

# 主として外科領域に於ける大腸菌の病原性に関する研究 (第一報)

——膿瘍由来大腸菌について——

昭和34年12月1日 受付

信州大学医学部細菌学教室 (指導: 田崎忠勝教授)

五味 五郎

## Studies on the Pathogenicity of *E. Coli*, isolated from some Surgical disease. (Report I)

——On the Pathogenicity of *E. Coli*, isolated from several abscess.——

Gorō Gomi

Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Shinsyu University.  
(Director: Prof. T. Tazaki)

### 緒言

1885年 Esherich が、大腸菌を全く Saprophytic のものとして記載して以来、長年月に亘つて殆んどすべての研究者により、大腸菌は所謂 "Concomitant Microorganism", であり、すべて非病原性であつて、無数に腸管内に常在するものと考えられていた。

その後、Uhlenfuth<sup>①</sup>, HARRISA<sup>②</sup>, Housten<sup>③</sup> 等によつて、始めて大腸菌の病原性が主張され、殊に大腸菌の或る菌株は、乳児下痢症の起因菌になり得るとの、Bray<sup>④</sup>, Varela<sup>⑤</sup>, Giles & Sangster<sup>⑥</sup> 等多数の報告に続いて、更に Kauffmann-Knipfshildt-Vahlne の抗原分析表<sup>⑦</sup>の確定を見てからは、Sjostedt<sup>⑧</sup>, Ewertsen<sup>⑨</sup>, Vahlne<sup>⑩</sup> 等の優れた研究業績があり、たとえば 0-111, 0-26, 0-55 の如く、その起因菌は 0 抗原の分析結果で決定されるまでに至つた。

一方、Fey,<sup>⑪</sup> Rogers & Koegler<sup>⑫</sup>, Ferguson & June,<sup>⑬</sup> 広木、中村、その他<sup>⑭</sup>、深沢、木下<sup>⑮</sup>、小川(透)、小川(次)<sup>⑯</sup>、高津、田崎・その他<sup>⑰</sup>、福見<sup>⑱</sup>、小張<sup>⑲</sup>等の報告の如く、その伝播経路、発生機序など、大腸菌性乳児下痢症は全般に亘つてその概要が明らかとされ、今日に及んでいる。

一方、Kauffmann<sup>⑲</sup> は、始め大腸菌の病原性に関する間接的事項として、菌型と共にその由来、0 凝集性、溶血性、壊死性などについて、推論的検索を行つて来た。例えば、溶血性を示す大腸菌数種の菌型、即ち 0 群 1, 2, 4, 及び 6 などは、人獣に対して病原性を有する事を推定し、且つこれらの菌株は、多く L 抗原を有し、0 凝集性であり、且つ、これらの菌株は、糞便及び病的材料の何れからも検出されるが、病巣由来の大腸菌は、同一の菌型にも拘らず、糞便由来大腸菌と比較して、マウスに対する病原性が強く、

又、0 凝集性であり、或る疾病、たとえば虫垂炎などの経過中、殆んど純粋培養の如く検出されるとしている。

さて、大腸菌が如何なる疾病に対して主として、その病原性を發揮するかについては、Löhr<sup>⑳</sup>, Fuld<sup>㉑</sup>, Siede, u. Luz<sup>㉒</sup> 等多数の報告例が見られるが、氏等も又、大腸菌によつて発症可能と推定される疾患、たとえば虫垂炎、腹膜炎、などより分離された大腸菌は、糞便大腸菌と比較して、或る種の性状に於いて、差異を認めた事を報告している。併し、従来これらの病巣由来大腸菌の抗原分布に関する検索では、本邦に於ける吉田<sup>㉓</sup>、高橋<sup>㉔</sup>、沼田、等<sup>㉕</sup>の報告でも明らかな如く、乳児下痢症の起因菌たる所謂病原大腸菌の如く、0 抗原によつて、明確に、系統的に、これを規制し得ない現状にあり、従つて、それらの示す病原性についても、尚検討すべき問題が、多々ある事は否定出来ない。

さて、抗原分析以外に、大腸菌の病原性を検する一般的手段として施行されて来たのは、マウスの致死効果、家兎皮膚反応、溶血性、犬スベルマ凝集性、De-テストなどである。マウスの致死効果は従来、MLD テストを以て行はれる。Ewertsen は<sup>⑩</sup> MLD が  $\leq 200$  Million の場合、その菌株は toxic,  $> 200$  Million の場合は atoxic であると判定している。

