

第IV表 各菌種の検出率比較

坂上 (1960)		新城 (1960)	
<i>C. albicans</i>	89.6%	<i>C. stellatoidea</i>	40%
<i>C. krusei</i>	6	<i>C. tropicalis</i>	20
<i>C. guilliermondii</i>	1.7	<i>C. albicans</i>	16
<i>C. stellatoidea</i>		<i>C. krusei</i>	8
<i>C. tropicalis</i>	0.9	<i>C. parakrusei</i>	4
<i>C. parakrusei</i>	0	<i>C. guilliermondii</i>	
<i>C. pseudotropicalis</i>			<i>C. pseudotropicalis</i>

5. 文 献

- 1) 正古良夫: Modern Media, 3 (5) pp. 108. 1957
- 2) Martin, D. S., et al.; J. Bact., 34, 99, 1937.
- 3) Martin, D. S., et al.; ibid, 39, 609, 1940.
- 4) 坂上俊治: 長崎大学風土病紀要, 2, (2), 113, 1960.
- 5) Conant, N. F. et al.: Manual of Clinical Mycolgy, 2nd Ed., 1954.

土壤より分離せる抗菌性放線菌 (予報)

琉球衛生研究所 細菌部

具志頭朝昭

緒 言

自然界に於ては、生物の間に激しい生存競争が繰返されている。下等生物の間にも一方の微生物が他の微生物の発育を抑制する代謝物質を産生し、これを抑圧させ繁栄を奪い取るといった生存の斗争が常に行われていることは周知の通りである。伝染病死体を土中に埋めると、その中の病原体は比較的早くほろんで、失くなってしまふという事は古くから知られていた。1889年にDoehleが行つた炭疽菌と一種の球菌の実験以来、多くの研究者により、Streptomycin, Chloramphenicol, Aureomycin, Terramycin 等150種以上の抗生物質が発見されている。現在知られている抗生物質生産原は、カビ類、酵母類、放線菌類、細菌類等の微生物、高等植物及び動物組織から見出されている。今回、これ等抗生物質生産原中、特に土壤中の放線菌を対象として、琉球各地の土壤より分離し、その分離菌株に就いて、如何なる抗菌性物質が産生されるかを目的として、初めに金武村の土壤より分離をこころみ、若干の成績を得たので茲に予報として報告する。

実験方法

1) 分離方法

土壤500mgを2.5mlの滅菌蒸溜水で稀釈し1% glucose 加普通寒天培地 (pH5.4) へ白金耳塗抹して30°C48時

間培養後、叢生した放線菌集落を上記の斜面培地と、Stephenson-Whetham 培地中のN-原である (NH₄)₂ PO₄ を酵母エキス (1000mlに対して10g) に変えものへ移植し、液面を広くするために傾斜して30°Cで静置培養した。

2) 抗菌性物質産生測定方法

a) からかじめ Test Organisms (T. O) として、Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Sarcina lutea, Bacillus sp. を普通寒天培地へ、Candida albicans を Sabouraud 寒天培地へ植えそれぞれのブイヨン培養液を作りそれから菌液各1ml宛を夫々の寒天培地に混釈培養した。次いで、混釈平板培養基上に内径0.5cm、高さ1.0cmのガラス円筒を置き、その内へ被検液を0.1ml分注して37°C、24時間培養後阻止帯の有無及びその径を測定した。

b) Stephenson-Whethamの変法培地中に産生された抗菌性物質の時間的变化を知るために、24、48、72、96、120時間毎に培養液を採つて調べた。

c) T.O.には当所で分離した菌株を用いたので、あらかじめ、これらの薬剤耐性の有無をディスク法で測定した。その結果は下表の通りでC. albicans 以外は、5種薬剤に対して感受性を示した。

	P. C. Erythromycin Di-hydroSM- C M T M				
	0.5u/disk	0.58/disk	2.08/disk	58/disk	58/disk
<i>E. coli</i>	+	+	卅	卅	卅
<i>Staph. aureus</i>	+	卅	+	卅	卅
<i>Sar. lutea</i>	卅	卅	+	卅	卅
<i>Bacillus sp</i>	+	+	卅	+	+
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-

(1961年1月)

実験成績

1) 採集した資料24件のうち、5資料、10株の放線菌を分離し得た。分離率20.8%である。現在、菌種決定の域に達していないので別紙で報告する。

2) 抗菌性物質産生の時間的変化

5種の T. O. に対してのこれ等被検液の態度は少々相似た様相を呈しているが、その抗菌性物質産生量の時間的経過には若干の相違がある。まず第1表の E. coli に対しては24時間より阻止帯が現われ、72時間で最大となり、その後漸時下降する。Staph. aureus に対しては一般に抗菌性が弱く、産生速度は個々で、24時間で早くも若干阻止帯が認められるもの(＃3、＃9、＃10)48時間で(＃1、＃2、＃4、＃5)72時間で(＃8)、96時間で(＃6、＃7)やつと認められるものがある。然し、時間的に生産物の量の増減はあまり顕著でない。

Sar. lutea に対しては、ほとんど抑制作用が認められないが、＃10の1株のみは120時間でようやく Sar. lutea の発育を抑制した。Bacillus sp. に対しては10株とも早くも24時間で現われ、72~120時間の間に最大ピークを示している。C. albicans に対しては全ての株が陰性の結果を示した。

Table 1 a. Test Organism : Escherichia coli (Inhibitory diameter. mm)

hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
24	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+
48	+	+	±	±	±	+	±	±	+	+
72	10.5	10.0	10.0	10.5	10.5	10.0	10.0	10.0	10.0	12.0
96	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Staphylococcus aureus

hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
24	-	-	+	-	-	±	±	±	+	+
48	+	+	+	+	+	±	±	±	+	+
72	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+
96	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Table 2 Antimicrobial spectrum

