尿路感染由来の腸内細菌に関する研究

第3報 *Klebsiella* についてStudies on the Enterobacteriaceae isolated from Urinary Infections
Report III Studies on *Klebsiella* isolated from Urinary Infection藤 野 湊*
Shyoku FUJINO

Toenissen¹⁻⁵⁾ が Friedländer 杆菌莢膜の血清学的特異性を明かにして以来, Julianella^{6, 7)} はその莢膜を A, B 及び C の3型に分類し, 次いで Goslings 及び Snijders⁸⁾ はさらに D, E 及び F の3型を追加した。これらの中, A 及び B は所謂 Friedländer 杆菌として肺炎及び深部気道に由来し, C は鼻硬化症, D, E 及び F は臭鼻症に由来する諸点から, 呼吸器由来の有莢膜性グラム陰性杆菌は *Klebsiella* と呼ばれてきた。一方, 糞便及び尿路に由来する莢膜杆菌は MacConkey^{9, 10)} により *Aerobacter aerogenes* としてとりあげられており, 爾来 *Klebsiella* 及び *A. aerogenes* はそれぞれ別個の Genus として取扱われ, 1948 年の Bergey's Manual 第6版にも両者は別個に記載されている。この傾向は現在にも及び, 多くの臨床家は有莢膜性グラム陰性杆菌中, 呼吸器由来菌は *Klebsiella*, また糞便及び尿路由来菌は *A. aerogenes* としてそれぞれ理解しているようである。

然し *Klebsiella* と *A. aerogenes* とが生化学的に何等区別し得ないことは既に Edwards^{11, 12)} によって指摘されており, 又従来の *Klebsiella* と同一の莢膜をもつ菌が糞便, 尿等に出現することも屢々あるので, 1949 年 Kauffmann¹³⁾ は *Klebsiella* 及び *A. aerogenes* を統合し, 新たにこれを *Klebsiella* 菌群と名づけた。Kauffmann の分類は腸内細菌小委員会でもとりあられ, 現在ではこの分類が国際的に用いられている。

既に第1報¹⁴⁾ で述べた如く, 本研究において分離した腸内細菌 453 株中, *Klebsiella* は 43 株 (約 9.5%) を占めた。それらの生化学的性状, 血清学的性状及び各種充生物質等に対する感受性を第3報として述べる。

実験方法

生化学的性状: 生化学的性状の検査法は第1報に既述した。

* 順天堂大学医学部衛生学教室

1958年2月10日受付

莢膜の確認: 莢膜の確認には古くから多くの染色法が考案されているが, 未だ完全なものはなく, これに反し墨汁法は操作が簡単で, しかも確実なことは Edwards 及び Duguid¹⁵⁾ が認めているので, 本研究における莢膜の確認にはすべて墨汁法を用いた。即ちのせガラス上に墨汁 (ハヤシ製図用インキを使用した) 1 滴をとり, その近辺に適度に稀釈した被検菌々液 1 白金耳をおいて, 両者を連絡させたのち, ふたガラスで被い, 墨汁の最適濃度のところで鏡検した。

莢膜型の決定: 莢膜血清は莢膜型 1~72 の標準菌株で免疫した家兔血清を用いた。又これらの血清はその類縁反応及び莢膜凝集価を考慮にいれて, 適宜 3~5 種づつ混合し, スクリーンテスト用の多価血清とした。

被検菌は予め MacConkey 寒天上に集落を形成させ, 莢膜のよく発育した集落から Worfel-Ferguson 培地に移植して, 37°C 18 時間培養後莢膜型の検査に供した。

莢膜型の検査には先づ前記多価血清を用いて, ためし凝集反応を行い, 次いで明かに凝集を示した多価血清を構成する各血清について再びためし凝集反応を行つた。被検菌がある莢膜血清に対して凝集したならば, さらに該血清を用いて莢膜膨化反応を行い, 莢膜の膨化を確認したのち, 莢膜型を決定した。もし2種類以上の莢膜血清に反応し, しかも, そのいづれに該当するか決定し難い場合は, 吸収試験を行つた。