皮膚反応は家兎背皮の壊死性について行われ、従来から、デフテリー菌及びブドウ球菌を供試して Necrotoxin の定性検査法として報告されており、大腸菌の場合も同様の方法で、Gross<sup>㉖</sup>, Ewertsen<sup>⑨</sup>, Sjostedt<sup>⑧</sup> 等により実施され、今日に至つている。

溶血性については、1929年、Gross<sup>㉖</sup>、1946年、Ewertsen<sup>⑨</sup> により、大腸菌株の病原性と溶血性との

間には密接な關聯性があると發表され、後、Kauffmann<sup>20</sup>, Knipfshildt<sup>20</sup> 等に依り、大腸菌の溶血性は或る限られた O-Group, たとえば 0-2, 3, 4, 6 などに見られる事が明らかにされ、更に Vahlne<sup>10</sup> に依り、0-1, 2, 4, 6, 8, 及び 12 などに見られると發表されて以来、検討を加えられているテスト法である。

犬スベルマ凝集性については、1955年 Rolle<sup>20</sup>と、その研究者に依つて發表されたものであり、氏等は、病原性及び非病原性大腸菌の差異は、それら大腸菌株の犬スベルマ凝集の有無により決定される事を記載し、更に犬スベルマ凝集陽性の菌株は L 抗原を有すると結論づけ、これらの理論は、Kauffmann<sup>20</sup>, 及び Knipfshildt<sup>20</sup> の研究成果を裏づけるものとして注目されている。尚氏等は、犬スベルマ凝集陽性の菌株を、特に "Toxische Kolistämme," と呼称するのが妥当であるとしている。

De-Test は、De, & Chattajee<sup>31</sup> に依り、提唱された方法であり、1953年、Vibrio Cholerae が、家兎小腸粘膜に及ぼす病変について観察し<sup>32</sup>, 更に1956年、大腸菌の家兎小腸、殊にその粘膜に及ぼす病変について報告し<sup>33</sup>, それら病変部の肉眼的及び病理組織学的所見から、病原性及び非病原性の区別を成し得られると結論づけられているものである。

私は、従来大腸菌の病原性を示唆するものと考えられているこれら一連のテスト法を、従来比較的報告例を見ない所の二症例、即ち、開腹術後腹壁に多発性膿瘍を発生し、極めて慢性に経過した一症例、及び、虫垂切除術施行後、極めて慢性に経過した多発性臀部皮下膿瘍形成の一症例の、夫々の膿瘍中から分離した大腸菌について、同一患者の糞便由来大腸菌、及び対照として、健康人糞便由来大腸菌に対しても同様に検討して、次の如き知見を得たので報告する。

#### 病歴、実験材料及び実験方法

##### (1) 病歴及び実験材料

###### (i) 多発性腹壁膿瘍患者 (以下 A と假称する)。

昭和 33 年 11 月 5 日、十二指腸巨大症で開腹術施行、術後 1 週間から限局性腹膜炎を併発して手術創の一部に瘻孔形成を来し、膿汁流出を見るに至る。局所排膿処置、抗生物質の投与により、約 1 ヶ月の後、瘻孔は閉鎖したが、尚直腹筋層並びに皮下に小膿瘍を形成し、慢性の経過をとつて多発、約 7 ヶ月の後、軽快治癒した。

###### (ii) 多発性臀部膿瘍患者 (以下 B と假称する)。

昭和 30 年 5 月 30 日、急性虫垂炎で切除術施行 (虫垂内腔に蛔虫迷入)、術後の経過は極めて順調で 9 日目

退院、退院後 5 日目から手術創の劇痛と共に、発熱を訴え即日入院、スルファミン剤、抗生物質を投与して一時軽快退院したが、その後約 3 週間で、下腹部に多発性皮下膿瘍を発生、抗生物質の大量投与と共に、切開排膿などの処置を行つたが、症状一進一退して、小膿瘍は漸次臀部に拡大新生し、極めて慢性に経過するに至つた。膿瘍の数は数十乃至 100 個以上を数えるに至り、約 1 ヶ年半に亘り経過を観察し得たが、その後の症状は不明である。

