飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—V.

腸球菌と他の菌種との抗生物質に対する感受性の比較

堀 江 進・関 根 隆

(1959 年 9 月 3 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES
OF FOOD AND DRINK—V.COMPARISON OF SENSIBILITY TO VARIOUS ANTIBIOTICS BETWEEN
ENTEROCOCCI AND OTHER ORGANISMS

Susumu HORIE and Yutaka SEKINE*

CYD broth** (polypepton 2%, dextrose 1.5%, Na-citrate·2H₂O 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 0.5%, K₂HPO₄ 0.3%, KH₂PO₄ 0.3%, pH 7.0) was found to be a suitable nutrient medium for growth of enterococci, as reported in the preceding paper⁷⁾. By the addition of some effective bacteriostatic agents to this medium, a selective medium for enterococci will probably be obtained. In an attempt of finding such useful inhibitory agents, the authors compared the sensibility against various antibiotics, using CYD agar plate as a basal medium, between enterococci and other organisms. In comparison with other gram-positive organisms, enterococcal strains were found to be highly resistant to fradiomycin, streptomycin, viomycin and oxytetracycline. Particularly, enterococci were characterized by their high resistance to fradiomycin, viz., a concentration of 25γ per ml of fradiomycin in CYD agar inhibited all of the gram-positive organisms tested except enterococci, whereas even a concentration of 100γ per ml of this antibiotic failed to inhibit the growth of enterococci. In the case of CYD broth medium, it was likely that a concentration of more than 100γ per ml of fradiomycin in the medium will be required for inhibiting gram-positive organisms other than enterococci. Any of antibiotics examined in this study could not inhibit all of gram-negative organisms when used in a concentration that allows the growth of enterococci. Enterococci showed a higher resistance to colistin as compared with coliform organisms, viz., all of enterococcal strains tested grew in the CYD agar containing 30,000 u. per ml of colistin, whereas almost all strains of coliform group were inhibited in a concentration of 300 u. per ml. It was noted that there exists a specific relation between the type of enterococcus group and the sensibility to leucomycin, viz., a concentration of 0.5γ per ml of leucomycin in CYD agar inhibited only type III of enterococcus group.

結 言

腸球菌の制菌剤に対する抵抗性に関しては、すでに FLEMING¹⁾, BORNSTEIN²⁾ によつて、本菌はペニシリン並びに tellurite に対し比較的抵抗性の強いことが認められており、またスルホンアミド剤抵抗性に関しては NETER³⁾の報告がある。腸球菌と一般細菌との間における、あるいは菌型を異にした腸球菌々株相互の間における制菌剤に対する抵抗性の比較は、腸球菌群の分類上の位置を確立する上に、また本菌群の中における菌型を区分する上に役立つ可能性が考えられるが、また一方において、本菌検査用の選択培地に応用し得る適当な制菌剤を探索する上においても有意義である。HAJNA および PERRY⁴⁾の腸球菌検出培地に

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

** Citrate yeast dextrose broth.

Table 1. Comparison of sensibility to various antibiotics

Organism			Concentration of antibiotic				Chloramphenicol γ/ml				Streptomycin γ/ml				Tetracycline γ/ml				
			100	10	1	0.1	1000	100	10	1	1000	100	10	1	100	10	1	0.1	0.01
Enterococci	Strains of ATCC	<i>Streptococcus faecalis</i> 8043	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		<i>Str. faecalis</i> 10541	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		<i>Str. liquefaciens</i> 4532	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		<i>Str. zymogenes</i> 10100	-	-	±	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		<i>Str. durans</i> 9810	-	-	+	+	-	±	+	+	-	±	+	+	-	-	-	+	+
	Own strains	Y 137 (type I)	-	-	±	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		Y 161 (type II)	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		K 40 (type III)	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
	Other gram-positive organisms	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	±	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
		<i>Micrococcus piog.</i> var. <i>aureus</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
		<i>Micrococcus conglomeratus</i>	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
		<i>Micrococcus citreus</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Gram-negative organisms		<i>Aerobacter aerogenes</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
		<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+
		<i>Proteus morganii</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
		<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+
		<i>Flavobacterium fuscum</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	±	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
		<i>Serratia marcescens</i>	-	±	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+

