病原菌に作用するバクテリオファージ の分布とその性状について

緒 方 正 一

國立龜川病院

〔受付：9月20日，1949年〕

先に私は⁽¹⁾中華民比平市内の下水について腸内傳染病原菌に作用するバクテリオファージ（以下病菌「フ」と略する）の自然分布を調査研究した結果，赤痢，腸チフス，パラチフス，コレラ菌等に作用する「フ」が市内の下水に極めて濃厚に存在することを経験した。日本内地の例としては天兒氏⁽²⁾の報告があるが，私は更に別府市内の汚水並びに糞便より「フ」を分離してその性状を研究したので，結果をここに報告する。

病菌「フ」の分離

志賀菌，駒込B菌，大原菌，腸チフス菌 W 型 (H 901) と V 型 (Vi 1)，パラチフス A 菌 (1015)，パラチフス B 菌 (8006)，コレラ菌原型 (稻葉) 等を用いて糞便，糞尿腐敗槽及び下水の「フ」を検索した。

糞便は腸チフス或いはパラチフス患者 6 例，健康者或いは病菌「フ」を検索する傳染病と無關係の患者 49 例，計 55 例，糞尿腐敗槽即ち農家で肥料にするため，人糞尿を農園の傍らの槽内に自然の燼に長期間腐敗せしめた肥料溜 5 例，下水は別府市内各所より採取した 12 例である。糞便はその指頭大に約 40 cc の生理食鹽水を加えて溶解し，大きい沈渣を除いて，松風 L₂ で濾過し，濾液そのままとその 3 ml ずつを上記の各種菌株で増強したものとについて，寒天平板法によつて「フ」を検索した。下水よりは松風 L₂ 濾液とこの 5 cc ずつを増強したものとを使用した。腐敗槽よりもこれらに準じて分離した。検索成績は第 1 表の如くである。志賀菌，駒込 B 菌，腸チフス

菌 W 型と V 型，パラチフス B 菌では「フ」が證明せられたが，大原菌，パラチフス A 菌，コレラ菌では證明されなかつた。この結果に依ると，

第 1 表 使用菌株及病菌「フ」検出成績

検査材料	陽性例数 検査数	糞 便	腐敗槽	下 水
使用菌株		3/55	5/5	2/12
志 賀		3	3	2
駒込 B		1	2	1
大 原 (S 型)		0	0	0
チフス W 型 (H 901)		0	1	0
チフス V 型 (Vi 1)		0	3	0
パラチフス A (1015)		0	0	0
パラチフス B (8006)		0	4	0
コレラ原型 (稻葉)		0	0	0

病菌「フ」は新鮮な糞便に比し腐敗槽の中にはるかに濃厚であつた。

分離した病菌「フ」の一般性状

空孔：分離した「フ」を分離に用いた菌株と共に平板培養して，空孔を觀察した結果，(1) 志賀菌，駒込 B 菌，腸チフス菌 W 型で分離した「フ」全株とパラチフス B 菌で分離した「フ」中の 3 株とは圓形小空孔，(2) パラチフス B 菌で分離した「フ」中の 1 株は圓形中小空孔，(3) 腸チフス菌 V 型で分離した「フ」は 3 株共不正圓形大・中空孔を作つた。

溶菌價：數回増強した「フ」を十進的に稀釋し寒天平板法によつて分離に用いた菌株に作用させた。その成績は第 2 表の如くである。

非特異的溶菌作用の範圍：分離した「フ」を前記病原菌 8 株並びに Imvic 反應 ++- の大腸菌 7 株（保存菌株 1 株 (C_m)，新に健康者糞便より分離したるもの 6 株 (C₁...C₆)）に作用させ

* Masakazu OGATA : Distribution of bacteriophages active on pathogenic bacteria and their properties. Japan J. Bact., 4(4): 149—152, 1949.