これら、A, B の膿瘍中から、嚴重なる無菌操作のもとに採取した膿汁を、Drigaiski 変法培地、又は遠藤培地に培養して、A からは凡そ 7 ヶ月、B からは凡そ 1 ヶ年半に亘つて大腸菌を分離し、生物学的性状検査を施行して、大腸菌と確認した菌株を供試菌として実験を行つた。

尚 A 病巣からは菌検査の初期、約 1 ヶ月半に亘つて黄色ブドウ球菌が、又 B 病巣からも菌検査の初期、数種の菌の発現を見たが、何れも漸次減少して、一定期間の後にはすべて大腸菌のみ純培養として得られた。

又、B 病巣から分離した大腸菌 90 株は、精細なる生物学的性状と抗原分析の結果から、0 群 1, 8, 11 の 3 種と、他に untyped の菌株 7 種を得た。更に B 糞便株は、0 群 1, 8, 11 免疫血清に吸収試験を施行して後実施した凝集反応の結果、0 群 1, 8 に極めて高い凝集価を示した菌株と、吸収免疫血清の何れにも凝集しない菌株各数株づつを得たので、B 病巣及び糞便株については、特に抗原構造と一連のテストとの關聯性を検討するため、これらの菌株を供試菌として実験を行つた。

#### (2) 実験方法

##### (i) スベルマ凝集性、

Rolle<sup>20</sup> の方法に準じて行つた。

被検菌液は 1.0% BaCl<sub>2</sub> 9.9cc と、1.0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1cc の混合液の 2 倍稀釈液の混濁度に相当する浮遊濃度とし、先づ清潔な載物ガラスに毛细管を用いて犬スベルマ 1 滴を乗せ、それに上記菌液 1 滴を加えて軽く振動すると、反応は肉眼的にも極めて明確に観察される。この場合、犬スベルマが即時に強く凝集するものを (++)、数秒を経て而も弱く凝集するものを (+)、何等の反応を示さないものを (-) で表示した。

##### (ii) 溶血性：

人血液寒天平板を使用して面線接種、24 時間培養の後、その有無を観察した。

##### (iii) 壊死性、

脱毛した家兎背に、被検菌のブイヨン 5 ½ 時間培養液の 0.1cc づつを皮下接種した後、1 乃至 5 日間連日観

察を行い、壊死部の（長径×短径）が20mm×20mm 又はそれ以上のものを（卅），10mm×10mm 以上を（卅），5mm×5mm 以上を（+）とし、それ以下の場合を（-）で表示した。皮膚反応は第一日目から既に出現するが、早期には膿様点状、周囲発赤など、境界不鮮明のため計測には不便であるが、2日、3日と時日が経るに従い、茶褐色から黒褐色に変色し、健康部との境界も判然として来るから、3日目を以て判定に供した。

(イ) マウスの感受性、

何れも体重15gr内外、日令30乃至40日のd. d. N系マウスを用い、37°C 18時間培養の被検菌0.3mgを、マウス腹腔内に型の如くに注射し、1週間に亘つてその生死と、マウス白血球数の変動状態について観察した。白血球数の算定に当つては、同一供試菌について夫々3匹一群のマウスを供試して、尾部断端から湧出する血液1mm<sup>3</sup>中の白血球数の平均値を算出し、注射前及び注射後12時間より始めて、以後12時間毎に観察した結果その数値の増減状態を比較検討した。

(ロ) De-テスト

Deの方法<sup>⑩</sup>に準じて行い、家兎小腸の病変の有無を肉眼的に観察して、その結果を判定した。

(3) 実験成績

(イ) Aの実験結果

(a) 犬スベルマ凝集性

〔表I〕の如き結果を示した。

即ち、病巣株は、分離月日別のスベルマ凝集性の全期間を通じて、すべての菌株が（卅）を示したのに反して、これと同時期、又は異つた時期に分離した同一人糞便株は、（+）又は極めて稀に（-）を示す菌株のある事を認めた。

即ち糞便株では、スベルマ凝集反応上、明らかに3種類の菌株に区分される事を認め興味深く思はれた。なお、（卅）の菌株は953株（94.9%）、（+）の菌株は16株（1.4%）（-）の菌株は36株（3.1%）の成績であつた。尚、同一人糞便株中に、凝集陰性の菌株が、稀に認められたという事実は、Sears<sup>⑩</sup>が、同一人糞便由来大腸菌の長期に亘る抗原分析の結果認めた所の、所謂通過菌（Trancient）と推定されるが尚今後検討されるべき問題であらう。

