌10株について前記検索を行つたところ、些か知見を得たので、茲にその成績を報告する。

実験方法ならびに実験材料

1) 生物学的性状の検索

供試菌株、供試した菌株は第2報記載の2次感染症から分離した20株中8株と、漆喰腎病巣から分離した2株の計10株で、現在迄継代培養して保存し得たものである。第2、3報で記した如く、いずれも同定不能に終つたグラム陰性桿菌群である。この一群を分離した原疾患ならびに菌株数を第1表に示す。

第1表 疾患別菌検出数

疾患名および分離源	菌株数
腎 結 核 尿	4
囊 胞 腎 //	1
腎 出 血 //	1
腎 結 石 //	2
尿 管 結 石 //	4
前立腺結石 //	1
前立腺肥大症 //	3
膀 胱 癌 //	4
漆 喰 腎 病 巣	2
計	22

培地 培地は普通寒天培地、血液寒天、SS寒天、CHL寒天、ヒューレイフソン培地、ジョルダン酒石酸塩培地、SM、SIM、TSIの各培地、シモンズクエン酸塩培地、ゼラチン培地、VP 反応、MR 試験を行うためのブドー糖磷酸塩ペプトン水、クリステンゼン尿素培地、リゼン脱炭酸試験用培地、KCN 培地等を用いた。

生物学的性状の検索、前記同定不能グラム陰性桿菌10株を前述した各培地にそれぞれ接種し、型の如く37℃24—48時間培養して観察した。但し培地によつては4日乃至1週間観察したものもある。

2) 免疫学的検索

供試菌株、前記同定不能グラム陰性桿菌10株のうち生物学的性状から2群に大別し得るので、各群から1株宛を選んで行つた。また同時に日本大学医学部細菌学教室から分与を受けた E. coli No. 1株、Proteus vulgaris OX-1株、同じく HX-191株、同じく OX-2 1株、同じく OX-K 1株、Pseudomonas aeruginosa 1株、東京大学応用微生物研究所から分共された Alcaligenes fae-

calis 1株の計9株をこれに充てた。

実験動物 体重 2.5乃至 3.0kgの白色雄性健康家兎12匹を用いた。

検索法 前記菌株のうち E. coli No. 8、Proteus vulgaris OX-19、Pseudomonas aeruginosa、Alcaligenes faecalisの各1株宛、同定不能グラム陰性桿菌 No. 1および No. 7の各1株宛計6株をそれぞれ普通寒天培地に接種し、37℃24時間培養した後、菌苔をかき取り、滅菌生理的食塩水に浮遊させ、それぞれ r.p.m 5,000 15分間遠心沈澱して洗滌すること3回、沈渣を1mg/ccになる如く、滅菌生理的食塩水を加えて浮遊させた菌液をそれぞれ作製して生菌抗原とした。

免疫法および免疫血清作製法 各菌株すなわち各抗原に対し家兎2匹の割合として各抗原をそれぞれ3日目毎に5回宛接種した。その接種法は以下に示す如くである。すなわち初回はそれぞれ 0.5cc宛を2匹と1群とする家兎の皮下に接種し、第2回目は 1.0cc宛を耳静脈内に、第3回目は 1.0cc宛を耳静脈内に、第4回目は 1.5cc宛を皮下に、第5回目は 1.5宛をそれぞれ耳静脈内に接種した。第5回目接種後2週間で採血し、ためし凝集反応をそれぞれの菌株を抗原として行い、抗体価の上昇を確めた後1週間して全採血により採血し、血清を分離、56℃30分間被動性となした後、0.5%の割にカルボールを加え、バイアル瓶に入れ、氷室に保存した。

凝集反応 凝集反応は試験管法による慣用法に従い行つた。すなわち各抗原である菌液を所定の方法で作製後、血清稀釈を行つたが血清稀釈は原液および10倍稀釈血清を基としてそれぞれ培養稀釈法により行い、最高2,560倍まで行つたものもある。

実験成績

1) 生物学的性状 (第2、3表)

供試した10菌株の性状を検索した成績は以下の如くであつた。すなわち形態は No. 1乃至 No. 6の6株は桿菌で大きさは 1.0— 0.5μ である。No. 7乃至No. 10の4株は同様桿菌で大きさ 0.8— 0.4μを示した。運動性、インドール、H₂S および PPA 試験は全株すべて陰性であつた。普通寒天培地の性状は No. 1乃至 No. 6の6株についてみると、灰白色光沢ある中等度の集落を形成し、粘張性あり、好氣的、嫌氣的に發育は良好であり、No. 7乃至No. 10の4株は灰白色光沢ある集落で、好氣的、嫌氣的いずれも發育良好である。血液寒天上のそれは No. 1の乃至 No. 6の6株は灰白色光沢ある中