Test Organism	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E. coli	10.5	10.0	10.0	10.5	10.5	10.0	10.0	10.0	10.0	12.0
Staph. aureus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sar. lutea	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+
Bacillus sp.	11.5	10.0	10.0	10.0	10.5	10.0	11.0	11.0	11.0	11.0
C. albicans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 1 b. Test Organism: Sarcina lutea

hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
24	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Bacillus sp.

hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72	11.5	+	+	+	+	10.0	+	10.5	+	+
96	11.0	+	10.0	10.0	10.0	10.0	11.0	11.0	10.5	11.0
120	10.0	10.0	10.0	10.0	10.5	10.0	10.5	10.0	11.0	10.0

Table 1 c. Test Organism: Candida albicans

hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3) 分離した10株の放線菌の抗菌性物質産生態度は第2表に示す通りである。Gram 陰性の桿菌、E. coli に対しては10株とも良く産生し、中でも＃10が阻止帯の径12mmで最大であつた。次いで Staph. aureus に対する抗菌性物質は確かに産生されているが、その量が少いか、或いは抗菌性が弱いかである。S. lutea と C. albicans には殆んど効力を示さず、わずかながら＃10が S. lutea の発育を抑制した。Gram 陽性桿菌、Bacillus sp. に対しては10株とも、それぞれ阻止物質を少々同程度に産生した。

以上の通り、#10を除いて他の株は5種の T. O. に対して同様の抗菌スペクトルを持つているが、#10は、他の9株より広いスペクトルを有し、Sar. lutea に対して僅かに抑制物質を産している。

結論及び考按

1) 採集地の金武村は隆起珊瑚地帯に出来た洞窟の多い酸性土壌である。今回の土壌は採集後、長時間経過しており、放線菌は5資料(分離率20.8%)より10株分離し得たのみである。

2) 一般に、各T.O.に対する阻止物質産生の最大ピークは、静置培養後72~120時間の間に在るが、#10のみは120時間後に僅かに上昇していく。

3) 被検菌の T. O. に対する態度は10株とも似てお

り、E. coli, Bacillus sp. に稍々強く、St. aureus には稍々弱く、Sar. lutea, C. albicans には殆んど阻止帯をつくらなかつた。そのうち#10のみはSar. lutea に対して、弱い抵抗物質を産生した。これ等分離放線菌株は強力な抵抗物質産生能に乏しいものであるのか、静置培養、培地組成、その他種々の欠陥のためか、いずれか判断し難い。特に抗生物質の産生は Chloramphenicol やその他の抗生物質の如く、振とう培養に用いられる培地の C-源、N-源の種類に影響されるので、他の培地との比較に就いては別紙に報告する。

文 献

梅沢兵夫 細菌学(総論)抗生物質
伝染病研究所学友会編、細菌学実習提要

寒天平板による結核菌の迅速耐性検査成績 と斉藤氏の基礎実験

琉球衛生研究所 細菌部

仲 地 国 夫

I、緒 言

結核の治療に抗結核薬に対する耐性検査が必要なことはいうまでもない。現行標準法として広く使われている小川培地による方法では、直接法でも4週以上、間接法では8週以上の期間を必要とする。このように結果が分るまでに時日がかりすぎることが、適切な化学療法を行ううえに困却することが多い。そこで、従来いろいろの迅速法が諸先進により試みられているが、大別すると Wright の Slide cell culture 法、Pryce や Berry、Lowry らの Slide culture 法、植田の遠心管内培養法に基礎をおいたもの、小川の変法重層培地法、還元色素法、濾紙法を応用したもの等多々あるが、これらの方法はいずれも一長一短があり、同一に論ずることはできないが、遠心、染色等の手技の面倒なものが多く、濾紙法を除いては大きな欠点といわれている。

寒天平板に菌液あるいは喀痰を接種し早期に顕微鏡的集落を平板の裏から弱拡大で鏡検することは、Middle-Drook ら、Dubos ら、Roberts らが試みているが、高橋も氏のアルブミン寒天に菌液を接種し、間接法による迅速耐性検査を発表している。しかし迅速に耐性を知りたい場合どうしても喀痰を直接接種できる直接法が便利であり、耐性本来の意味からも直接法の方がより妥当と思われる。私は保健所より依頼のあつた17例の分離菌株について間接法を試みたのでその成績と斉藤氏の基礎実験について報告する。

II 実験方法

1 培 地

変法Ⅲキルヒナー寒天培地(小川ら)。この培地は、本来カナマイシンの直接耐性検査用に考案されたもので、性能はほぼ3%小川培地に匹敵するものといわれている。斜面のときは寒天は2%であるが、平板では1.5%とした。

処 方

第1磷酸カリウム	1.0g
第2ククナトリウム	0.3g
硫酸マグネシウム	0.06g
クエン酸ナトリウム	0.25g
アスパラギン	0.5g
グリセリン	1.5ml
0.1%マラカイト緑液	0.25ml
Bacto Agar (Difco)	1.5g
蒸 溜 水	100.0ml

以上を溶解、コツホ釜で2時間滅菌し、約50~60°Cに冷えたところで馬血清を10%に加え、2.5ml宛4分画シャーレの1区画に分注する。pHは6.1~6.3で4% NaOH 0.05ml 加えると pH6.7~7.0となる。薬剤を含ませるときは、加熱により力価の減少しないもの(PAS INH)は滅菌前に、加熱により力価の減少するもの(SM)は分注前にあらかじめ調製した所要量を加えた。