

(6) マウスに対する病原性

3%塩化ナトリウム加ペプトン水24時間培養液を5匹のマウスの腹腔内に0.1 ml宛接種したところ、24時間以内に5匹とも斃死した。尚、斃死マウスの諸臓器から分離された菌株も同様に病原性好塩菌と同定された。

(7) 代表株を予研の病原性好塩菌センターに同定依頼したところ、O群4-3株、O群7-1株、型別不明6株と云う報告を受けた。

稿を終るに際して、資料を提供された那覇病院の野原医師、上里技師並に病原性好塩菌センターの各位に感謝する。

主要文献

- 1) 柳沢文徳、魚介類食中毒と好塩性細菌、1961。
- 2) 河島俊一、他、食品衛生研究、11巻、第12号、1961。
- 3) 滝川巖、食品衛生研究、11巻、第8号、1961。
- 4) 坂崎利一、食品衛生研究、11巻、第8号、1961。
- 5) 厚生省、食品衛生研究、12巻、第8号、1962。

コレラ菌の生物学的性状

琉球衛生研究所 細菌部 仲地 国夫

緒言

著者は1962年フィリッピン、台湾及び沖縄で分離されたVibrio Cholerae El Tor と稲葉型及び小川型の保存株について生物学的性状即ち炭水化物分解能、有機酸利用能、蛋白質及びアミノ酸に対する作用、硝酸塩還元能、Voges-Proskauer 反応、メチール赤試験、コレラ赤色反応、定量凝集反応、String test、鶏血球凝集反応、綿羊血球及び人血球に対する溶血作用、クエン酸利用能、尿素分解能、運動性試験、ゼラチン液化能、牛乳凝固及び消化能、硫化水素産性能、腸内細菌用確認培地(TSI SIM KI)における性状 in vitroに依る薬剤感受性試験を試みた結果を報告する。

供試菌株：供試菌株は下記の6株である。

V. cholerae	稲葉型	1
V. cholerae	小川型	1
V. cholerae El Tor	フィリッピン株	2

V. cholerae El Tor	台湾株	1
V. cholerae El Tor	沖縄株	1

実験方法並びに成績

供試菌株

予じめこれ等6菌株を普通寒天又はT₁-N₁培地平板に塗抹して再分離し、試験的凝集反応を行つて凝集強度の集落を釣菌し普通寒天斜面に37°C 18~24時間純培養后下記の諸試験に供した。

1) 炭水化物分解試験

Barsiekowの基礎培地に第1表に表示したAdonitol以下24種の炭水化物を1%の割合に添加し指示薬としてB. T. B. を加え供試菌1白金耳宛を移植した後37°Cで培養し、1週間にわたつて夫々の分解能を観察した。その結果によると、何れの供試菌株もDextrin、Glucose、Galactose、Glycerol、Lactose、Levulose、Monnitol、Maltose、Mannose、Saccharose、Starch、及びTreharoseの12種の炭水化物を分解し酸を形成したがその他の12種の炭水化物は何れも分解し得なかつた。

2) V. P. 反応及びM. R. 反応

ブドウ糖磷酸塩ペプトン水に37°C 48時間培養后培養液1mlをとり出し等量の試薬(O'Mearaの変法)を加え、空気中の酸素との接触を良くするため試験を斜位にして37°C 2時間放置後判定した。その結果によると稲葉株、小川株及びEl Tor株(沖縄株)には反応が認められなかつたが、フィリピン及び台湾で分離されたEl Tor株は反応陽性を示した。

M. R. 反応では何れの供試菌株にも著明な反応は認められなかつた。

3) 運動性試験

0.5%半流動寒天培地に移植(穿刺培養)37°C 18~24時間后培地全体の混濁の程度で判定した成績は第2表の通りである。

4) セラチン液化試験

セラチン培地(ブイヨン1ℓにB.B.L. セラチン250g)に穿刺37°C 培養后、取出して水で冷やし、培地が再び凝固するかどうかを確認して判定した。その結果何れの菌株も2日以内にセラチンを液化した。

5) 牛乳消化試験

リトマス牛乳培地に培養して約2週間后まで毎日観察した。ラブ酵素によりリトマスを赤変することなしに凝固が認められ、それと同時に透明な乳清を折出し更にこれに引続いて消化(ペプトン化)が起つて一旦凝固した培地が透明になるのが認められた。尚Vibrio cholerae InabaとEl Tor 沖縄は牛乳凝固には2日~3日間要したのに反し他は1日で凝固が見られた。

