

抗生物質高度耐性赤痢菌の細菌学的研究

吉田孝人・吉津 暁・橋本真寿男・辺野喜正夫

東京都立衛生研究所微生物科

中沢昭三・浜田 雅・山本郁夫

東大伝研第5細菌研究部

(昭和34年9月14日受付)

(本論文の要旨は昭和34年6月5, 6日, 日本化学療法学会第7回総会に於て発表した。)

緒 言

我々は近頃各種薬剤に対して高度耐性赤痢菌に遭遇する機会が多くなつておるが, 昭和33年11月より昭和34年3月にかけて伊豆地方の某幼児施設の赤痢集団発生より分離された *Sh. sonnei* が各種薬剤に対して高度耐性であつた上に, 同一菌の集団発生を示しておつた。又昭和33年の化学療法学会総会及び抗生物質研究会で共同研究者の中沢らの Terramycin 高度耐性赤痢菌の細菌学的研究の報告もあわせ見て, 特にその菌に対する興味から本菌の諸性状を検討し, 次の様な結果を得た。

実験方法並びに実験材料

1) 形態: 普通染色及び電子顕微鏡をもつて *Sh. sonnei* 標準株 (I相, II相菌) と比較した。普通寒天斜面培地の18時間培養菌を使用した。

2) 薬剤: Streptomycin (SM), Tetracycline (TC), Chloramphenicol (CM), Kanamycin (KM), Colistin (CoM), Polymyxin B (PolB), Sulfisomezole (Sulfa剤) を使用し, Agar plate streaking method (寒天平板稀釈劃線法) にて各薬剤感受性を検した。

3) 耐性赤痢菌: 患者の尿より分離し半流動普通寒天培地に保存したものを使用しにのみ B. T. B. 培地に植え, 血清にあたつて確認した上実験に使用した。全株が薬剤に対して同じ態度を示したのでその内より2株を選んで使用した。

4) 培地: 耐性の持続性を検するには普通寒天斜面培地及びブイオンを使用し, 生化学的性状は厚生省検査指針に準じた培地を使用した。

5) 発育曲線: ブイオンを培地として Chormann 比色計を用い比色法にて発育状況を観察し標準株 *Sh. sonnei* (I, II相菌) を対照とした。

6) 血清及び血清反応: I, II相菌標準血清及び耐性株 No. 78 抗血清を用い3者間の交叉吸収試験を行ない, 抗原性の異同を検した。

7) マウスに対する毒力: dd 系均一マウス♀の16~

17g 各群5匹を使用し, 湿菌体 2mg, 1mg, 0.5mg, 0.25mg の4段階をもつて腹腔攻撃を行ない, 10日間観察, 標準株の I, II相菌と毒力を比較した。

8) 石炭酸, クレゾール各消毒剤に対する抵抗性: 石炭酸稀釈 80倍, 90倍, 100倍, 110倍, クレゾール稀釈 120倍, 140倍, 160倍, 180倍, 作用時間は 2.5, 5, 10, 15分 で検査した。耐性株及び標準株 II, II相菌の各々を比較した。

9) 耐熱試験: 標準株 I, II相菌, 耐性株 No. 10, 78 のブイオン 18時間培養液各 2cc 宛小試験管にとり恒温槽 (各 50°C, 55°C, 60°C) 中につけ, よく振りながら 2.5分間隔で 60分間 1白金耳づつ中試験管 (ブイオン) に移植し 24時間培養後生死を判定した。

実験成績

1) 形態: 普通染色法にては標準株, 耐性株の間に差を認めなかつた。電子顕微鏡所見では耐性株は標準株に



写真1 耐性株

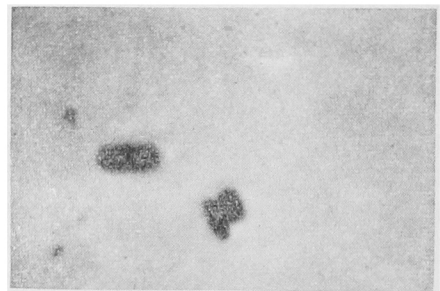


写真2 標準株 (I相菌)

	吸収抗原	抗原	稀釈						
			20	40	80	160	320	640	1,280 cont.
No. 78	No. 78	I 相	0	0	0	0	0	0	0
		II 相	0	0	0	0	0	0	0
		No. 78	0	0	0	0	0	0	0
抗血清	I 相菌	I 相	0	0	0	0	0	0	0
		II 相	3	1	1	0	0	0	0
		No. 78	2	1	1	0	0	0	0
	II 相菌	I 相	3	1	0	0	0	0	0
		II 相	0	0	0	0	0	0	0
		No. 78	tr	0	0	0	0	0	0