第2表 生物学的性状

菌株 No.	形 態	運 動 性	グ ラ ム 染 色	普 通 寒 天	血 液 寒 天	S S 寒 天	D H L 寒 天	フ ヒ ュ ー ソ ン レ イ ン	酒 石 酸 塩	ジ ヨ ル ダ ン	S M	T S I	ク シ モ ン ズ ク エ ン 酸 塩	ゼ ラ チ ン
1	桿 菌 1.0—0.5 μ	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
2	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
3	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
4	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
5	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
6	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
7	桿 菌 0.8—0.4 μ	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
8	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
9	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+
10	〃	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+

第3表 生物学的性状

菌株 No.	ブ ド ー 糖	乳 糖	サ ロ ッ カ ゼ	マ ン ニ ツ ト	キ シ ロ ー ゼ	硝 酸 塩	V P 反 応	M R 試 験	P P A 試 験	イ ン ド ー ル	H ₂ S	K C N	ウ レ ア ー ゼ	チ ト ク ロ ー ム オ キ シ ン ダ ー ゼ	脱 リ ヂ 酸 試 験
1	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
2	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
3	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
4	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
5	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
6	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
7	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
8	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
9	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
10	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+

等度集落で溶血性あり，好氣的，嫌氣的に發育良好である．No. 7乃至No. 10の4株は灰白色光沢ある少々小なる集落で，溶血性あり，好氣的，嫌氣的に發育良好であった．グラム染色では No. 1乃至 No. 6の6株は小さな桿菌で，菌体の1部に不染性の部があり，No. 7乃至No. 10の4株も同様所見であるが，この4株は前者に比し菌体が少々小さい，両者共グラム染色は陰性である．SS 寒天培地 には全株發育せず，DTL 寒天培地に全株發育を確認後 T.SI 高層培地でみると，全株著色をみない．SIM 培地では全株表層にのみを發育し，腸内細菌群は否定的である．しかしチトクロームオキシダーゼは

全株陰性に終つた．ジヨルダンの酒石酸塩培地に穿刺培養を行うと，全株高層の大半が黄色を示し，酒石酸塩利用は陽性であつた．シモンズクエン酸塩基培地では24時間で全株發育せず，さらに3日間観察したが，陰性に終つた．ゼラチン培地に穿刺培養を試みたが，全株陽性であつた．SM 培地では全株陰性で，サツカローゼ，マンニツト分解能は全く認められない．次ぎに糖分解能を別個に検索したところ，ブドー糖，乳糖，サツカローゼ，マンニツト，キシローゼはすべて陰性に終つた．硝酸塩環元試験は全株陽性を示すが，VP 反応，MR 試験，PPA試験は全株陰性，KCN 培地では全株發育をみなか

第4表 各種菌株の免疫血清凝集反応

抗 原 \ 血清稀釈	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×	抗 原 対 照	血 清 対 照
<i>Escherichia coli</i> No. 8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—

第5表 No. 1 菌株免疫血清抗体価

抗 原 \ 血清稀釈	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128	256	512	1024	2048	4096	8192	抗 原 対 照	血 清 対 照
not ident Gr. Neg. rods No. 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
not ident Gr. Neg. rods No. 7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—

第6表 2 菌株免疫血清抗体価

抗 原 \ 血清稀釈	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128	256	512	1024	2048	4096	8192	抗 原 対 照	血 清 対 照
not ident Gr. Neg. rods No. 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—
not ident Gr. Neg. rods No. 7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—

つた。ウレアーゼは尿素培地に接種して6時間および24時間の2回判定したが、No. 1乃至No. 6の6株は陽性を、No. 1乃至No. 10の4株はすべて陰性であった。リヂン脱炭酸試験は24時間後全菌株が培地全体に深紫色を示し、陽性と判定された。

Ⅱ) 免疫学的検索

1) 各種菌株の免疫血清凝集反応 (第4表)