た成績は第2表に一括した如くである。被検「フ」20株は悉く分離に使用した病原菌以外の一株乃至数株の病原菌或いは大腸菌に作用するいわゆる非特異性「フ」であつて、特異性「フ」は分離せられなかつた(3,4,5,6,7)。腸チフス菌 V 型で分離した「フ」3株とパラチフス B 菌で分離した「フ」

中の1株とは溶菌作用が同一であつて、腸チフス菌 V 型とパラチフス B 菌以外の菌に作用しなかつた。他の 16 株中 13 株は何れも異なつた溶菌作用をなした。なお、分離した「フ」中にはコレラ菌に作用するものはなかつたが、何れかの大腸菌に作用するものが多かつた。

第2表 分離したる病菌「フ」の溶菌價及溶菌作用範圍

被 検 フ	溶 菌 價	赤 痢			チフス	バラチフス	コレラ	大 腸 菌							
		志賀	駒 B	大原	W V	A B	稻葉	C _m	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	
SG 9	-4/-6	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
// 45	-2/-5	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
// 46	-2/-3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
SP 1	-2/-4	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-
// 2	-5/-8<	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
// 3	-2/-5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
SR 7	-1/-2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
// 9	-3/-5	+	+	-	+	(+)	+	+	-	-	-	-	-	+	-
KG 45	-2/-4	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
KP 3	-1/-1	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
// 5	-1/-2	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
KR 11	-3/-8<	+	+	-	-	-	+	-	±	+	+	+	+	-	-
WP 1	-7/-8<	+	+	(±)	+	(±)	+	+	+	-	+	-	+	-	-
VP 1	-3/-8<	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
// 4	-4/-8<	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
// 5	-1/-5	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
BP 1	-2/-8<	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
// 3	-1/-4	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
// 4	-2/-6	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
// 5	-3/-8<	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

(註) 被検フ名中 S は志賀菌, K は駒込 B 菌, W はチフス菌 W 型, V はチフス菌 V 型, B はパラチフス B 菌に依り, G は糞便, P は腐敗槽, R は下水より分離したるフの意味である。例えば SP 1 は志賀菌に依り腐敗槽 No. 1 より分離したるフ。

溶菌價例 -4/-6 は 10⁻⁴ まで全面溶菌し 10⁻⁶ まで空孔を作る。+ は明瞭なる全面溶菌, ± は不明瞭, +。 は全面溶菌せず明瞭なる空孔を作る。(+) 或は (±) は同様の實驗を 2 回以上行つた場合一の成績と + 或は ± の成績のあることを示す。

「フ」の累代と溶菌價との關係

「フ」は該當する生菌を溶菌して、その力價を増し、これにより累代されるものとせられている(8,9)。私は、數種の菌に作用する非特異性「フ」において、その力價の増強及び累代の條件並に累代後の溶菌作用の變化を研究した。即ち、分離した「フ」の中より 4 株を選び、これを病原菌及び大腸菌々數株で累代を重ねた。累代の方法はブ

イオン 10 ml を入れた試験管の一系列に新鮮培養の各菌株を移植し、その各々に被検「フ」の 1 滴 (0.05 ml) ずつを加えて一夜培養し、58°C 30 分間加温してその各々の 1 滴宛を前と同様に各菌を移植したブイオンに加えて培養、この操作を反覆した。別に對照として菌を加えないブイオンに「フ」のみを 1 滴宛移植して累代の操作を行い、これに本來の「フ」が證明出來なくなるまで累代