は NaN_3 が用いられており, Difco manual⁵⁾に記載されている WINTER および SANDHOLZER の確認試験用培地には NaN_3 の他にペニシリンが利用されている。さらに LITSKY⁶⁾ は NaN_3 とエチルバイオレットとを併用した培地を報告している。

堀江⁷⁾ は前報において, 腸球菌の発育に極めて好適な citrate yeast dextrose broth (2% ポリペプトン, 1.5% ブドウ糖, 1% Na-citrate·2H₂O, 0.5% 酵母エキス, 0.5% NaCl, 0.3% K₂HPO₄, 0.3% KH₂PO₄, pH 7.0, 以下 CYD broth と略記) について報告したが, 本培地を基礎として腸球菌の選択培地を導き出す意図から, 培地に選択性を与える上で, 最も好ましい制菌剤を探索することを主眼として, 特に抗生物質並びに色素類等に対する腸球菌と他の一般菌種との感受性について, 広範囲にわたり比較検討したが, その中, 抗生物質に関する結果について報告する。

実験材料および方法

1. 実験に用いた抗生物質

ペニシリン G Na 塩 (明治製菓), ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩* (明治製菓), クロラムフェニコール (三共), テトラサイクリン塩酸塩 (万有製菓), クロルテトラサイクリン塩酸塩 (日本レダリー), オキシテトラサイクリン塩酸塩 (台糖ファイザー), ロイコマイシン酒石酸塩 (東洋醸造), コリスチン塩酸塩 (八州化学), バイオマイシン硫酸塩 (三共), グラミジジン J 塩酸塩 (日研化学), オーレオスライシン (万有製菓), ポリミキシン B 硫酸塩 (台糖ファイザー), バントラシン, エリスロマイシン, フラジオマイシン。

上記の 15 種の抗生物質を用いたが, いずれも力価の明らかなもので, それぞれ括弧内に記載した各会社より寄贈されたものであり, 記載のないバントラシンは国立予防衛生研究所柳下枝官より, またエリスロマ

* 以下略してストレプトマイシンと記載した。

between enterococci and the other organisms.

Chlortetracycline γ/ml					Oxytetracycline γ/ml					Fradiomycin γ/ml				Viomycin γ/ml			
100	10	1	0.1	0.01	100	10	1	0.1	0.01	100	10	1	0.1	1000	100	10	1
-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	±	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	±	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	±	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	±	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	±	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+
-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+
-	-	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-	-	+	-	+	+	+
-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+
-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	±	+	+	+
-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+
-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	±	+	+	+
-	±	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	±	+	+	+

イシン並びにフラジオマイシンは同研究所の山崎技官より分与されたものである。

2. 供試菌株

腸球菌並びに大腸菌群の全菌株およびその他の若干の菌株は当教室の保存菌株を使用した。この他に京都大学農学部木俣教授、千葉大学腐敗研究所相磯教授、東京大学農学部飯塚助教授、国立予防衛生研究所草間技官、河端技官、長尾研究所椿博士等より多数のグラム陰性並びに陽性菌々株の分与を受けた。この報告では一般に腸球菌の分類は堀江⁸⁾の方法により、大腸菌群は IMVIC system によつた。