6) 硝酸塩還元試験

0.1%硝酸カリウムを加えたペプトン水に37°C 5日間培養し、培養液に試薬、A液Dnaphthylamine + 醋酸水、B液Sulphanil + 醋酸水を各1mlづつ加えてよく混合し3分間以内に培地を赤変したものを硝酸塩還元陽性と判定した。殆んど供試菌株は1日間で硝酸塩を還元したが、Vibrio Inabaは硝酸塩を完全に還元するのに5日間を要した。

7) 人血球及び綿羊血球溶血試験

ペプトン水に37°C 24時間培養液に各々5%血球浮遊液を等量加え37°C 2時間培養后冷蔵庫に放置し判定した。尚そのまゝ室温に2日~3日間放置し観察した結果人血球は自家溶血を起したが綿羊血球は自家溶血を認めなかつた。しかし人血球でも判定をあやまる程の溶血は認められなかつた。

8) String Test

1%デノオキシコール酸水溶液1~2滴をシャーレ上に置き、これに供試菌株を一白金耳宛鈎菌、上記溶液に充分混合し、白金耳を上下すると牽縊性を帯びる程度の粘稠性を陽性とした。6菌株すべて陽性であつた。その他の諸生物学的性状は第1、第2表に示す通りである。

9) in vitro に依る薬剤感受性試験

感受性デスク(栄研)を用いて薬剤感受性試験を行つた。培地はハートインフュージョン寒天培地を使用した。先ず分離菌をペプトン水で37°C 24時間増菌培養后、その1mlを3枚の滅菌シャーレに移し、加熱溶解后、45°C に保温したハートインフュージョン寒天培地を15ml~20ml宛分注混釈し、そのまゝ室温に放置凝固させ、平板に各々6個のデスクを置き、37°C 24時間培養した。判定に当つてはデスクの周縁の阻止帯の直径を測定し、その直径が10mm以下を(-)とし10mm以上を(+)とした。即ちPenicillin 抵抗性で、Erythromycin, Dihydrostreptomycin, Tetracycline, Sulfisoxazoleには比較的感受性でchloramphenicol には最も強い感受性を示した。

第 1 表 炭水化物分解能並に有機酸塩利用性

菌 株	炭 水 化 物 有 機 酸 塩											
	Adonitol	E. Alcohol	Arabinose	Dextrin	Dulcitol	Glucose	Galactose	Glycerol	Inositol	Inulin	Lactose	Levulose
V. Cholerae Inaba	-	-	-	+1	-	+1	+1	+2	-	-	+2	+1
V. Cholerae Ogawa	-	-	-	+1	-	+1	+1	+2	-	-	+2	+1
V. Cholerae El Tor Phillippine 1962	-	-	-	+1	-	+1	+1	+2	-	-	+2	+1
V. Cholerae El Tor Taiwan 1962	-	-	-	+1	-	+1	+1	+1	-	-	+3	+1
V. Cholerae El Tor Phillippine 1962	-	-	-	+1	-	+1	+1	+1	-	-	+3	+1
V. Cholerae El Tor Okinawa 1962	-	-	-	+1	-	+1	+1	+1	-	-	+2	+1

+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Mannitol
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Maltose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Mannose
										Melibiose
										Raffinose
										Rhamnose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Saccharose
										Salicin
										Sorbitol
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Starch
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Trehalose
										Xylose
										Tartrate

第2表

コレラ菌の生物性状

性 状 菌 株	V P	M R	運 動 性	コレラ 赤色 反応	イン ドール	硫化 水素
V. cholerae Inaba	-	+	+	+	+	+
V. cholerae Ogawa	-	+	+	+	+	+
V. cholerae El Tor Phillippine 1962	+	-	+	+	+	+
V. Cholerae El Tor Taiwan 1962	+	-	+	+	+	+
V. cholerae El Tor Phillippine 1962	+	-	+	+	+	+
V. cholerae El Tor Okinawa 1962	-	+	+	+	+	+