第4表 マウスに対する毒力

	菌量 (mg)	Survival
I 相菌	2	0/5
	1	1/5
	0.5	2/5
	0.25	3/5
II 相菌	2	1/5
	1	2/5
	0.5	4/5
	0.25	5/5
No. 78 耐性菌	2	1/5
	1	2/5
	0.5	4/5
	0.25	5/5

I. P. Challenge

第5表 消毒薬に対する抵抗力 (I) 標準株

	作用時間	稀釈	2.5	5	10	15 min.
			I 相菌	80 (120)	-(-)	-(-)
	90 (140)	+(+)	-(-)	-(-)	-(-)	
	100 (160)	+(+)	+(+)	+(-)	-(-)	
	110 (180)	+(+)	+(+)	+(-)	+(-)	
標準菌 2 b	80 (120)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	
	90 (140)	+(+)	+(-)	-(-)	-(-)	
	100 (160)	+(+)	+(+)	+(-)	+(-)	
	110 (180)	+(+)	+(+)	+(-)	+(-)	
II 相菌	80 (120)	+(-)	-(-)	-(-)	-(-)	
	90 (140)	+(+)	+(-)	-(-)	-(-)	
	100 (160)	+(+)	+(-)	+(-)	-(-)	
	110 (180)	+(+)	+(+)	+(-)	+(-)	
石炭酸クレゾール						

第6表 消毒薬に対する抵抗力 (II) 耐性株

	作用時間	稀釈	2.5	5	10	15 min.
			No. 10	80 (120)	+	-
90 (140)	+	-		+	-	+
100 (160)	+	+		-	+	-
110 (180)	+	+		-	+	-
標準菌 2 b	80 (120)	-	-	-	-	-
	90 (140)	+	+	-	-	-
	100 (160)	+	+	+	-	+
	110 (180)	+	+	+	-	+
No. 78	80 (120)	-	-	-	-	-
	90 (140)	+	+	-	-	-
	100 (160)	+	+	-	+	-
	110 (180)	+	+	+	+	+
石炭酸クレゾール						

第7表 耐熱試験 55°C

	時間	株	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	20.0	30.0	40.0	50.0	57.5	60.0 min.
			標準株	I 相	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
II 相	+	+		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
耐性株	No. 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	No. 78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

50°C +, 60°C 差を認めることが出来なかつた

8) 消毒剤に対する態度：第5, 6表の様に石炭酸, クレゾール各消毒剤に対する態度に差を認めなかつた。

9) 耐熱試験：第7表の様に 50°C, 60°C では差を認めなかつたが, 55°C に於て標準株のI相菌は15分で(-), II相菌は30分で(-), 耐性株は60分で(-)になつた。標準株に比して耐熱性を示した。

総括並びに考察

1) 薬剤耐性について：CM に対して今迄に見られたものと比較して格段にその耐性度が高い, 勿論これが単独耐性ではなく交叉耐性ではあるが特に CM に高い。この事は如何なる機構でこうなつたか, 即ち CM に耐性になつたので他の TC, SM に対して耐性になつたのか, SM, TC に耐性になつたので CM に耐性になつたのか不明であるが, 交叉耐性の成立機序については *in vitro* 及び *in vivo* について目下検討中である。

2) 形態について：電子顕微鏡的に耐性株の膨化膨大が認められたが, 先に中沢等が報告した耐性菌の電子顕微鏡の所見は菌形細長く菌体の中央に細長い凹味が認められた。その菌は寒天培養6時間であつたから我々の場

合も時間的に形態を追って見たら各 Phase によつて形態変化が認められるのではないかとも思われる。この点については現在研究を続けている。

3) 耐熱性について：耐性株に於て耐熱性であるという面白い結果が出ているが、この事は現在ぞくぞくと分類されている自然耐性菌及び人工耐性菌について広く検討して見たく思っている。即ち高度耐性と Cell wall の形態的、質的变化などとの関連については交叉耐性機序の問題を含め興味ある点である。

稿を終るにあたり、電子顕微鏡写真を撮つて頂いた東邦大学細菌学教室に対し深く謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 福見秀雄, 小酒井望, 小張一峰：日本医事新報, 1513, 14, 昭 28. 4.
- 2) 秋葉朝一郎, 木村貞夫：日本医事新報, 1837, 21, 昭 34. 7.
- 3) 落合国太郎, 織家実：日本医事新報, 1837, 25, 昭 34. 7.
- 4) 落合国太郎：日本医事新報, 1732, 26, 昭 32. 7.
- 5) 長岐佐武郎：日本医事新報, 1735, 14, 昭 32. 7.
- 6) 鍵和田滋, 星野重二：Chemotherapy, 7 (3), 151, 昭 34. 5.
- 7) 落合国太郎：日伝染会誌, 32(4), 222, 昭 33. 7.
- 8) 小酒井望：細菌の薬剤耐性, 医学書院, 昭 30.
- 9) 秋葉朝一郎, 中村敬三：細菌学, 南山堂, 昭 29.