3. 抗生物質に対する感受性の観察実験

基礎培地として一般に前記 CYD broth に 2% の寒天を添加した CYD 寒天平板を用いたが、特にフラジオマイシンについては CYD broth における観察を行つた。感受性比較実験を行つた各抗生物質の濃度は腸球菌と他種細菌との感受性の差異を見出すことを主眼として、適当に選定した。試験すべき各抗生物質の濃度の 10 倍濃度の溶液を無菌的に調製しておき、CYD 寒天を用いた場合には、この溶液を、予め加熱溶解して約 50°C に冷却した CYD 寒天の 9 倍量に、無菌的に加えて混和した後、シャーレに流し、平板培地とした。試験菌株をブイヨン (1% ポリペプトン, 1% 肉エキス, 0.2% NaCl) に 37°C で 24 時間培養し、その 1 白金耳を上記平板培地に画線し、37°C で 24 時間培養後の発育を観察したが、各実験結果を示した Table において、+ は発育したものを、- は完全に発育を阻止されたものを、± は著しく阻害され僅かに発育したものを表わした。CYD broth を基礎培地としたフラジオマイシンの試験の場合には前記同様の 10 倍濃度のフラジオマイシン溶液 1ml を、滅菌した CYD broth の 9ml に無菌的に注加しさらに 100°C 10 分間の滅菌を行つた。CYD 寒天の場合と同様に、ブイヨンにおける 24 時間培養の 1 白金耳を、上記の CYD broth に接種し、37°C で 24 および 44 時間培養後の発育度を、肉眼的に観察したが、実験結果を表示するに当つては、CYD 寒天の場合と異り、基礎培地の CYD broth における発育度が菌種により著しく異なるので、これらの状態を明示するため、各試験管における発育度を、その程度に応じて

Table 1. Continued.

Organism			Concentration of antibiotic					Colistin u./ml				Penicillin u./ml				Leucomycin		
			30,000	3,000	300	30	3	100	10	1	0.1	100	10	1	0.1	100	10	1
Enterococci	Strains of ATCC	<i>Str. faecalis</i> 8043	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		" 10541	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Str. liquefaciens</i> 4532	±	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Str. zymogenes</i> 10100	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Str. durans</i> 9810	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	Own strains	Y 137 (type I)	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	±
		Y 161 (type II)	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		K 40 (type III)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Other gram-positive organisms	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Micrococcus pig.</i> var. <i>aureus</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Micrococcus conglomeratus</i>	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Micrococcus citreus</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Gram-negative organisms		<i>Aerobacter aerogenes</i>	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Proteus morganii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+
		<i>Flavobacterium fuscum</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Serratia marcescens</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

±は±の記号で表わした。この中で、-は全く発育しないもの、±はごく僅かに発育したものを示した。

実験結果

実験 1. 15 種の抗生物質に対する腸球菌その他若干の菌種の感受性の比較

前記 15 種の抗生物質の中より腸球菌の選択培養に应用の可能性のあるものを選び出す目的で、腸球菌 8 株、その他のグラム陽性菌 4 株およびグラム陰性菌 7 株について、これら抗生物質に対する感受性を、CYD 寒天を用いて比較観察した。抗生物質の試験濃度は、各菌種の感受性の間に極端な差異のあることを予想して、10 倍ずつの 5 段階とした。実験の結果を Table 1 に示した。

Table 1 に示したごとく、ほとんど総ての抗生物質において、グラム陰性菌の多くは腸球菌その他のグラム陽性菌に比して、抵抗性の強いことを認めた。特に *Proteus morganii* および *Serratia marcescens* はほとんどの抗生物質に対して、腸球菌より高い抵抗性を示した。またグラム陽性菌の中では、腸球菌は比較的抗生物質感受性が低く、特にストレプトマイシン、テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、フラジオマイシン、バイオマイシン等でその傾向が明らかに認められた。

実験 2. 腸球菌とその他のグラム陽性菌の多数菌株についてのペニシリン、ロイコマイシン、オキシテトラサイクリン*感受性の比較

前実験においては、抗生物質の濃度を 10 倍ずつの段階としたので、菌種間における僅少な感受性の差異を見出すことはできなかった。ペニシリン、ロイコマイシン、オキシテトラサイクリンに対してはグラム陰性菌は腸球菌に比較して、感受性の小さいことが明らかであるので考慮せぬこととし、腸球菌とその他のグラム陽性菌との間に、感受性の差異があるか否かをより精細に検討するため、前実験の結果よりみて、そ