抗生物質及びスルファミンに対する感受性: ペニシリン, ストレプトマイシン, オキシテトラサイクリン, クロルテトラサイクリン, クロラムフェニコール及びスルファイソキサゾールについてディスク法により検査した。

実験成績

I. 生化学的性状

分離菌 43 株の形態学的及び生化学的性状は表 1 に示す。

Kauffmann¹⁶⁾ によつて示された *Klebsiella* の定型

的性状は次の如くである。

インドール-, メチルレッド-, Voges-Proskauer+, クエン酸ソーダ+, 硫化水素-, ゼラチン-, 尿素+, 乳糖+, 蔗糖+, アドニット+, イノシット+, サリシン+, ズルシット-。

表 1 分離菌 43 株の生化学的性状

	分 離 菌 株
Adonitol	38+, 3×, 2-
Dulcitol	8+, 35-
Sorbitol	43+
Arabinose	43+
Xylose	43+
Rhamnose	41+, 1×, 1-
Inositol	33+, 5×, 5-
Lactose	43+
Sucrose	43+
Mannitol	43+
Glucose	43+
Glycerol	40+, 2×, 1-
Starch Sol.	33+, 4×, 6-
Gas (Glycerol)	42+, 1-
(Starch)	35+, 8-
Indole	5+, 38-
H ₂ S	43-
Gelatin	6×, 37-
Simmon's Citrate	2-, 41+
KNO ₃	43+
Voges-Proskauer	2-, 41+
Methyl red	9+, 34-
Urea	31+, 12-
d-tartrate	40+, 3-
KCN	43+
Motility	43-
Capsule	43+

備考: + = 陽性, - = 陰性, × = 遅れて陽性

また, 所謂 *Aerobacter aerogenes* と *A. cloaca* との鑑別については古くから諸説があり MacConkey は運動性とゼラチン液化性を, Kligler¹⁷⁾ はグリセリン分解性を, また Stuart 等¹⁸⁾ は可溶性澱粉分解性を両者の鑑別点としている。

こゝに得られた分離菌 43 株の生化学的性状を上記各性状に照合すると, 乳糖及び蔗糖は全株これを分解し例

外はなかつたが, その他の性状は次の百分比において, それぞれ例外を示した。

インドール	12% が陽性
メチルレッド	21% が陽性
Voges-Proskauer	5% が陰性
クエン酸ソーダ	5% が陰性
ゼラチン	14% が遅れて陽性
尿 素	28% が陰性
アドニット	7% が遅れて陽性. 5% が陰性
ズルシット	19% が陽性
グリセリン	5% が遅れて陽性. 2% が陰性
可溶性澱粉	9% が遅れて陽性. 13% が陰性, 又 18% がガス非産生

Klebsiella におけるかゝる例外的な性状は最近 Edwards 等及び坂崎等¹⁹⁾ も報告しているところで, 決して珍らしい事例ではないように思われる。

坂崎等²⁰⁾ は *Klebsiella* と *Cloaca* との鑑別に, 既述の性状以外に d-酒石酸塩の分解能をとりあげているが, 著者の菌株では 43 株中 40 株 (93%) が Jordan の酒石酸塩培地を強く黄変し, 氏等の成績を確認し得た。

なお, 分離菌 43 株はすべて非運動性で, その他に若干の有莢膜性運動菌も分離されたが, それらはいずれもリジン, オルニチン, アルギニン及びグルタミン酸のデカルボキシレーションで *Klebsiella* とは全く異なるパターンを示し, しかも Edwards 等がかゝる菌株を *A. cloaca* として分類すべきことを提唱している事実にかんがみ, 著者も亦これを *Cloaca* に含ましめ, *Klebsiella* からは除外した。