さて、これらの対照として、全く胃腸障害を自覚しない所の健康人30名を選び、その各々の糞便中から分離した大腸菌株20づつに対して、スベルマ凝集反応を試み〔表II〕の如き結果を得た。即ち、30例中4例に凝集（+）を示し、他の26例はすべて陰性であ

表 I A患者病巣及び糞便株スベルマ凝集性

| (分<br>月日) | 分<br>回数 | 分<br>材料 | 供試<br>コロ<br>ニー | 卅            | +         | -         |
|-----------|---------|---------|----------------|--------------|-----------|-----------|
| 7・12      | 1       | K       | 46             | 46           | 0         | 0         |
| 7・21      | 2       | K       | 32             | 32           | 0         | 0         |
| 8・4       | 3       | K       | 20             | 20           | 0         | 0         |
| 11・20     | 4       | E       | 24             | 24           | 0         | 0         |
| 12・5      | 5       | K       | 20             | 18           | 0         | 2         |
| 1・6       | 6       | E       | 22             | 22           | 0         | 0         |
| 1・7       | 7       | K       | 24             | 20           | 4         | 0         |
| 1・7       | 8       |         | E              | 18           | 18        | 0         |
| 1・9       | 9       | K       | 42             | 38           | 0         | 4         |
| 1・16      | 10      | K       | 28             | 28           | 0         | 0         |
| 2・12      | 11      | E       | 26             | 26           | 0         | 0         |
| 2・12      | 12      |         | K              | 28           | 28        | 0         |
| 2・24      | 13      | K       | 24             | 17           | 2         | 5         |
| 2・25      | 14      | E       | 20             | 20           | 0         | 0         |
| 2・25      | 15      |         | K              | 39           | 27        | 10        |
| ・         | ・       | ・       | ・              | ・            | ・         | ・         |
| ・         | ・       | ・       | ・              | ・            | ・         | ・         |
| ・         | ・       | ・       | ・              | ・            | ・         | ・         |
| ・         | ・       | ・       | ・              | ・            | ・         | ・         |
| 4・20      | 45      | K       | 23             | 23           | 0         | 0         |
| 計         |         |         | 1,257          | K953<br>E252 | 16<br>(K) | 36<br>(K) |

E…病巣  
K…糞便

表 II 健康人糞便由来大腸菌のスベルマ凝集性

| スベルマ<br>凝集性 | 凝集例数 | 被検コロ<br>ニー数 |
|-------------|------|-------------|
| 卅           | 0    | 0           |
| +           | 4    | 80          |
| -           | 26   | 520         |
| 計           | 30   | 600         |

つた。

又、各供試例の中には、スベルマ凝集反応上2種類以上の凝集性状を有する例を認めなかつた。

(b) スベルマ凝集性と、溶血、壊死との関係。

スベルマ凝集テストに供試した菌株の中から、病巣株は可及的に発病初期、重症時、回復期の各時期に分離した計60株を、同一人糞便株は、スベルマ凝集（卅）の菌株15株、（+）の菌株15株、（-）の菌株30株の計60株を、同じく可及的に時期的に区分して供試菌となし、更に健康人30名の糞便株から1菌株づつ30株を撰んで計150株について、溶血と壊死について検討

表 III スペルマ凝集性と溶血壊死との関係(A)

|        | ス<br>ペ<br>ル<br>マ<br>凝<br>集 | 例<br>数 | 溶<br>血 | 壊<br>死 | 溶<br>血<br>壊<br>死 |
|--------|----------------------------|--------|--------|--------|------------------|
| 病巣株    | +                          | 60     | 7      | 3      | 1                |
| 同一人糞便株 | +                          | 15     | 1      | 1      | 0                |
|        | +                          | 15     | 1      | 2      | 1                |
|        | -                          | 30     | 0      | 1      | 0                |
| 健康人糞便株 | +                          | 0      | 0      | 0      | 0                |
|        | +                          | 6      | 0      | 1      | 0                |
|        | -                          | 24     | 1      | 1      | 1                |