* テトサイクリン系の 3 種はほぼ類似の抗菌性を有するのでオキシテトラサイクリンを代表として選んだ。

γ/ml	Bacitracin γ/ml				Gramicidin J γ/ml			Polymyxin B γ/ml				Erythromycin γ/ml					Aureothricin γ/ml			
0.1 0.01	100	10	1	0.1	100	10	1	100	10	1	0.1	100	10	1	0.1	0.01	25	10	1	0.1
+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
+	+	-	+	+	+	-	±	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	±	+	+
+	+	±	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	±	+
+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
+	+	-	-	±	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
+	+	-	-	±	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	±	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+

の差異を見出だすのに好都合と思われるこれら抗生物質の濃度において、多数の腸球菌並びにその他のグラム陽性菌々株の発育を観察し、感受性を比較した。

実験の結果は Table 2 に示したごとくであるが、ペニシリンにおいては、腸球菌とその他の菌種との間に、それ程明瞭な感受性の差異は見られなかった。ロイコマイシンに対しては、腸球菌の中で type I および II は 0.5 γ/ml の濃度で発育し、type III およびほとんど総ての他のグラム陽性菌は、この濃度で発育を阻止された。しかし例外的に *Micrococcus* に属する 3 株はロイコマイシンの 0.5 γ/ml で発育した。オキシテトラサイクリンに対して、一般に腸球菌は他菌種に比較して抵抗性が強く、0.1 γ/ml ではほとんど総ての菌株は発育したが、その他のグラム陽性菌では 24 株の中 20 株がその濃度で発育を阻止された。いずれにしても、これら 3 種の抗生物質における腸球菌と他の菌種との間の感受性の差異は僅少であり、かつそれ程明瞭なものではなかった。

実験 3. 腸球菌、その他のグラム陽性菌およびグラム陰性菌の多数菌株についてのストレプトマイシン、バイオマイシン、フラジオマイシン感受性の比較

実験 1 によれば、ストレプトマイシン、バイオマイシン、フラジオマイシンに対する腸球菌の抵抗性は、他のグラム陽性菌のみならず、グラム陰性の大部分の菌株よりも強いことが示されたので、さらに多数の菌株についてこれらの関係を観察した。実験法は実験 1 および 2 に準じた。

実験の結果は Table 3 に示したごとくであるが、これら 3 種の抗生物質に対して、一般に腸球菌は、他の総てのグラム陽性菌および多くのグラム陰性菌よりも抵抗性が大きであった。特にフラジオマイシンの 25~100 γ/ml の濃度ではほとんどの腸球菌々株は発育し得たが、他の総てのグラム陽性菌々株は 25 γ/ml で、またはほとんどのグラム陰性菌は 100 γ/ml で発育を阻止された。このようにフラジオマイシンに対して腸球菌はグラム陰性および陽性の全試験菌株の中で、最も大なる抵抗性を示し、特に腸球菌と他のグラム陽性菌々株との間における感受性の差異は大でありかつ明瞭であった。

Table 2. Sensibility to penicillin, leucomycin and oxytetracycline of many enterococcal strains and the other gram-positive organisms.

