肺炎双球菌の胆汁並にペニシリン耐性株の性状について

群馬大學醫學部法醫學教室（主任 井關教授）

岡田正次郎・田尻哲夫

肺炎双球菌の胆汁溶解性は肺炎双球菌に特異な現象として既に知られているが、この感受性の高い菌を胆汁の入ったブイヨンに培養し、胆汁の低濃度より次第に高濃度のものへ植えつぐと胆汁に耐性な變異株をうる事が出来る。

田尻⁽¹⁾は先に肺炎双球菌Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型を用いて以上の方法により10%の割合に牛胆汁を含むブイヨンに發育し得る耐性株をつくり、異性型物質より見た抗原構造上に原株と耐性株との間に著明な變化の起ることを明らかにした。

又一方、肺炎双球菌はペニシリンに對しても胆汁の場合と同様の方法によりペニシリン耐性株に變異するのであるが、このペニシリン耐性株の生物學的並に免疫學的性状については既に河野⁽²⁾、芳村⁽³⁾、中村⁽⁴⁾等の報告がある。

われわれは、牛胆汁並にペニシリンに對してかなり高度の耐性株について、その生物學的性状特に糖分解能の變化、及び牛胆汁並にペニシリン耐性株の相互間の感受性等について調べたので茲に報告する。

實驗材料及び實驗方法

1. 實驗に使用した肺炎双球菌型S型のⅠ型、Ⅱ型は傳染病研究所より分與されたもので、Ⅲ型は當教室に於て患者より分離したものである。

2. 胆汁耐性株は、各型のS型或はR型を最初牛胆汁の0.25%の割合に入った馬肉ブイヨンに培養し毎日植えつぐと同時に次第に牛胆汁の濃度を高め、10%に加えても生えうる程度に變異させたものである。

3. ペニシリン耐性株は肺炎双球菌Ⅲ型のS型を牛胆汁の場合と同様の方法により、ペニシリン加血清ブイヨン中を150代通過させたもので、原株に比し約200倍耐性が強まつている。

實驗成績

A 胆汁耐性株の性状

(1) 形態及び集落。

Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型の牛胆汁耐性株は各型のS型、R型、に比して連鎖は長く、血液寒天平板上の集落の大きさはⅠ型、Ⅱ型の耐性株は各々のR型より稍小さく、これに反してⅢ型の耐性株はかえつて稍大きく、各型とも耐性株の集落はR型より不透明で表面が粗造である。ブイヨンに發育させると耐性株は一般に沈澱性の發育を示している。

(2) 自發凝集性

生理的食塩水に對してⅠ型、Ⅱ型の耐性株は、S型、R型と異なり自發凝集性を有しているが、Ⅲ型の耐性株にはⅠ型、Ⅱ型に比して弱い自發凝集性を認めた。

(3) マウスに對する毒力

体重15g内外のマウスを選び、ブイヨン20時間培養の生菌をその腹腔内に接種し1週間觀察した後、M. L. D. を決めた。これによると肺炎双球菌のR型は各型の間に大差なく0.5-1.0ccであるが、耐性株はR型より多少毒力は低下しⅠ型の耐性株は3cc、Ⅱ型、Ⅲ型の耐性株は2ccであつた。

(4) 耐性の復歸

各型の胆汁耐性株を血液寒天平板に培養し100代以上代を重ねたが胆汁に對する耐性には全く變化が認められなかつた。即ちこの牛胆汁耐性株は一種の突然變異を起しているものと考えられる。

(5) 糖分解能

表1に示す如く各型のS型とR型の間には糖分解能に變化は認められないが、耐性株になると新たにマンニットを分解するようになる。又Ⅲ型はS型、R型共にイヌリンを分解するが、耐性

株はこの性状を失なっている。

表 1 肺炎双球菌のS型、R型及び牛胆汁耐性株の糖分解能

含水炭素	I型 S	I型 R	I型 牛胆汁耐性株	II型 S	II型 R	II型 牛胆汁耐性株	III型 S	III型 R	III型 牛胆汁耐性株
イヌリン	—	—	—	—	—	—	+	+	—
マンニト	—	—	+	—	—	+	—	—	+
乳糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+
蔗糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラフィノゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ソルビット	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 2 肺炎双球菌のS型、R型及び牛胆汁耐性株のペニシリン感受性

ペニシリン u/cc	I型 S	I型 R	I型 牛胆汁耐性株	II型 S	II型 R	II型 牛胆汁耐性株	III型 S	III型 R	III型 牛胆汁耐性株
0.005	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.01	+	—	+	—	—	+	+	+	+
0.02	—	—	+	—	—	+	—	—	+
0.05	—	—	+	—	—	—	—	—	+
0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	+
0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

＋は菌の發育を示す

(6) 牛胆汁耐性株のペニシリンに対する感受性

表 2 に示す如く各型のペニシリンの最少有効濃度はS型に於ては0.01—0.02u/ccでS型とR型及び各型の間に大差はないが、牛胆汁耐性株は0.05—0.2u/ccでI型はR型に比して10倍、II型はR型に比して4倍、III型はR型に比して10倍ペニシリン耐性となつている。

