Staphylococcus に関する研究

第2報 PC-SM 耐性ブドウ球菌の生物学的性状について

眞 野 大 二 ・ 川 上 勝

国立田辺病院 (院長 玉 井 寿)

[受付: 4月28日・1961年]

緒 言

Demerec¹⁾ が *staphylococcus* の Penicillin 耐性獲得機作について始めて提唱し, streptomycin の研究に関しては Klein²⁾ らの報告がある。近年ブドウ球菌については抗生物質が普及されるに伴って多剤耐性株の出現増加が顕著になり Coagulase 産生能, 耐性化による生化学的性状の変化について多くの報告があり^{3,4)} 耐性上昇が重要な課題となっている。

われわれは先に小児上気道感染症においてその咽頭粘液よりブドウ球菌を分離したこれらに対して薬剤耐性と生物学的性状を検索した⁵⁾。その中より12株の Strain を選び人工的に Penicillin (以下 Pc) 1,000u/ml 耐性菌8株, Streptomycin (以下 SM) 1,000 γ /ml 耐性菌11株を作りその生物学的性状が耐性菌では如何に変化するものかを原株と比較検討した。

実験材料および方法

菌株: 小児上気道感染症においてそれらの咽頭粘膜より分離したブドウ球菌41株から12株選んだ。

薬剤: Pc (Penicillin G. 武田) SM (Streptomycin 結晶, 協和) を滅菌蒸留水で段階希釈法によつて作成し, 普通寒天培地に加え平板となし, これに各々の菌株を接種し, 対照と同等に発育した最高濃度の培地より増量の継代法により逐次高濃度培地に移植し得た Pc 1,000u/ml SM 1,000 γ /ml 耐性菌を同濃度を含有する培地で数代継代したものを実験に用いた。

糖類: 糖加培地は Barsiekow の変法により B.T.B. 加 Bouillon を作成し, 1% の割合に glucose, Lactose, d-mannitol, sucrose, raffinose, d-xylose を加えた6種類の糖につきその分解性を調べた。

血漿および血球: 3.8%の滅菌クエン酸ソーダ1cc に

血液3ccの割で数人より採血し1,500r.p.m. 10分間遠沈し, 血漿は滅菌生理的食塩水で希釈した。一方血球は滅菌生理的食塩水で2回洗滌後3%の割合に普通寒天培地に混じ平板に固め無菌的を確めた後実験に使用した。

NaCl: 7.5%および9%加一級 NaCl 中性 Bouillon を作成してこれらの濃度に耐えて発育するか否かを試みた。糖分解試験, 血漿凝固作用, 溶血性, NaCl に対する態度について使用した菌量はいずれも37°C 18~20時間培養の2mg/2ml の1öse 宛を接種した。

実験成績

(1) 糖分解試験 37°C における glucose, Lactose, d-mannitol, sucrose, raffinose, d-xylose の分解性についてはすべての菌株が raffinose, d-xylose を48時間後においても分解することなく, また20株, 47株, 71株は Lactose をも分解しなかつた。Pc 耐性株では Lactose を71株が分解したのみでそのほかの糖類に対しては変化がみられなかつた。SM 耐性株においても71株は Lactose を48時間で分解した。36株は48時間後においても d-mannitol を分解することなく陰性であつた。なお39株では原株, Pc-SM 耐性株ともに d-mannitol を分解しなかつた。

(2) Coagulase 試験 人血漿による Coagulase 作用について Pc 耐性株は原株と同様であり変化が認められなかつたが, SM 耐性株においては20株, 34株, 36株の Coagulase 作用が消失するという結果を得た。

(3) 溶血性 原株においては20株, 31株, 34株,

MANO Daiji, KAWAKAMI Masaru: Studies on Staphylococci. II. On the Biological Characters of Penicillin and Streptomycin Resistant Staphylococci. Tanabe National Hospital—Jap. J. of Bact., 16 (11), 953-955, 1961.

1 表 原株および PC-SM 耐性株の生物学的性状

菌株名 (No.)		性 状	グル コーゼ	ラク トーゼ	マン ニット	スク ローゼ	キシ ローゼ	ラノ フー イゼ	M ・ R	V ・ P	イン ドール	溶血 (人血性)	コアグラ ラーゼ (人血漿)		% Nacl		中 イ ヨ 性
													2×	8×	7.5	9.0	
原 株	10	+	+	+	+	+	-	-	-	-	弱	-	+	+	濁	濁	平
	19	+	+	+	+	+	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	等
	20	+	-	干	+	+	-	-	-	-	〃	+	+	+	〃	〃	濁
	31	+	+	干	+	+	-	-	-	-	〃	+	+	+	〃	〃	濁
	33	+	+	+	+	+	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	34	+	干	+	+	+	-	-	-	-	〃	+	+	+	〃	〃	〃
	36	+	+	+	+	+	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	39	+	+	-	+	+	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	47	+	-	干	+	+	-	-	-	-	〃	-	-	-	〃	〃	〃
	57	+	+	干	+	+	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	59	+	+	+	+	+	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	71	+	-	+	+	+	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
PC 1,000u/ml 耐 性 株	19	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	31	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	33	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	36	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	39	+	+	-	+	-	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	57	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	-	-	〃	〃	〃
	59	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	71	+	干	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
SM 1,000γ/ml 耐 性 株	10	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	+	+	+	〃	〃	〃
	19	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	20	+	-	干	+	-	-	-	-	-	〃	-	-	-	〃	〃	〃
	31	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	+	+	+	〃	〃	〃
	33	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	34	+	干	+	+	-	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	36	+	+	-	+	-	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	39	+	+	-	+	-	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	57	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	+	-	-	〃	〃	〃
	59	+	+	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃
	71	+	干	+	+	-	-	-	-	-	〃	-	+	+	〃	〃	〃