Strain		Concentration of antibiotic	Penicilline u./ml		Leucomycin γ /ml		Oxytetracycline γ /ml	
Classification	No.		0.25	0.1	0.5	0.25	0.25	0.1
Enterococci	<i>Str. faecalis</i> 8043	E 1	+	+	-	+	-	+
	" 10541	E 2	+	+	+	+	-	+
	<i>Str. liquefaciens</i> 4532	E 3	+	+	-	+	-	+
	<i>Str. zymogenes</i> 10100	E 4	+	+	-	+	-	+
	<i>Str. durans</i> 9810	E 5	+	+	-	+	-	+
	Type I	Y 20	-	+	+	+	-	+
	"	Y 46	-	+	+	+	±	+
	"	Y 137	-	+	+	+	-	+
	"	Y 85	-	±	+	+	-	+
	"	N 100	-	+	+	+	±	+
	"	N 85	±	+	±	+	-	+
	"	W 26	-	+	+	+	-	+
	"	T 47	-	+	+	+	-	+
	"	H 3	-	±	+	+	-	+
	"	T 34	±	+	+	+	±	+
	"	T 30	-	+	+	+	±	+
	Type II	Y 82	+	+	+	+	-	+
	"	Y 161	-	+	+	+	-	+
	"	K 8	+	+	+	+	-	+
	"	K 17	+	+	+	+	-	+
	"	T 21	-	+	+	+	-	+
	"	N 54	+	+	+	+	-	+
	"	N 80	+	+	+	+	-	+
	"	T 36	-	+	+	+	-	+
	"	T 55	-	+	+	+	-	+
	Type III	T 58	+	+	-	+	-	+
	"	T 26	+	+	-	+	-	+
	"	T 12	+	+	-	+	-	+
	"	H 15	+	+	-	+	-	+
	"	Y 157	+	+	-	+	-	+
	"	Y 7	+	+	-	+	-	+
	"	N 19	+	+	-	+	-	+
	"	W 7	+	+	-	+	-	+
	"	K 43	+	+	-	+	-	+
Other gram-positive organisms	<i>Bacillus brevis</i>	B 1	-	+	-	+	-	-
	<i>B. subtilis</i>	B 2	-	+	-	+	-	-
	"	B 3	-	+	-	+	-	-
	"	B 4	-	+	-	+	+	+
	"	B 5	-	+	-	+	-	-
	"	B 6	-	+	-	+	-	-
	"	B 7	-	+	-	+	-	-
	"	B 8	+	+	-	+	-	-
	"	B 9	-	+	-	+	+	+
	"	B 11	+	+	-	+	-	-
	"	B 12	+	+	-	+	-	-
	"	B 13	+	+	-	+	-	-
	"	B 14	+	+	-	+	-	-
	"	B 15	-	+	-	±	-	-
	<i>Micrococcus citreus</i>	M 2	-	+	-	+	-	-
	<i>M. piog. var. aureus</i>	M 3	-	+	-	+	-	-
	<i>M. epidermidis</i>	M 4	-	-	-	-	-	-
	<i>M. conglomeratus</i>	M 5	+	+	-	-	-	-
	<i>M. varians</i>	M 6	-	-	-	+	-	-
	<i>M. citreus</i>	M 8	-	+	+	+	-	-
	<i>M. piog. var. albus</i>	M 9	-	+	+	+	-	-
	<i>M. piog. var. aureus</i>	M 10	-	+	-	+	-	+
	"	M 11	-	-	-	-	-	-
	<i>M. piog. var. albus</i>	M 12	-	+	+	+	-	+

Table 3. Comparison of sensibility to streptomycin, viomycin and fradiomycin of many enterococcal strains and the other organisms.

Strain		Concentration of antibiotic	Streptomycin γ/ml			Viomycin γ/ml			Fradiomycin γ/ml		
			100	50	25	1000	500	250	100	50	25
Classification	No.										
Enterococci	<i>Str. faecalis</i> 8043	E 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	" 10541	E 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Str. liquefaciens</i> 4532	E 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Str. zymogenes</i> 10100	E 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Str. durans</i> 9810	E 5	±	+	+	+	+	+	-	+	+
	Type I	Y 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	Y 46	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	Y 137	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	Y 85	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	N100	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	"	N 85	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	W 26	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 47	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	H 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 34	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Type II	Y 82	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	Y161	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	K 8	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	"	K 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 21	+	+	+	±	+	+	+	+	+
	"	N 54	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	N 80	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 36	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	"	T 55	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Type III	T 58	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 26	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	T 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	H 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	Y157	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	Y 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	N 19	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	N133	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	W 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	K 43	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Other gram-positive organisms	<i>Bacillus brevis</i>	B 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>B. subtilis</i>	B 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	B 3	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	"	B 4	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	"	B 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	B 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	B 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	B 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	B 9	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Table 3. Continued.