E. coli No. 8, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* OX-19, *Alcaligenes faecalis*, 同定不能グラム陰性桿菌No. 1およびNo. 7各1株宛を以つて免疫した家兎のためし凝集反応は各菌株をそれぞれ抗原として血清を256倍まで稀釈して実施した。その結果凝集価は *E. coli* No. 8を抗原とした場合128倍まで強陽性、256倍まで中等度陽性を示し、*Pseudomonas aeruginosa* では128—256倍に倍に中等度の陽性を、*Proteus vulgaris* OX-19, *Alcaligenes faecalis*, 同定不能グラム陰性桿菌

No. 1およびNo. 7の4株はそれぞれ256倍まで強陽性を示した。

2) 同定不能グラム陰性桿菌の免疫血清抗体価 (第5, 6表)

同定不能グラム陰性桿菌のNo. 1およびNo. 7の免疫血清最終抗体価を測定した結果は以下の如くである。すなわち No. 1株免疫血清は No. 1株を抗原とした場合4096倍まで強陽性を、また No. 7株を抗原とした場合256倍まで強陽性に、1024倍まで弱陽性を示した。また No. 7株の免疫血清はNo. 1株を抗原とした場合256倍まで強陽性を会し、No. 2株を抗原とした場合1024倍まで強陽性を、2048倍まで中等度陽性を示した。

3) *E. coli* No. 8免疫血清凝集反応 (第7表)

E. coli No. 8株で免疫した免疫血清に対する各菌株をそれぞれ抗原とした凝集反応の成績は以下の如くであった。すなわち *E. coli* No. 8を抗原とした場合凝集価

第7表 *Escherichia Coli* No. 8 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
<i>Escherichia Coli</i> No. 8	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 1	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 7	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第8表 *Proteus vulgaris* OX-19 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
<i>Proteus Vulgaris</i> OX-19	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	—	—	—
<i>Escherichia Coli</i> No. 8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第9表 *Pseudomonas aeruginosa* 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—
<i>Escherschia coli</i> No. 8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 1	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident. Gr. Neg. rods No. 7	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—

320倍まで強陽性を，640倍まで中等度陽性を示し，*Proteus vulgaris* OX-19では10倍まで強陽性，*Pseudomonas aeruginosa*および*Alcaligenes faecalis*ではすべて陰性を示した。同定不能グラム陰性桿菌を抗原とした場合はNo. 1抗原では10倍まで強陽性を，20倍まで中等度陽性を，No. 7株では10倍まで中等度陽性を示した。

4) *Proteus vulgaris* OX-19免疫血清凝集反応（第8表）

Proteus vulgaris OX-19で免疫した免疫血清に対する各菌株を抗原とした凝集反応の成績は以下の如くである。すなわち *proteus vulgaris* OX-19抗原では320倍まで強陽性，640倍まで中等度陽性，1280倍まで弱陽性を示した。*E. coli* No. 8，*Alcaligenes faecalis*，*Pseudomonas aeruginosa*，同定不能グラム陰性桿菌No. 1およびNo. 7をそれぞれ抗原とした場合は全抗原に対し，

すべて陰性を示した。

5) *Pseudomonas aeruginosa* 免疫血清凝集反応（第9表）

Pseudomonas aeruginosa 免疫血清に対する各菌株を抗原とした凝集反応の成績は以下の如くであつた。すなわち *Pseudomonas aeruginosa* 抗原では凝集価は640倍まで強陽性を，1280倍まで中等度陽性を示した，*E. Coli* No. 8および*Alcaligenes faecalis*をそれぞれ抗原とした場合は両者共すべて陰性であつた。*Proteus vulgaris* OX-19を抗原とした場合凝集価は10倍まで弱陽性を示し，同定不能グラム陰性桿菌No. 1およびNo. 7抗原では両者共に10倍まで強陽性，20倍まで中等度陽性を示した。

6) *Alcaligenes faecalis*免疫血清凝集反応（第10表）

Alcaligenes faecalis 免疫血清に対する各菌株を抗原

第10表 *Alcaligenes faecalis* 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
<i>Alcaligenes faecalis</i>	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	—	—
<i>Escherichia coli</i> No. 8	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident Gr. Neg. rods No. 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
not ident Gr. Neg. rods No. 7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第11表 not ident Gr. Neg. rods No. 1 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
not ident Gr. Neg. rods No. 1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> No. 8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	卅	卅	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第12表 not ident Gr. Neg. rods No. 7 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
not ident Gr. Neg. rods No. 7	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> No. 8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	卅	卅	卅	卅	+	—	—	—	—	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