ゼラチン液化	牛乳消化	アンモニア	硝酸塩還元	尿素	カタラーゼ	クエン酸塩利用	String test	鶏血球凝集反応	血球溶血反応
+ ₂	+ ₂	+	+	-	+	+	+	-	-
+ ₂	+ ₁	+	卅	-	+	+	+	-	-
+ ₁	+ ₁	+	卅	-	+	+	+	+	+
+ ₁	+ ₁	+	卅	-	+	+	+	+	+
+ ₁	+ ₁	+	卅	-	+	+	+	+	+
+ ₂	+ ₃	+	卅	-	+	+	+	+	+

第3表 Invitro に依る薬剂感受性試験

菌株	薬剂		濃度			
	Penicillin			Erythromycin		
	0.5 u	2.0 u	10 u	0.5mcg	2.0mcg	10 mcg
V. Cholerae Inaba	-	-	+	-	+	+
V. Cholerae Ogawa	-	(+)	(++)	-	+	++
V. Cholerae El Tor Phillippine 1962	-	-	(+)	-	+	++
V. Cholerae El Tor Taiwan 1962	-	-	+	-	+	++
V. Cholerae El Tor Phillippine 1962	-	-	+	-	+	++
V. Cholerae El Tor Okinawa 1962	-	(+)	(++)	-	+	+

Dihydrostreptomycin			Chloramphenicol			Tetracycline			Sulfisoxazol		
2mcg	10mcg	50mcg	5mcg	10mcg	30mcg	5mcg	10mcg	30mcg	50mcg	150mcg	300mcg
+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
-	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	-	+	+	(+)	(+)	(+)
+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

第4表

腸内細菌確認培地に対する性状並に定量凝集反応

項 目 菌 株	K		I		S	I	M
	乳 糖	ブ ド ウ 糖	硫 化 水 素	ガ ス 発 生	運 動 性	硫 化 水 素	
V. cholerae Inaba	-	+	-	-	卅	-	
V. cholerae Ogawa	-	+	-	-	+	-	
V. cholerae El Tor Phillippine 1962	-	+	-	-	卅	-	
V. cholerae El Tor Taiwan 1962	-	+	-	-	卅	-	
V. cholerae El Tor Phillippine 1962	-	+	-	-	卅	-	
V. cholerae El Tor Okinawa 1962	-	+	-	-	卅	-	

S I M		T S I					定 量 凝 集	
イ ン ド ー ル	P ・ P ・ A	運 動 性	硫 化 水 素	ガ ス 産 生	乳 蔗 糖 糖	ブ ド ウ 糖	稲 血 葉 型 清	小 血 川 型 清
+	-	卅	-	-	+	+	800x	200x
+	-	+	-	-	+	+	100x	400x
+	-	卅	-	-	+	+	400x	1,600x
+	-	卅	-	-	+	+	400x	1,600x
+	-	卅	-	-	+	+	400x	1,600x
+	-	卅	-	-	+	+	400x	1,600x

考 察

稲葉型及び小川型の炭水化物分解に関しては Heiberg (1943) の成績に全く同一の成績であるが、El Tor 株に関しては多少の差異が認められる。Heiberg の成績によれば Glycerol は遅分解性となつているが供試 El Tor 4 株何れも 24 時以内に Glycerol を分解している。

Heiberg 及び Taylor 等によれば VP 反応は *V. cholerae* は陰性、El Tor 型は陽性の結果を得ているが、本実験では El Tor 沖繩株のみその成績に一致しない。

M.R. 反応ではいずれの供試菌株にも著明な反応認められなかつた。M.R. 反応陽性を呈する環境ではコレラ菌の発育が低下するのであろうか。

運動性試験では稲葉、小川株と El Tor 株との間に著明な差が認められるが、これは人工培地上に長期間継代培養を繰り返した結果、運動性の低下を来したものと思われる。

溶血試験では稲葉、小川株と El Tor 株との間には明らかな差がある。綿羊血球と人血球を同時に使用してみたが人血球では多少部分溶血が起るが使用に耐えない程のものではない。

鶏血球凝集反応、これは El Tor コレラ菌液と鶏血球浮遊液とを混合した場合非特異的に起る凝集反応の一種であるが、小川、稲葉株にはこの様な反応が認められない。

String test もコレラ菌(稲葉、小川、及び El Tor 株)の腸内細菌との鑑別に用いられる非特異的な反応である。供試菌株すべて陽性の結果を示した。

参 考 文 献

- | | |
|---------------------------------|------|
| 細菌学 各論 | 1945 |
| 病原微生物学 | 1959 |
| Politzer cholerae W.H.O. Serise | 1959 |