註： 1. 糖分解+24時間で分解. 2. 溶血性を示す, +
干48時間で分解. 〃 を示さず -
- 〃 せず 3. コアグララーゼ作用を示す +
〃 〃 示さず -

39株, 57株のいずれも溶血性がみられたが10株, 19株, 33株, 36株, 47株, 59株, 71株は溶血を示さなかった。Pc 耐性変異株においては39株, 57株が非溶血化し, SM 耐性変異株では20株が非溶血化した。逆に原株で非溶血である10株, 36株の Strain が SM 耐性株のみ溶血性を

示すという結果を得た。

(4) そのほかの性状 原株, Pc-SM 耐性株の NaCl に対する抵抗, Colony の色素産生, MR., V-P, indol 反応等について検討したがとくに有意義と思われる差はみられなかった。

考 按

Staphylococcus は産生する色調によつて3種に区別され、その内病原性を有する主なるものは黄色々素を産生するといわれている。最近抗生物質の普及につれて生化学的性状、栄養要求変異、毒力の減弱、染色性等に変化を来たすとの多くの報告がある^{3,4,6,7}。われわれは小児患者より分離した Staphylococcus について研究し若干の知見を得た。すなわち、増量的継代法により実施した場合、Pc に耐性を得難い strain が10株、20株、34株であり Pc-SM 等に耐性を得難い株が47株であつた。これらのうち20株、47株、71株が Lactose を分解せず、また39株のみは原株、Pc-SM 耐性変異株ともに d-mannitol を分解しなかつた。しかし原株では Lactose を分解しない71株が Pc-SM の耐性を獲得した場合は分解し、また36株の如き原株、Pc 耐性株では d-mannitol を分解したが SM 耐性変異株では分解する能力を失うという興味ある知見を得た。Staphylococcus の Coagulase 作用は病原株によつて産生されるプロトロンビン様の酵素によるもので人やウサギの血漿で凝固が起るが菌株によつて産生能は著しく異り、pH によつても相当の差異があることについて述べている^{8,9}。Coagulase 試験では Pc 耐性株についての変化はみられなかつたが、SM 耐性株のうち20株、34株、36株が陰性化するという成績を得た。溶血性については Parent strain に比較し、Pc 耐性株の場合31株57株が陰性となり、SM 耐性株では20株が陰性化し、逆に10株、36株では溶血を示した。なお NaCl 9% Bouillon にはいずれの strain もよく発育した。小山¹⁰は抗生物質処理によつて現われる staphylococcus の small colony mutant について報告している。すなわち SM 耐性 Small colony mutant では catalase 作用が陰性化した strain があり、Parent strain に比較して Pc, SM 共に4~8倍の耐性を示したことの報告がある。Coagulase 作用について多田らは病原性判定の重要な指標を発表し、感染および免疫についてははつとも意義を有すると述べている⁹。また Coagulase 陽性

Staphylococcus を死菌と混合してマウスに接種通過後分離した Colony の半数以上が陰性化したことと d-mannitol については非分解を示したことを発表した。以上われわれの行つた実験成績では Parent strain と Pc-SM 耐性変異株との生物学的性状における著明な変化は認められなかつた。

結 論

- 1) 小児患者咽頭粘液より分離した staphylococcus を増量的継代法によつて Pc 1,000u/ml, SM 1,000γ/ml 耐性菌を作りこれらの糖分解能、生物学的性状、Coagulase 等について比較検討し次の如き結果を得た。
- 2) Pc 耐性株では Parent strain に比し、糖分解能、Coagulase 作用に変化がみられなかつたが strain によつては溶血性を示した。
- 3) SM 耐性株では Parent strain に比し、d-mannitol, Coagulase 作用、溶血性等に変化を来たした strain がかなり多かつた。

稿を終るにあたり終始御指導と御校閲を賜つた玉井寿院長並びに麻殖生副院長に深甚の謝意を表し、医局長河内専二博士の御厚意に衷心より感謝いたします。

文 献

- 1) Demerec, M.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 31: 15, 1945.
- 2) Klein, M. & Kimmelman, L. J.: Bact. 52: 471, 1946.
- 3) Bellamy, W. B. and Klimek J. W.: J. Bact. 55, 147, 1948.
- 4) Klimek, J. W. Cavallito, C. J. and Bailey J. H.: J. Bact, 55, 139, 1948.
- 5) 川上・真野: 医療, 投稿中, 1961.
- 6) 秋葉朝一郎: 医学のあゆみ, 13, 5, 250, 1952.
- 7) 沢野・他: 日本伝染病誌, 29(5), 251, 1955.
- 8) 今村 晋・他: 日本細菌学雑誌, 13, 11, 1017, 1958.
- 9) 林 道雄: 日本細菌学雑誌, 15, 12, 1250, 1960
- 10) 小山恒太郎: 日本細菌学雑誌, 15, 4, 402, 1960