とした凝集反応の成績は前下の如くであつた。すなわち *Alcaligenes faecalis* 抗原では凝集価は 640倍まで強陽性、1280倍まで中等度陽性、2560倍まで弱陽性を示した。*E. Coli* No. 8 抗原では80倍まで強陽性に、160倍まで中等度に陽性を示し、*Pseudomonas aeruginosa* 抗原では10倍まで弱陽性を示した。同定不能グラム陰性桿菌 No. 1 および No. 7 を抗原とした場合は両者共すべて陰性であつた。

7) 同定不能グラム陰性桿菌No. 1 株免疫血清凝集反応 (第11表)

同定不能グラム陰性桿菌 No. 1 株免疫血清 に対する各菌株を抗原とした凝集反応の成績は以下に示す如くであつた。すなわち No. 1 菌株抗原では凝集価は1280倍でも強陽性を示し、*E. coli* No. 8, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis* 抗原ではすべて陰性であつた。しかし *Proteus vulgaris* OX-19を抗原とした場合凝集価は10倍まで強陽性、20倍まで中等度陽性、40倍ま

で弱陽性を示した。

8) 同定不能グラム陰性桿菌 No. 7 株免疫血清凝集反応 (第12表)

同定不能グラム陰性桿菌 No. 7 株免疫血清 に対する各菌株を抗原とした凝集反応の成績は以下の如くであつた。すなわちNo. 7 株抗原では凝集価は1280倍まで強陽性を示し、*E. coli* No. 8, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis* をそれぞれ抗原とした場合はすべて陰性であつた。*Proteus vulgaris* OX-19抗原とした場合の凝集価は40倍まで強陽性を、80倍まで中等度陽性を、160倍まで弱陽性を示した。

9) 同定不能グラム陰性桿菌No. 1 免疫血清凝集反応 (第13表)

同定不能グラム陰性桿菌 No. 1 免疫血清 に対する *proteus vulgaris* OX-19, *Proteus vulgaris* HX-19, *Proteus vulgaris* OX-2, *Proteus vulgaris* OX-K の3株をそれぞれ抗原とした凝集反応の成績は以下の如くであ

第13表 not ident Gr. Neg. rods No. 1 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
Proteus vulgaris HX-19	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
Proteus vulgaris OX-2	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Proteus vulgarsi OX-K	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第14表 not ident Gr. Neg. rods No. 7 免疫血清

抗 原 \ 血清稀釈	10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	抗 原 対 照	血 清 対 照
Proteus vulgaris HX-19	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—
Proteus vulgaris OX-2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Proteus vulgaris OX-K	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

る。すなわちPr. vulgaris HX-19抗原では凝集価は80倍まで強陽性、160倍まで中等度陽性を示し、Pr. vulgaris OX-2を抗原とした場合は20倍まで弱陽性を、また Pr. vulgaris OX-K 抗原では凝集価は10倍まで 弱陽性を示した。

10) 同定不能グラム陰性桿菌No. 7 免疫血清凝集反応 (第14表)

同定不能グラム陰性桿菌No. 7で免疫した血清に対するpr. vulgaris HX-19, Pr. vulgaris OX-2, Pr. vulgaris OX-K の3株をそれぞれ抗原とした 凝集反応の成績は以下に示す如くであつた。すなわち Pr. vulgaris HX-19抗原では凝集価は40倍まで強陽性を、80倍まで中等度陽性を示し、Pr. vulgaris OX-2および Pr. vulgaris OX-K 抗原では両者共凝集価は10倍まで弱陽性を示した。

総括ならびに考察

以上に記した検索成績を総括し、これに些か考察を加えて以下に述べてみたい。生物学的性状の検索に供した菌株はすでに私が第2, 3報で協同研究者と共に報告した如く、同定試験により同定不能グラム陰性桿菌と判定された1群である。今回はさらに 詳細な 検討を加えるべく、保存し得た10株について前記の検索を行ったものである。その成績は前述したが、これを総括すれば以下のように云うことが出来る。すなわち供試した10株はその形態、大きさおよびウレアーゼ陽性、陰性の有無によつて2群に大別出来る。その大きさは No. 1乃至 No. 6の6株は 1.0—0.5μ, No. 7乃至 No. 10の4株は 0.8—0.4μ であり、われわれが通常尿路感染症から分離しているグラム陰性桿菌群に比し、かなり小さい短桿菌である。検索の順序として、これら菌株と腸内細菌群との異同についてみると、DHL 培地に発育した菌株のそれ