Concentration of antibiotic			Streptomycin γ/ml			Viomycin γ/ml			Fradiomycin γ/ml		
Strain	Classification	No.	100	50	25	1000	500	250	100	50	25
Other gram-positive organisms	<i>B. subtilis</i>	B 11	-	-	±	-	+	+	-	-	-
	"	B 12	-	-	-	-	±	±	-	-	-
	"	B 13	-	-	-	-	±	+	-	-	-
	"	B 14	-	-	-	-	±	+	-	-	-
	"	B 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus citreus</i>	M 2	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	<i>M. piog. var. aureus</i>	M 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>M. epidermidis</i>	M 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>M. conglomeratus</i>	M 5	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	<i>M. varians</i>	M 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>M. citreus</i>	M 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>M. piog. var. albus</i>	M 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>M. piog. var. aureus</i>	M 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	M 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>M. piog. var. albus</i>	M 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram-negative organisms	<i>Protens vulgaris</i>	Pt 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	Pt 2	-	-	-	-	±	+	-	-	+
	"	Pt 4	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Prot. morganii</i>	Pt 5	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	"	Pt 6	-	-	+	+	+	+	-	-	+
	"	Pt 7	-	-	-	-	+	+	-	-	+
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Sa 1	+	+	+	±	+	+	-	±	+
	<i>Salm. enteritidis</i>	Sa 3	-	-	±	-	±	±	-	±	+
	<i>Salm. gallinarum</i>	Sa 4	+	+	+	+	+	+	±	+	+
	<i>Salm. pullorum</i>	Sa 5	+	+	+	-	+	+	-	-	+
	<i>Achromobacter candicans</i>	Ach 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ach. viscosum</i>	Ach 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Flavobacterium deceduosum</i>	Fl 1	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Fl. fuscum</i>	Fl 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	Fl 3	-	-	±	-	-	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Ps 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ps. aeruginosa</i>	Ps 4	-	-	-	+	+	+	-	±	+
	"	Ps 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ps. schuylkilliensis</i>	Ps 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Ps. ovalis</i>	Ps 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Serratia marcescens</i>	Ser 1	-	-	+	±	+	+	-	+	+
	"	Ser 2	-	-	+	-	±	+	-	-	+
	Coliform group	Coli I	C 18	-	-	+	+	+	-	-	+
		Coli II	C 123	+	+	+	+	+	-	+	+
		Intermediate I	C 60	+	+	+	±	+	-	+	+
		Aerogenes I	C 10	-	+	+	+	+	±	+	+

Table 4. Comparison of sensibility to colistin between enterococci and coliform organisms.