の回数を重ねた。この方法により累代すること5回に至れば、始めの「フ」は最早證明出來なくなつた。

(I) 病原菌による累代: 各被檢「フ」を病原菌8株で累代し、累代「フ」の作用範圍と溶菌價を觀察した成績は第3表の如くである。

第3表 病原菌に依り累代したる「フ」の溶菌作用及溶菌價

被 檢 フ	増 強 菌	赤 痢			チ フ ス		パラチフス		コレラ
		志賀	駒B	大原	W	V	A	B	
SP 1	志 賀	-3/-6<	-1/-4	—	-2/-4	—	—	-1/-4	—
	駒 B	-2/-5	-1/-3	—	-2/-4	—	—	-1/-3	—
	チ フ ス W	-4/-6<	-4/-6<	—	-4/-6<	原 土	-1/-1	-4/-6<	—
	パラチフス B	-4/-6<	-3/-6<	—	-4/-6<	原/-1	-1/-1	-3/-6<	—
WP 1	志 賀	-3/-6<	-2/-3	—	-2/-4	—	—	-1/-3	—
	駒 B	-1/-4	-1/-4	—	-2/-6<	—	—	-1/-2	—
	チ フ ス W	-2/-5	-3/-5	—	-4/-6<	原 土	-1/-2	-2/-4	—
	パラチフス B	-3/-6<	-3/-6<	原土	-6/-6<	原 +	-2/-3	-2/-5	—
VP 1	チ フ ス W	原/-2	—	—	—	—	—	—	—
	チ フ ス V	—	—	—	—	-1/-5	—	-3/-6<	—
	パラチフス B	—	—	—	—	-3/-6<	—	-3/-6<	—
BP 1	駒 B	-1/-5	-2/-6<	—	-2/-5	—	—	-1/-1	—
	チ フ ス W	-2/-6<	-4/-6<	—	-3/-6<	—	-1/-2	-3/-3	—
	チ フ ス V	—	—	—	—	-1/-6<	—	-3/-5	—
	パラチフス B	-3/-6<	-3/-6<	—	-3/-6<	-3/-6<	原 +	-4/-6<	—

(註) 本表には累代出來ない例は除外した。原は原液。

(1) 被檢「フ」に作用せられる菌株と累代との關係を見るに、SP 1「フ」及び VP 1「フ」においてはこれらの「フ」の作用をうける菌株により總て累代せられ、WP 1「フ」及び BP 1「フ」においては累代できない場合があつた。比較的溶菌作用の弱い場合は累代できない。(2) 累代「フ」の溶菌作用の範圍は累代菌株により異り、累代「フ」の力價の強弱にも影響せられるが、累代により全く異つた「フ」の如く作用する場合があつた。即ち BP 1「フ」の腸チフス菌 V 型累代「フ」は、溶菌作用が BP 1「フ」とは著しく異なり、志賀菌、駒込 B 菌、腸チフス菌 W 株に対する溶菌作用を失つて、VP 1「フ」と全く同様の「フ」の如く變化した。VP 1「フ」はパラチフス B 菌により累代せられても、溶菌作用の變化を見ない。(3) 被檢「フ」の作用をうけない菌株によつては概して累代できないが、VP 1「フ」を腸チフス菌 W 型で累代した場合、その累代菌株には全く作用せずして、志賀菌にのみ軽度作用する「フ」が證明せられた。しかるにこの「フ」は志賀菌で

は累代することができないけれども、元の腸チフス菌 W 型で累代することができた。この關係は他の2株の腸チフス菌 V 型で分離した「フ」についても同様であつた。これについては更に研究中である。また類似の現象が大腸菌による累代の際にも證明せられている。パラチフス A 菌によつて累代せられた「フ」はなかつたが、腸チフス菌、パラチフス B 菌による累代によつて溶菌せられるに至つた。

(II) 大腸菌による累代。(I)に述べた4株の被檢「フ」を大腸菌4株で累代した成績は第4表の如くである。被檢「フ」に作用せられる菌株(第2表参照)によつては總て累代せられ、累代「フ」は病原菌に対する溶菌作用を保持し、かつ、特に累代菌株たる大腸菌に對してよりもむしろ病原菌を高度に溶菌する傾向が見られた。

總 括

私は別府市内の下水、糞尿腐敗槽、健康者及び傳染病患者糞便等につき、赤痢、腸チフス、パラチフス、コレラ菌等に作用するバクテリオファー

第4表 大腸菌に依り累代したる「フ」の菌作田溶及溶菌価

被檢「フ」	増強菌	赤 痢			チ フ ス		パ ラ チ フ ス		コ レ ラ	大 腸 菌			
		志賀	駒B	大原	W	V・	A	B	稻葉	C _m	C ₁	C ₃	C ₅
SP 1	C _m	-1/-2	1/-3	—	-1/-4	—	—	原/-1	—	原/-1	—	—	—
	C ₅	-1/-2	-3/-6<	—	-3/-6	—	—	-3/-5	—	-2/-6<	—	—	-1/2
WP 1	C _m	-1/-6<	-3/-6<	—	-1/-6<	—	原/-1	-1/-3	—	-1/-3	—	—	—
VP 1	C ₁	—	—	—	—	(原+)	—	(原+)	—	—	—	—	—
BP 1	C _m	原/-3	-3/-6<	—	-2/-6<	—	—	-1/-2	—	-1/-2	—	—	—
	C ₁	—	—	—	—	(原+)	—	(原+)	—	—	—	—	—