それを TSI, SIM 培地に接種して観察するに、TSI 培地では特記すべき色調を示さない。また SIM 培地では表層部にのみ発育し、Escherichia, Shigella, Salmonella のような腸内細菌群は除外される。そこで腸内細菌群以外のグラム陰性桿菌群との鑑別を試みるため TSI 培地高層の着色をみると、赤または黄色を示すものは1株もない。従つてこの培地の所見のみについて云えば、アルカリ糞便菌、緑膿菌、出血性敗血症菌、パラ百日咳、Bac. anitratum, Achromobacter, Flavobacterium等とは全く区別される。次いで腸内細菌類似のグラム陰性菌群との鑑別を Aeromonas hydrophila, Aeromonas shigelloides, Vibrio の3者について検討したところ、供試菌株はすべてリジン脱炭酸試験陽性、ブドー糖分解能およびガス産生能が陰性、SS 寒天に発育しない、酒石酸塩陽性であり、この点については Vibrio に一致するが、チトクロームオキシダーゼ試験は陰性、マンニト分解能陰性、クエン酸利用性も陰性を示し、Vibrio とは全く区別される。SS 寒天に発育をみないので、A. hydrophila, A. shigelloides とは異なるという結果を得た。また検索した性状全体から腸内細菌群の1部およびそれ以外のグラム陰性桿菌群との比較を試みると、E. coli とは運動性、クエン酸塩、H₂S, 糖分解能、インドール等が全株陰性を示すことから否定出来る。Shigella, Citrobacter, Klebsiella, Cloaca, Hefnia, Rettgerella, Providencia, Arizona 等とも全く区別される。また Proteus は運動性、KCN, H₂S, 糖分解能、インドール産生能の点で別個であり、Morganella も同様である。Ps. aeruginosa とは運動性、クエン酸塩、ブドー糖分解能が異なり、これとも合致しない。Alcaligenes faecalis とは運動性、クエン酸塩利用以外は Ps. aeruginosa よりは確かに類似点

を有するが、断定出来ない。結局供試した株は検索した範囲では腸内細菌群とは云い難く、現在のところ、その性状からみて、同定不能グラム陰性桿菌群として取扱う方が適当であると思う。

以上の生物学的同定法によつて供試した10菌株は2群に大別されるが、しかし菌種を同定するに至らなかった。そこで供試した菌株の2群から1株宛を選び、尿路感染症の起炎菌として通常最もしばしば検出される大腸菌、変形菌、緑膿菌、アルカリ糞便菌の4種と共に免疫学的検索を行つた。その成績は前述したが、これを総括して以下に述べてみたい。すなわち健康家兔に型の如くそれぞれの菌株を反覆接種し、各菌株の凝集価の上昇を待つて、全採血してそれぞれの免疫血清を得た。同定不能グラム陰性桿菌のNo. 1を抗原として作製した免疫家兔血清抗体価は4096倍まで、No. 2株を抗原とした場合のそれは1024倍まで陽性を示した。またNo. 2の免疫血清はNo. 1株抗原で凝集価は512倍、No. 2株抗原では2048倍まで陽性に出現した。従つて両者は互いに近縁関係にあることを示している。大腸菌No. 8で免疫した家兔血清に対し、各菌株を抗原とした凝集反応では大腸菌No. 8抗原で640倍変形菌、OX-19では10倍、緑膿菌、アルカリ糞便菌を抗原とした場合はすべて陰性であつた。同定不能菌株ではNo. 1株抗原で凝集価は20倍、No. 7株では10倍まで陽性を示した。この成績からみると、大腸菌No. 8株は変形菌OX-19、同定不能グラム陰性桿菌の2株に対し共通の抗原の存在が認められる。変形菌OX-19免疫血清についてみると、変形菌OX-19抗原で1280倍の凝集価を示す以外は全株陰性であつた。緑膿菌免疫血清に対する各菌株の凝集反応は緑膿菌抗原で1280倍まで陽性、同定不能グラム陰性桿菌No. 1およびNo. 7抗原では共に20倍まで陽性を示した。従つて同定不能群は双方共緑膿菌に共通した抗原の存在が認められる。アルカリ糞便菌免疫血清に対してはアルカリ糞便菌抗原で2560倍、大腸菌No. 8抗原で160倍、緑膿菌では10倍までそれぞれ陽性を示した。しかし変形菌OX-19、同定不能群ではすべて陰性であつた。従つてアルカリ糞便菌と大腸菌No. 8、緑膿菌は程度の差はあつても同様共通抗原を有するということが出来る。同定不能グラム陰性桿菌No. 1株の免疫血清はNo. 1株抗原で凝集価は1280倍、変形菌OX-19では40倍まで陽性を示し、大腸菌No. 8、緑膿菌、アルカリ糞便菌ではすべて陰性であつた。同定不能グラム陰性桿菌No. 7株の免疫