Concentration of colistin u./ml			30,000	10,000	3,000	1,000	300	Concentration of colistin u./ml			30,000	10,000	3,000	1,000	300
Strain	Group	Type No.						Sarain	Group	Type No.					
Enterococci	I	Y 46	+	+	+	+	+	Coliform group	Coli I	C 65	-	-	-	-	-
	"	Y137	+	+	+	+	+		"	C 76	-	-	-	-	-
	"	N 85	+	+	+	+	+		"	C 82	-	-	-	-	-
	"	Y 20	+	+	+	+	+		"	C 87	-	-	-	-	-
	"	Y 85	±	+	+	+	+		"	C 88	-	-	-	-	-
	"	N100	+	+	+	+	+		"	C 91	-	-	-	-	-
	"	W 26	+	+	+	+	+		"	C 96	-	-	-	-	-
	"	T 47	±	+	+	+	+		"	C106	-	-	-	-	-
	"	H 3	+	+	+	+	+		"	C109	-	-	-	-	-
	"	T 34	+	+	+	+	+		"	C110	-	-	-	-	-
	"	T 30	+	+	+	+	+		"	C112	-	-	-	-	-
	II	E 1	+	+	+	+	+		"	C118	-	-	-	-	-
	"	E 2	+	+	+	+	+		"	C133	-	-	-	-	-
	"	Y 82	+	+	+	+	+		"	C138	-	-	-	-	-
	"	Y161	+	+	+	+	+		"	C139	-	-	-	-	-
	"	K 8	+	+	+	+	+		"	C140	-	-	-	-	-
	"	K 17	+	+	+	+	+		"	C141	-	-	-	-	-
	"	T 21	+	+	+	+	+		"	C142	-	-	-	-	-
	"	N 54	+	+	+	+	+		"	C143	-	-	-	-	-
	"	N 80	+	+	+	+	+		"	C145	-	-	-	-	-
	"	T 36	+	+	+	+	+		"	C146	-	-	±	±	±
	"	T 55	+	+	+	+	+		"	C148	-	-	-	-	-
	III	E 3	+	+	+	+	+		"	C149	-	-	-	-	-
	"	T 26	+	+	+	+	+		"	C150	-	-	-	-	-
	"	K 40	+	+	+	+	+		"	C151	-	-	-	-	-
	"	T 58	+	+	+	+	+		"	C152	-	-	-	-	-
	"	T 12	+	+	+	+	+		Coli II	C123	-	-	-	-	-
	"	H 15	+	+	+	+	+		"	C124	-	-	-	-	-
	"	Y157	+	+	+	+	+		Int. I	C147	-	-	-	-	±
	"	Y 7	+	+	+	+	+		Int. II	C136	-	±	±	±	±
	"	N 19	+	+	+	+	+		"	C137	±	±	±	±	±
	"	N133	+	+	+	+	+		"	C144	-	-	-	-	-
	"	W 7	+	+	+	+	+		"	C153	-	-	-	-	-
	"	K 43	+	+	+	+	+		"	C154	-	-	-	-	-
Coliform group	Coli I	C 18	-	-	-	-	-	Aerog I	C 4	-	-	-	-	-	-
	"	C 22	-	-	-	-	-		"	C 87	-	-	-	-	-
	"	C 50	-	-	-	-	-	Aerog II	C135	-	-	-	-	-	-
	"	C 54	-	-	-	-	-		"	C155	-	-	-	-	-

見はCYD寒天培地におけるものであるが、実際に選択培地に応用する目的には、主としてCYD brothに添加した場合の腸球菌選択効果が問題であるので、CYD brothにフラジオマイシンを300, 100, 30 γ /mlの濃度に添加した培地における腸球菌およびその他の菌種の発育の如何を観察した。

実験の結果はTable 5に示したごとくであるが、*Str. durans*の1株は別として、一般の腸球菌々株は300 γ /mlのフラジオマイシンで全く発育を阻害されなかつた。またグラム陰性菌も腸球菌とほとんど同様のフラジオマイシン抵抗性を有することを示した。これに対し、*Bacillus*および*Micrococcus*に属するグラム陽性菌々株は30~100 γ /mlで完全に発育を阻止された。

考 察

一般にグラム陰性菌はグラム陽性菌に比較して、諸種の制菌剤に対する感受性が低いとされている。本研究で使用した抗生物質においても、やはりグラム陰性菌の中には、腸球菌その他のグラム陽性菌よりも抵抗性の大きなものも多く、結局腸球菌の選択培養の目的でグラム陰性菌の発育を阻止し得るとき抗生物質を見出すことはできなかつた。しかし大腸菌群はコリスチン感受性が大であり、反対に腸球菌は小であり、その差は特に著しいので、これら両菌群の混在するような場合、腸球菌のみを選択培養するとき特殊な目的にはコリスチンの利用は有効であろう。一般に腸球菌は他のグラム陽性菌に比較して、制菌剤に対する抵抗性が大きなものとされているが、本研究の結果からもストレプトマイシン、パイオマイシン、フラジオマイシン、オキシテトラサイクリン等において明らかにその傾向を認めたが、フラジオマイシンの場合特に明瞭であり、腸球菌々株は他のグラム陽性の総ての供試菌株よりも遙かに抵抗性が大であり、腸球菌の選択培地に応用し得る最も有効な抗生物質と考えられる。勿論フラジオマイシンに対する感受性において、多くのグラム陰性菌は腸球菌とそれ程明瞭な差異を有しないから、完全な腸球菌選択培地を得るためにはグラム陰性菌の発育を阻止するのに有効な他の制菌剤と併用する必要がある。Table 5に示したように、CYD brothではフラジオマイシンの制菌効果は低下し、300 γ /mlでもグラム陰性菌の発育を阻止できず、他のグラム陽性菌の発育を阻止するためにも100 γ /mlまたはそれ以上の濃度が必要となるであろう。一般に腸球菌群に属する菌株の間には、抗生物質に対する感受性における著しい差異はほとんど見られないが、ただエリスロマイシンにおいて菌株間にかなりの差異が認められた。またTable 5に示したごとく、*Str. durans*のみはフラジオマイシンに対し感受性が特に大であり、本菌種の特異性を示した。腸球菌の菌型と抗生物質感受性との間における興味ある関係をロイコマイシンの場合に見出すことができた。すなわち3種のtypeの中でtype IIIのみが0.5 γ /mlで発育を阻止された。このようにロイコマイシンに対し比較的感受性の大きな点もまた、type IIIを他のtypeから区別する特性の一つとして追加することができよう。堀江⁸⁾はブドウ糖寒天を基礎培地とした場合、ストレプトマイシンおよびクロルテトラサイクリンに対する感受性と腸球菌の菌型との間に、有意義な関係のあることを報告したが、本実験においては、これらの関係はみられなかつたばかりでなく、これら両抗生物質の最小発育阻止濃度においても、ブドウ糖寒天の場合とかなり異なる結果を得た。これらの両実験結果の不一致は主として基礎培地として用いたブドウ糖寒天とCYD寒天との組成の差異に起因するものと考えられる。