II. 血清学的性状

Klebsiella 莢膜血清 1~72 を用いて, 分離菌 43 株の莢膜を型別した成績は表 2 の如くである。即ち 43 株中既知莢膜血清で型別し得たものは 37 株 (86%) で, 6 株 (14%) は未知の莢膜型をもつ菌株であつた。

既知菌型に該当した 37 株は次の如く分類された。

莢膜型 1-2 (5.4%), 同 2-2 (5.4%), 同 3-3 (8.1%), 同 4-1 (2.7%), 同 7-3 (8.1%), 同 8-2 (5.4%), 同 9-3 (8.1%), 同 10-10 (27.2%), 同 14-1 (2.7%), 同 28-1 (2.7%), 同 36-2 (5.4%), 同 37-1 (2.7%), 同 38-1 (2.7%), 同 42-3 (8.1%), 同 72-2 (5.4%)。

坂崎及び波岡によれば, 糞便由来 *Klebsiella* と臓器由来 *Klebsiella* との間には莢膜型の差異が認められ,

表 2 分離菌 43 株の莢膜型

莢 膜 型	菌 株 数
1	2
2	2
3	3
4	1
7	3
8	2
9	3
10	10
14	1
28	1
36	2
37	1
38	1
42	3
72	2
不 明	6
計	43

又病的材料由来株の莢膜型は 1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 14, 18, 28 等であつたという。著者は糞便由来 *Klebsiella* の検索を行っていないので、これと分離菌とを比較することはできなかったが、分離菌の莢膜型中 1~28 に該当したものは、既知莢膜保有菌の約 70% を占め、坂崎等の成績と同様な傾向を示した。

従来から呼吸器系 *Klebsiella* と考えられていた莢膜型 1~6 が尿路感染から屢々検出されることは興味ある事実で、このことは既に Edwards も認めており、この点でも従来の如く *Klebsiella* と *A. aerogenes* とを区分すべき理由は見当たらない。

著者の分離菌 43 株中、莢膜型 10 が 27.2% (10 株) を占めたことは一応注目される点であるが、同莢膜型はある一定期間に相次いで検出され、その前後では殆ど分離されていないから、おそらく病院内感染によるものであらうと推察される。

III. 各種抗生物質及びスルファミンに対する感受性

分離菌 43 株について、ペニシリン、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、クロラムフェニコール及びスルフアイソキサゾールの感受性を試験した成績は表 3 の如くである。

43 株中、ペニシリンに感受性のあるものは全くなかった。他の抗生物質に対しては、概ね感受性を有し、ストレプトマイシンに 5 株、クロルテトラサイクリンに 3 株

表 3 各種抗生物質並びにスルファミンに対する感受性

抗生物質並びにスルファミン	分 離 菌 (43 株)	
	感 受 性	抵 抗 性
ペ ニ シ リ ン	0	43
ス ト レ プ ト マ イ シ ン	38	5
ク ロ ラ ム フ ェ ニ コ ー ル	43	0
オ キ シ テ ト ラ サ イ ク リ ン	43	0
ク ロ ル テ ト ラ サ イ ク リ ン	40	3
ス ル フ ア イ ソ キ サ ザ ー ル	5	38

がそれぞれその抵抗性を示しただけで、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコールは抵抗株がなかった。しかし感受性株の中には感性度 ++ 即ち比較的感受性のものも含まれている。又菌型による特性は認められず、同一菌型でも菌株により感受性は区々であつた。同時に試験したスルファミンについては、感受性を示したものは感性度 ++ のもので、僅かに 5 株、他はすべて抵抗性株であつた。