血清はNo. 7株抗原で1280倍の凝集価を示し、変形菌OX-19抗原では160倍まで陽性を示し、大腸菌No. 8、緑膿菌、アルカリ糞便菌ではすべて陰性であつた。すなわち同定不能グラム陰性桿菌免疫血清はそれぞれ当該菌を抗原とした場合、当然高い凝集価を示すが、変形菌OX-19に対しても可なり反応することが判明したので、同定不能グラム陰性桿菌のそれぞれの免疫血清に対する変形菌の1群すなわちHX-19、OX-2、OX-Kの3株をそれぞれ抗原として凝集反応を試みた。その結果No. 1免疫血清ではHX-19抗原に160倍、OX-2に20倍、OX-Kに10倍の凝集価をそれぞれ示した。No. 7株免疫血清ではHX-19、抗原で80倍、OX-2抗原では10倍、OX-K抗原でも10倍の凝集価を示している。従つて以上の成績から同定不能グラム陰性桿菌の2株は変形菌、緑膿菌、大腸菌に対し多少の交叉反応を有するものと考えられる。これら菌群のうち最も反応を示すのは変形菌群であるが、その凝集価は一般に低く、特異性はない。以上の免疫学的検索から同定不能グラム陰性桿菌の2株は少くとも大腸菌No. 8、変形菌OX-19、変形菌HX-19、変形菌OX-2、変形菌OX-K、緑膿菌、アルカリ糞便菌等とは全く異なる菌群に属するということが出来る。

私は第1、2報で尿路感染症の患者尿を分離源として、起炎菌の分離培養を行つたが、そのうち第2報では分離菌株493株中20株(4.1%)に同定不能グラム陰性桿菌を、また第3報に記した如く、漆喰腎病巣から2株の同様桿菌を分離し、その性状を検索したが、結局は同定不能に終つたと報告した。最近多くの研究者が起炎菌の分離培養を行つた成績を報告しているが、1959年以降1966年までの10氏の報告をみると、日野⁹⁾は280株中12株を記載し、占部⁶⁾は154株中10株を、近藤等⁷⁾は脊損患者で133回の同定試験で4回検出している。志田等⁸⁾は膀胱炎32例から7株を、伊藤⁹⁾は脊損患者48例から58株を分離し、不詳桿菌5株を得ている。大井¹⁰⁾は204株中5株を、杉村等¹¹⁾は365株中に未同定を86株、河田等¹¹⁾は脊損患者に683回の尿中の尿中細菌培養を試み1318株を得ているが、このうち同定不能グラム陰性桿菌10株(0.8%)をそれぞれ報告している。このように最近の報告例をみても菌型不詳のグラム陰性桿菌が次第に目立つように思われるが、これに特別の注意を向けて論議した報告は全く見当らない。尿路感染症に於てグラム陰性桿菌群が持つ重要さは茲に再び強調するまでもないが、泌尿器科的手術および複雑な処置、抗生物質投与による

菌交代現象その他が予想される。変形菌、緑膿菌に関しては1955年土屋等⁴⁾の警告があつて以来、これら桿菌群の増加の傾向が現われている。私もこの点についてすでに第1, 2報でその成績を比較して論じ、2次感染症に於ける変形菌、緑膿菌の増加を指摘し、同時に前述した同定不能桿菌群が緑膿菌と同様な疾患別分布をみることを記し、このような菌群の出現について注意を喚起した。そこで今回はこのような同定不能グラム陰性桿菌群をさらに検討し、その性状からいづれに属するかを決定すべく、前述の検索を行ったが、その性状から本菌群は前記検索法では腸内菌群およびそれに類似するグラム陰性桿菌群とは全く異なる菌群であり、免疫学的同定に於ても大腸菌No. 8, 変形菌群、緑膿菌、アルカリ糞便菌等とは全く区別される。従つて現在は同定不能グラム陰性桿菌群として取扱うのが適当と考えられる。これら菌群の臨床的意義を確立するためには尚多くの臨床例と細菌学的にはその病原性、毒力検定、その他に関する多くの問題点の追究が望まれる。