(註) 本實驗には大腸菌 C_m, C₁, C₃, C₅の4株を使用し、その中累代出来ない例は除外した。

「フ」を檢索し、分離した「フ」につき各種の性状を研究した結果は次の如くである。

1. 「フ」は志賀菌、駒込B菌、腸チフス菌W型とV型、パラチフスB菌等で分離されたが、大原菌、パラチフスA菌、コレラ菌(原型)では分離されなかつた。

2. 分離した「フ」は總て幾種かの菌に作用するいわゆる非特異性「フ」であつた。即ち、赤痢菌屬、腸チフス、パラチフス菌屬の「フ」は相互の菌屬に作用した同屬間の菌株にも作用するのみならず、何れかの菌に作用した。志賀菌のある株は特異的に見えたが、或種の大腸菌に作用し、腸チフス菌V型による「フ」、パラチフスB菌による「フ」1株が相互にのみ作用して、腸チフス菌V型とパラチフスB菌とは一定の關係あるように見え、他の菌株に作用しなかつた。またパラチフスA菌によつては「フ」は分離されなかつたが、志賀菌、腸チフス菌、パラチフスB菌による「フ」のある株により作用された。

3. 志賀菌、腸チフス菌W及びV型、パラチフスB菌による「フ」を各種菌株で累代増強を計つた後、再びこれらの菌株に作用させた結果、多くの場合累代は可能であつて、その作用にも特別の變化は認められなかつたが、次の二つのことが異つた。即ち

(イ) 腸チフス菌V型による「フ」を同W型菌で増強累代してもW型菌を溶菌せず、志賀菌を溶菌するに至つた。この成績は數回繰返しても同様であつた。

(ロ) パラチフスB菌による「フ」を腸チフス菌V型で増強累代した結果、志賀菌、駒込B菌、

腸チフス菌W型、パラチフス菌A等には作用せず、腸チフス菌V型及びパラチフスB菌にのみ作用するに至つた。此の(イ)及び(ロ)につき更に研究中である。

4. 多くの「フ」は1株乃至數株の大腸菌に作用した。即ち、大腸菌を中心にして考えれば、「フ」の作用を受け易いものと、そうでないものとがあり、「フ」から見れば大腸菌は夫々異なつた性質を持つてゐるものと考えられる。そして、大腸菌で數種の「フ」を増強累代した結果、大概自菌に對する力價よりは遙に強く病原菌に作用した。

5. 「フ」は新鮮な糞便に少なく肥料用の腐敗槽の中に極めて濃厚に證明された。或糞尿腐敗槽の濾液よりは腸チフス菌(W及びV型)、パラチフスB菌に作用する「フ」が直接證明された。

これらの「フ」はいわゆる非特異性「フ」であつて、多くの大腸菌によつて増強累代せられることから考へて、糞尿腐敗槽の中には「フ」が多く在つてもよい筈であるが、その中に病菌「フ」の多い原因に關しては更に委しく研究している。

終りに臨み小林教授の御校閱を謹謝し、恩師豫防衛生研究所福岡留博士の御懇篤な御指導と御校閱を衷心より感謝する。

文 獻

- 緒方正一：北京日本醫學會，昭19。
- 天兒民恵：日本傳染病學會雜誌，1卷，248-257大15。
- 岡村泰次：日本傳染病學會雜誌，3卷，503-549昭4。
- 中村信郎：醫學中央雜誌，24卷，321，413，488，568，853，大15。
- 原晴行：細菌學雜誌，505號，173-204，昭13。
- 河邊秀雄：細菌學雜誌，567號，211-226，昭18。
- 黑澤眞一郎：東京醫事新誌，2535，昭2下。
- 細菌學實習提要，357-365，昭22。
- 中村豊：細菌學血清學檢査法，673-680，昭15。