考 察

従来呼吸器系 (*Klebsiella*) と糞便、尿路系 (*A. aerogenes*) と理解されてきた有莢膜性グラム陰性杆菌は Edwards によつて生化学的に区別し得ないことが云われ、更に Kauffmann は、これらを *Klebsiella* 菌群と名づけ、亦これが国際的に用いられているが、著者の分離した尿由来菌株についての実験成績は、その生化学的性状に若干の例外はあつても、何等区別し得なかつた。一方、これらの血清学的性状についても、従来呼吸器系と考えられていた莢膜型 1~6 が屢々証明されて、全く両者の相違を見出せない。分離菌の莢膜型は 1~28 に該当したものが、分離した既知莢膜保有菌の約 70% で、糞便由来の莢膜型とはその型を異にしており、尿路感染との間に何等かの関連を思わしめるようである。

又、*Klebsiella* による尿路感染に対して用うべき抗生物質は、クロラムフェニコール、オキシテトラサイクリン及びストレプトマイシンであるが Eisenberg 等の云う血清型と各抗生物質の感受性との関係については明かな差異が認められず、その個々のものに対する感受性は菌株によつて異なるので、治療に際しては予め分離菌の感受性試験を行つて、使用抗生物質を適正ならしめる必要がある。

結 言

1. 尿路感染由来 *Klebsiella* 43 株の生化学的性状に

ついて記載した。

2. 43 株中, 既知莢膜を有するものは約 37 株 (86%) で, これらは 15 莢膜型に分類された。

3. ペニシリンに対しては全株, スルファミンには 88% の株が抵抗性であつたが, 88~100% は他の抗生物質 (クロラムフェニコール, テトラサイクリン類及びストレプトマイシン) に対して感受性を示した。

稿を終るに臨み, 御指導, 御校閲を載いた阿部教授に深謝します。

文 献

- 1) Toennissen, E.: Zentralbl. f. Bakt., I. Orig., 65, 23, 1912.
- 2) Toennissen, E.: *ibid.*, 75, 329, 1914.
- 3) Toennissen, E.: *ibid.*, 76, 262, 1915.
- 4) Toennissen, E.: *ibid.*, 85, 225, 1921 a.
- 5) Toennissen, E.: *ibid.*, 86, 353, 1921 b.
- 6) Julianelle, L. A.: J. Exper. Med., 44, 113, 1926 a.
- 7) Julianelle, L. A.: *ibid.*, 44, 683, 1926 b.
- 8) Goslings, W.R.O. & Snijders, E.P.: Zentralbl. f. Bakt. I. Orig., 136, 1, 1936.
- 9) MacConkey: J. Hyg., 5, 333, 1905.
- 10) MacConkey: *ibid.*, 9, 86, 1909.
- 11) Edwards, P.R. & Fife, M.A.: J. inf. Diseases, 91, 92, 1952.
- 12) Edwards, P.R. & Fife, M.A.: J. Bact., 70, 382, 1955.
- 13) Kauffmann, F.: Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 26, 381, 1949.
- 14) 藤野 暎: 順天堂医学雑誌, 3, 4, 295, 1957.
- 15) Duguid, J.P.: J. Path. Bact., 63, 673, 1951.
- 16) Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae, Copenhagen, Ejnar Munksgaard, 1954.
- 17) Kligler, I. J.: J. infect. Diseases., 15, 187, 1914.
- 18) Staart, C.A., Wheeler, K.M., Rustigian, R. & Zimmerman: J. Bact., 45, 101, 1943.
- 19) 坂崎, 波岡: 日本細菌学雑誌, 印刷中.
- 20) 坂崎, 波岡: 日本細菌学雑誌, 印刷中.

Summary

This paper deals with biochemical and serological studies and sensitivity test to antibiotics of 43 *Klebsiella* strains isolated from the cases of urinary infections.

Results obtained were summarized as follows.

- 1) 37 strains (86%) were belonged to the known capsular types serologically and these strains were classified to 15 types by the capsular antigens.
- 2) All the strains were resistant to penicillin and 88% to sulfaisoxazole but to other antibiotics (chloramphenicol, tetracyclines and streptomycine) 88~100% of them were sensitive.

Department of hygiene, Juntendo University, School of Medicine.