結 論

私は2次感染症の患者尿および漆喰腎病巣から得た22株の同定不能グラム陰性桿菌のうち今日まで保存し得た10株について、その生物学的性状を追究し、さらにこれら菌株と共に出所の明らかな大腸菌、変形菌、緑膿菌、アルカリ糞便菌を以つてする免疫学的検索を行い、その性状および免疫学的の両面から菌種の固定を試みた結果以下の如く結論する。

1) 供試した同定不能グラム陰性桿菌10株はその性状から2種に大別される。

2) これら菌群は前記生物学的同定法では腸内細菌群およびこれと類似のグラム陰性桿菌群とは全く異なる性状を示した。

3) 供試した2株の同定不能グラム陰性桿菌は免疫学的に大腸菌 No. 8, 変形菌 OX-19, 変形菌 HX-19, 変形菌 OX-2, 変形菌 OX-K および緑膿菌、アルカリ糞便菌とはそれぞれ区別される。

4) 供試した同定不能グラム陰性桿菌群は前記生物学的および免疫学的同定法では菌種の同定はなし得なかつた。従つて現在ではこれら菌群を同定不能グラム陰性桿菌の1群として取扱う方が妥当と思われる。

5) 同定不能グラム陰性桿菌群の疾患別分布は緑膿菌

のそれに類似して居り、その臨床的意義を明らかにするため、その病原性および毒力検定等の追究が望まれる。

(本論文の要旨は日本泌尿器科学会第 294回東京地方会、第31回東部連合地方会でそれぞれ発表した)。

(稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師永田正夫教授に衷心より感謝の誠を捧げると共に山本忠治郎助教授以下協同研究者諸氏の御協力を深謝いたします。尚本研究に際し貴重な菌株を分与された日本大学医学部細菌学教室相沢憲教授ならびに東京大学応用微生物研究所飯塚広教授に対し、茲に記して厚く御礼申上げる)。

文 献

- 1) 山本忠治郎, 鳴海敏夫, 伊藤孝義, 広瀬文雄, 増永昭佳, 滝本至得: 日泌尿会誌, 58, 268, 1967.
- 2) 山本忠治郎, 鳴海敏夫, 伊藤孝義, 広瀬文雄, 増永昭佳, 浜本至得: 日泌尿会誌, 58, 279, 1967.
- 3) 山本忠治郎, 鳴海敏夫, 伊藤孝義, 広瀬文雄, 増永昭佳, 滝本至得: 日泌尿会誌, 58, 289, 1967.
- 4) 土屋文雄, 峰英二, 天谷博, 藤野湜: 日本臨床, 14, 52, 1956.
- 5) 日野豪: 泌尿紀要, 5, 1004, 1959.
- 6) 占部慎二: 皮と泌, 23, 357, 1961.
- 7) 近藤賢, 梶田一之, 三木信男: 日泌尿会誌, 53, 220, 1962.
- 8) 志田圭三, 松下碧: 泌尿紀要, 10, 626, 1964.
- 9) 伊藤順弘: 泌尿紀要, 11, 734, 1965.
- 10) 大井好忠: 皮と泌, 27, 299, 1965.
- 11) 杉村克治, 中山宗文, 中島純子: 泌尿紀要, 12, 93, 1966.
- 12) 河田幸道, 内藤政男, 近藤賢: 泌尿紀要, 12, 93, 1966.
- 13) 百瀬俊郎, 坂本公孝, 檜橋勝利, 日高正昭, 平田耕造, 熊沢洋一: 皮と泌, 28, 318, 1966.
- 14) 大井好忠: 皮と泌, 28, 301, 1966.
- 15) 坂崎利一: 腸内細菌とその類似菌の簡単なしらべ方, 栄研学術叢書, 第I集, 日本栄養化学KK刊, 東京, 1964.
- 16) P.R. Edwards, W.H. Ewing: 腸内細菌同定法, 中谷林太郎, 坂崎利一訳, 一成堂, 東京, 1964.
- 17) 臨床細菌学提要: 伝染病研究所学友会編, 丸善出版, 東京, 1952.
- 18) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Seventh Edition, William & Wilkins Company, Baltimore, 1957.

(昭和41年12月6日受付, 特別掲載)