表 IV スペルマ凝集性と溶血壊死陽性率(A)

|       | スペルマ凝集(%) |      |      | 溶<br>血 | 壊<br>死 | 溶<br>血<br>壊<br>死 |
|-------|-----------|------|------|--------|--------|------------------|
|       | +         | +    | -    |        |        |                  |
| 病巣    | 100       | 0    | 0    | 11.7%  | 5.0%   | 1.7%             |
| 同一人糞便 | 94.9      | 1.4  | 3.7  | 3.4%   | 6.8%   | 1.7%             |
| 健康人糞便 | 0         | 13.4 | 86.6 | 3.3%   | 6.6%   | 3.3%             |

し、[表 III] の如き結果を得た。即ち、スペルマ凝集陽性株(+)又は(++)の中、病巣株では、60株中溶血を示したものの7株、壊死を示したものの3株、溶血、壊死を共に示したものの1株、又同一人糞便株では、30株中、溶血2、壊死3、健康人糞便株では溶血0、壊死1株と云う成績を認めた。又、スペルマ凝集陰性株では、健康人糞便株の24株中、溶血を示したものの1株、壊死を示したものの1株、同一人糞便株では、30例中壊死を認めたものの1株であり、本テスト範囲では、スペルマ凝集性と、溶血、壊死との関係性は顕著には認められなかつた。一方[表 IV] に示される様に、病巣株、同一人糞便株、健康人糞便株の相互間には、殊にスペルマ凝集性と溶血性に於いて或る程度の差異を認め、概して病巣株は糞便株に比較して、高率の陽性度を示した。即ち、病巣株のスペルマ凝集性は(++)100%に対して、同一人及び健康人糞便株は、夫々94.4%、及び0%であり、(+)の菌株は、夫々1.4%及び13.4%にすぎなかつた。又溶血は、病巣株の11.7%が陽性を示したのに対して、同一人糞便株では3.4%、又、健康人糞便株では3.3%に陽性を示したにすぎない。

(c) スペルマ凝集性、溶血、壊死、De-Test、及びマウス感受性の相互関係。

病巣株、同一人糞便株、及び健康人糞便株の中から、スペルマ凝集性、溶血性、壊死性の相互の関聯性

から見て、明らかに差異があると認められた代表株として、夫々4株、6株、4株、計14菌株を撰び、夫々の菌株について、De-テスト、マウスの感受性について観察した結果は[表 V] に示される通りである。即ち、De-テストでは、病巣株4株中の2株が陽性を示したが、糞便株はすべて陰性に終つた。マウスには弊

表 V 各テスト法に於ける相互関係(A)

|                            | 供試菌<br>No. | ス<br>ペ<br>ル<br>マ | 溶<br>血 | 壊<br>死 | De<br>-<br>テ<br>ス<br>ト | マウス    |             |
|----------------------------|------------|------------------|--------|--------|------------------------|--------|-------------|
|                            |            |                  |        |        |                        | 生<br>死 | 白<br>血<br>球 |
| 病<br>巣<br>株                | 17         | ++               | -      | -      | +                      | 生      | 増           |
|                            | 19         | ++               | -      | +      | -                      | 生      | 減           |
|                            | 5          | ++               | +      | -      | -                      | 生      | //          |
|                            | 10         | ++               | +      | +      | +                      | 生      | //          |
| 同<br>一<br>人<br>糞<br>便<br>株 | 6          | -                | -      | +      | -                      | 生      | 増           |
|                            | 18         | -                | -      | -      | -                      | 生      | //          |
|                            | 44         | ++               | -      | +      | -                      | 生      | //          |
|                            | 21         | ++               | +      | -      | -                      | 生      | //          |
|                            | 63         | +                | -      | -      | -                      | 生      | 減           |
|                            | 55         | +                | +      | +      | -                      | 生      | //          |
| 健<br>康<br>人<br>糞<br>便<br>株 | 16         | -                | -      | -      | -                      | 生      | 増           |
|                            | 5          | -                | -      | -      | -                      | 生      | //          |
|                            | 6          | +                | -      | -      | -                      | 生      | //          |
|                            | 3          | -                | +      | +      | -                      | 生      | 減           |