摘 要

腸球菌と他のグラム陽性菌およびグラム陰性菌との種々の抗生物質に対する感受性を、citrate yeast dextrose (CYD) 寒天平板を基礎培地として比較した。グラム陽性菌の中で、腸球菌はフラジオマイシン、ストレプトマイシン、パイオマイシン、オキシテトラサイクリン等に比較的大なる抵抗性を示したが、特にフラジオマイシン抵抗性において腸球菌は特異的で、25 γ /mlの濃度で他の総てのグラム陽性菌の発育は阻止されたのに対し、腸球菌は100 γ /mlですら発育した。またグラム陽性菌の中から腸球菌のみを選択培養する目的には、CYD brothの場合100 γ /ml以上のフラジオマイシンを添加する必要があるであろうことを認めた。また一方、腸球菌の発育を阻害しない濃度で、諸種のグラム陰菌を制菌し得る抗生物質は見出され

なかつた。腸球菌と大腸菌群とのコリスチン感受性には著るしい差異があり、CYD 寒天で腸球菌は 30,000 u/ml の濃度においても発育し得たが、ほとんどの大腸菌群菌株は 300 u/ml で発育を阻止された。腸球菌の菌型とロイコマイシン感受性との間には興味ある関係がみられ、CYD 寒天における 0.5 γ /ml の濃度では、type III のみが制菌された。

終りに臨み、菌株並びに抗生物質を分与して頂いた方々に、厚く感謝の意を表する。また本研究の遂行に協力された野原照子氏に深く感謝する。なお本研究の一部は文部省科学研究費によつた。附記して謝意を表する。

文 献

- 1) FLEMING, A.: *J. Path. Bact.*, **35**, 831 (1932).
- 2) BORNSTEIN, S.: *J. Bact.*, **39**, 383 (1940).
- 3) NETER, E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **43**, 774 (1940).
- 4) HAJNA, A. A. and PERRY, C. A.: *Am. J. Pub. Health*, **33**, 550 (1943).
- 5) Difco manual of dehydrated culture media and reagents, 9th ed., p. 50, (1953).
- 6) LITSKY, W., MALLMANN, W. L. and FIFIELD, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **43**, 873 (1953).
- 7) 堀江 進: 本誌, **26**, 39 (1960).
HORIE, S.: *This Bull.*, **26**, 39 (1960).
- 8) 堀江 進: 本誌, **25**, 488 (1959).
- 9) 伊藤泰一他: *J. Antibiot., Ser. B*, **7**, 147 (1954).
- 10) 石橋近重他: *J. Antibiot., Ser. B*, **7**, 183 (1954).