B ペニシリン耐性株の性状

(1) 形態及び集落

耐性株は原株に比して菌体は大きくグラム染色の陰性化も認められる。集落は小さくなり粘液産生は原株に比して著明に減少している。

(2) マウスに対する毒力

耐性株の毒力は著明に低下し、原株のM. L. D. は0.001ccであるのに對して耐性株は0.3ccであつた。

(3) 耐性の復歸

ペニシリン耐性の復歸は耐性が5倍位まではブイヨン又は血液寒天に5—6代うえつぐことにより容易に復歸するが10倍位になると復歸は困難となり、150代通過させた耐性株では血液寒天に1週間間隔で75代うえついても耐性には殆んど變化が認められなかつた。

(4) 糖分解能

イヌリン、マンニト、乳糖、蔗糖、ラフィノゼ、ソルビット等について原株と耐性株との糖分解能を比較してみると、耐性株は蔗糖の分解能を失つていた。この蔗糖の分解能の消失はペニシリン培地を8代通過させても認められるもので、この程度のペニシリン通過では耐性は原株に比し約2倍であり比較的容易に耐性は復歸するが蔗糖の非分解性には變りはない。又この8代ペニシリン通過株をマウスの通過を3代行つても分解能は得られなかつた。

(5) ペニシリン耐性株の牛胆汁に対する感受性

ペニシリン耐性株は原株に比し牛胆汁に對しても耐性が強まつている。即ち原株が0.25%胆汁加ブイヨンにかろうじて生えうるに對してペニシリン耐性株は0.75%の胆汁濃度に於ても發育するのが認められる。

(6) S-R變異

ペニシリン耐性株は血液寒天平板上で集落は小さく粘液産生が悪いのでR型に似た外觀を呈しているが、抗S血清の中Ⅲ型の免疫血清にのみ特異的に凝集し、且S.S.S.の産生を弱いながらも認めた。即ち耐性株は所謂中間型に變異したものと考えられる。この点牛胆汁耐性株はペニシリン耐性株と異なり、耐性が8倍位強まると菌はほとんどR型に變異するものであるが、ペニシリンに於ては200倍耐性に變異しても完全なR型の出現は認められなかつた。

考察並に總括

以上の成績より肺炎双球菌Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型の牛胆汁耐性株は集落形態、自發凝集性、ブイオンの發育状況等よりGriffithの言うR型よりも、むしろその後Dawsonによつて發表されたM-S-R三相變異説のⅢ型に似た性状を示している。然しながら牛胆汁耐性株はその由來によつて明らかな如く胆汁に著明に耐性であり、不可逆性の變異株であること等よりDawsonのR型と異なる別の變異型式であると考えられる。この變異型式に關連した他の性状の變化としてマンニト分解能を新たに獲得しているのは代謝機構の變化の一端を知る興味ある知見である。

肺炎双球菌Ⅲ型のペニシリン耐性株は、その菌形、集落形態、毒力、耐性の不可逆性等に於て河野⁽²⁾、芳村⁽³⁾、等の報告に略一致した成績を示している。又ペニシリン耐性株は蔗糖の分解能を失つてゐるが、これは糖分解能の變化がペニシリン耐性と何等かの關連性があるものと考えられる。

牛胆汁及びペニシリン耐性株の相互間の感受性を交叉試験により比較すると、牛胆汁耐性株はペニシリンに對して原株に比し5-10倍耐性であり、ペニシリン耐性株は牛胆汁に對し原株に比し約3倍耐性であつた。

文 献

(1) 田尻哲夫：肺炎双球菌の異性型物質の變異。第33次日本法醫學總會會誌。日本法醫學雜誌，3 (4-5)，224，9 昭24。(19)。(2)

河野久米雄：ムコズス菌のペニシリン及びストレプトマイシンに對する感性。耐性並びにその後歸に就いて。ペニシリン，3 (1)，59-60，昭26。(1949)。(3) 芳村次雄：細菌のペニシリン耐性に關する研究。北海道醫學雜誌，22 (4)，169-172，昭24。(1949)。(4) 中村豊，山田守英：細菌のペニシリン耐性について。日本醫事新報，No. 1323，3-7，昭24，9 (1949)。(5) Griffith, F.: Report of Public Health and Med. Subj., Lond., No. 18, 1923. (6) Dawson, M. H.: Variation in the pneumococcus. J. Path. & Bact., 39, 323-324, 1934.

ON THE CHARACTERS OF BILE-RESISTANT AND PENICILLIN RESISTANT-STRAINS OF PNEUMOCOCCI.

Shojiro Okada, Tetsuo Tajiri

Department of Legal Medicine, School of Medicine,

Gumma University. (Director: Prof. S. Iseki)

We prepared highly bile-resistant strains of pneumococci type I, II, III, and a highly penicillin-resistant strain of pneumococcus type III, and investigated changes of their characters comparing them with the parent strains.

(1) The bile resistant strains resemble to Dawson's R in their colonial roughness, granular growth in fluid media, and instability in saline, but they are different from Dawson's R in their bile resistance and irreversibility to S.

(2) The bile-resistant strains are capable of fermenting mannitol.

(3) The penicillin-resistant strain of pneumococcus type III loses the power to ferment saccharose

(4) The bile-resistant strains are five to ten times as resistant to penicillin as their parent strains, and the penicillin resistant strain is three times as resistant to bile as its parent strain.