死したものを認めず、白血球数は、供試菌所定量の腹腔内注射12時間後の測定結果で、病巣株4株中の3株(75%)が減少を示したのに対し、同一人糞便株では6株中の2株(33.4%)に、又、健康人糞便株4株中1株(25%)に減少を認め、結果的には、病巣株は糞便株に比較して、白血球数減少が高率を示している様に推定された。

併し一般に、病巣及び糞便株の、すべての供試菌株を通じて、これら5種類の病原性テスト法相互間の関聯性は認められず、これらのテスト範囲に於ける各菌株の示す性状は極めて多様であつた。併し、病巣株は糞便株に比較して、De-テスト、マウスの感受性に於いても、他のテスト法と同様、或る程度高率の陽性度を示す様に推定された。尚、白血球数変動状態の詳細の一例を示すと(図.1)の如くである。

(d) Bの実験結果

すでに記した通りの供試菌株に対して一連のテスト法を施行して[表 VI]及び[表 VII]に示される通りの結果を示した。

即ち、犬スペルマ凝集性は、病巣株、糞便株の全供

(図.1)

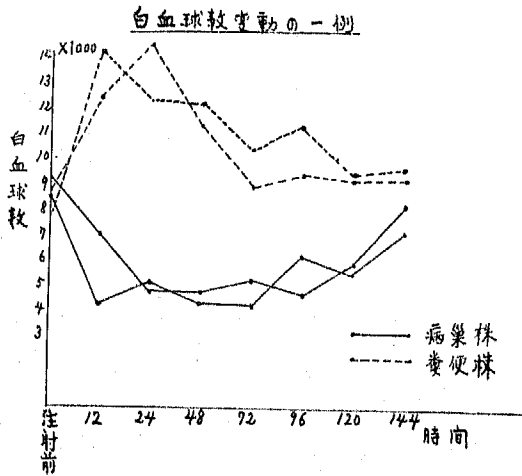


表 VI (B) 病巣由来大腸菌

| 供試菌 | タイプ     | スベルマ | 壊死 | 溶血 | Deテスト | マウス |     |
|-----|---------|------|----|----|-------|-----|-----|
|     |         |      |    |    |       | 生死  | 白血球 |
| 11  | 0-8     | +    | -  | -  | -     | 生   | 増   |
| 13  | 0-8     | +    | -  | -  | -     | 生   | 減   |
| 15  | 0-8     | +    | +  | +  | -     | 生   | 減   |
| 17  | 0-8     | +    | +  | +  | -     | 生   | 不変  |
| 21  | 0-1     | +    | -  | +  | -     | 生   | 増   |
| 22  | 0-11    | +    | -  | -  | -     | 生   | 増   |
| 31  | untyped | +    | -  | -  | +     | 生   | 増   |
| 32  | "       | +    | -  | -  | -     | 生   | 減   |
| 33  | "       | +    | +  | -  | +     | 生   | 減   |
| 35  | "       | +    | -  | -  | +     | 生   | 減   |
| 37  | "       | +    | -  | -  | -     | 生   | 減   |
| 38  | "       | +    | -  | -  | -     | 生   | 増   |
| 39  | "       | +    | +  | -  | -     | 生   | 減   |

表 VII (B) 糞便由来大腸菌

| 供試菌           | 壊死 | 溶血 | スベルマ | Deテスト | マウス |     |
|---------------|----|----|------|-------|-----|-----|
|               |    |    |      |       | 生死  | 白血球 |
| K 7 (0-8)     | -  | -  | +    | -     | 生   | 減   |
| K24 (0-8)     | -  | -  | +    | -     | 生   | 減   |
| K33 (0-1)     | -  | -  | +    | -     | 生   | 増   |
| K84 (0-1)     | -  | -  | +    | -     | 生   | 不変  |
| K17 (untyped) | -  | -  | +    | +     | 生   | 増   |
| K75 (untyped) | -  | -  | +    | -     | 生   | 減   |

試菌株に対して弱陽性 (+) を示した。又病巣株の中、溶血を認めたものは13株中3株であり、(0-8) 2株、(0-1) 1株であつた。病巣株の中、壊死を認めたものは13株中の4株であり、興味ある問題は、同一0群8に属する4株の供試菌の中、その2株に溶血、壊死共に陽性、他の2株は共に陰性を示した点である。

マウスは7日間の観察中斃死したものは無く、白血球数増多を示したもの5株、不変1株、他の7株は減少を示し、多様であつた。

又、同一(0-8)に属する4菌株の中で、白血球数の増多1、減少2、不変1株の成績を示したが、溶血、壊死の結果とを比較して興味深い。

尚、これら一連の病原性テストに於ける相互関係性は著明でなく、供試菌13株中、溶血、壊死を共に認められたものは、No.15, No.17の2株、壊死、De-テスト共に陽性を示したものは No.33の1株にすぎない。

スベルマ凝集性、溶血、壊死が、共に陽性を示し乍ら、De-テスト、及びマウスに対する感受性テストを追加検討すれば、それらが陰性の結果に終る菌株が極めて多いと云う事実は、これら一連の病原性テストを系統的に施行すれば、結果的には各テスト相互の関聯性が認められる菌株は極めて稀である事が推定され、そしてこの様な事実は、同一人糞便株の示す一連のテスト結果を見ても明らかである。

即ち、スベルマ凝集陽性を示した供試菌6株の中、例えば De-テスト陽性株 (K17) のマウス感受性テストでは、むしろ逆の結果を示し、この様な事実は、すべての供試菌に於いても共通の結果を認めた。

併し一方、病巣株が、壊死30%、溶血23%、De-テスト23%、白血球減少53.8%と、比較的高い陽性度を示したのに対し、糞便株では、0%、0%、16.7%、50%と、低い陽性度を示している事は、Aの場合と同様、病巣株と、糞便株の間には、或る程度の差異があると推定された。

考 按

最近、大腸菌の病原性に関する研究が、各方面の関心を強く惹きつゝあるが、此の病原性と密接な関聯性を持つと考えられる各種のテスト法の中で、スベルマ凝集性を中心として、溶血性、壊死性、De-テスト、マウスの感受性などについて、従来の研究者に依つて未だに試みられない処の、多発性膿瘍由来大腸菌に対して検討を加えた。その理由は、A, B の両患者から初期の一定期間、ブドウ球菌、乃至は、或る種の菌の出現を見た後は、夫々7ヶ月、及び1年半の長期に亘

つて、大腸菌のみが純培養として得られたと云う事実から、これが、所謂菌交代症としての大腸菌に依る膿瘍発生と推定し得たとしても、余りにも長期間、起病性を発起した事実から、その病原性を検討する必要性を感じたからである。更に、すでに Kauffmann<sup>②</sup>, Knipfshildt<sup>③</sup>等が指摘している如く、溶血、壊死を起す大腸菌は、多くL抗原を持っているという事実と、Rolle<sup>④</sup>の指摘している如く、スペルマ凝集陽性株は、多くL抗原を持っているという報告例を考え合わせて、当然、スペルマ凝集性と、溶血、壊死相互間の關聯性のある事が推定されたので、これらに更に、De-テスト及びマウス感受性を追加して、一連のテスト法を施行して、相互關聯性を比較検討の必要性を認めたからである。

さて Rolle<sup>④</sup>は、乳児下痢症糞便由来大腸菌の培養平板を、生食水で洗い流す事に依つて菌液を作成し、該菌液で、犬スペルマ凝集性を試みると、凝集反応強陽性及び弱陽性の二種の凝集性状が観察され、凝集度の強弱は、単に病原性大腸菌と非病原性大腸菌の量的比率から生ずるものであり、例えば凝集強度の場合は、培養基上に於ける病原性大腸菌が極めて大量に存在するためであると記載している。併し、私の実験では、大腸菌各個のコロニーに対して凝集反応を試みると、即時に強く凝集するもの、数秒後に弱く凝集するもの、全く凝集を認めない所の、少くとも三種類の凝集性状を有する事が見出された事実は、健康人糞便株中からも凝集陽性の菌株が見出された事と共に興味深く思はれた。Rolleは最良の凝集結果は、スペルマが1mm<sup>3</sup>中6万ヶ存在する様に稀積された時に認められると記載しているが、私の経験では、原液乃至生理的食塩水加2倍稀積液までに於いて、実験中稀積度を厳密に一定にしておけば、本反応の判定上、障碍が無い様に推定された。尚、反応を読み取る際は、載物ガラスの汚染による、犬スペルマの非特異的凝集に注意する必要がある。

溶血に用いる供試血球の種類として、Kauffmann<sup>②</sup>, Knipfshildt<sup>③</sup>, Vahne<sup>⑤</sup>等が、その原法として馬血球を用いたのに対し、大原<sup>⑥</sup>は、家兎及び人血球も、その成績判定上には、何等障害の無い事を認め、又原法がペプトン水法に対して、血液寒天平板法でも十分に判定出来得る事を報告している。私は、大原<sup>⑥</sup>の記載に従つて人血液寒天平板を使用した。一方坂崎は、この場合、カルシウムブイオンを推奨している。更に検討する必要があると思はれる。

壊死については Gross<sup>⑦</sup>, Ewertsen<sup>⑧</sup>, Siestedt<sup>⑨</sup>等がこれを提唱しているが、特に壊死の大きさと、

接種菌量との關係については、既に、Ewertsen<sup>⑧</sup>の記載にも見られる通り、仮令、壊死を惹起する菌株でも、極めて微量接種すれば反応を起さないが、之と反対に、多く接種すると、反応の強さは明らかに大きくなるので、接種菌量は一定にして施行したが、本テスト結果では10mm以上の壊死を起す菌株が認められなかつた。

壊死性大腸菌の検出成績については、広木<sup>⑩</sup>、大原は、人糞便株の8%に対し、尿路由来菌株の27%、更に溶血性大腸菌株の54%と、頗る高率に検出しているが、私の成績では、A病巣株の5.0%に、又B病巣株の30.8%の高率に検出され、一方A、B糞便株及び健康人糞便株の壊死陽性率は、夫々6.8%、0%、6.6%と云う成績を示し、一般に病巣株は糞便株に比較して高い陽性率を示した。

さて、De-テストと、溶血、壊死との關聯性について、波岡<sup>⑪</sup>等は、豚の小腸、及び大腸から区々に分離した大腸菌に対して、詳細なる検討を加えているが、これらのテスト相互間の關聯性は認められなかつたと結論づけている。私の実験結果に於いても、De-テスト、と、スペルマ凝集性、溶血、壊死、マウス感受性相互の關聯性を認め得なかつた。

又、マウス白血球数の変動状態を観察した結果では、A病巣株は概ね減少を示したが、B病巣株は多様であり、糞便株は概ね増多を示した事は興味ある問題であるが、被検マウスは、取り扱い上の如何に依つて、その白血球数に極めて鋭敏な影響を与えるから、尚検討すべき問題と考えられるが、特に次の諸点に注意して実験に供した。

①白血球数は性別による差異はないが、生后日数、系統に依る差が見られる。(Gowen & Calhoun<sup>⑫</sup>)

②白血球数は採血部位に依つて異なる。(Goldie et al<sup>⑬</sup>)

③市販雑系マウスは、d. d系に比較して個体差が大で、血液像を見る実験には不適当である。(石井、小林<sup>⑭</sup>)

④マウスの血液は、系統、日令、飼料、採血部位に依り、変動が大であるので、検査に際して、これらの諸点を一定にする必要がある。(Gowen & Calhoun<sup>⑫</sup>)

又、予備実験から、次の諸点に対しても留意する必要がある事を痛感した。

①麻酔の深度に依つて、白血球数に差異を認めるため、麻酔はすべて不適当である。

②飼育籠から、採血台への距離は、一定にする必要がある。

③室温は可及的一定にする。

④マウスに過激の運動を与えると、白血球数に可成りの変動を見る。などである。

尚、私の行つた、以上の一連のテスト法は従来、乳児下痢症など、消化管系疾患の糞便由来大腸菌に対して行われた方法と同一であり、これらのテスト法を直ちに、膿瘍由来大腸菌に適用し得るかどうかは、疑問であらう。

併し、膿瘍由来大腸菌に於いても、他の病巣、たとえば尿路感染由来菌株の場合と同様、同一人、及び健康人糞便株と比較して、各種の病原性テスト法に於いて、それらの示す陽性度が、高率であつたと推定し得る事は、A糞便株に見られた犬スベルマ凝集陰性株の、出現が、果して通過菌としての妥当性があるかなどの諸点と共に、極めて興味ある問題である。

### 結 論

従来O抗原では、その病原性が決定されないと考えられている所の大腸菌、即ち、A、Bの両多発性膿瘍患者から分離した大腸菌に対し、同一人糞便株及び健康人糞便株と比較し乍ら、抗原分析以外に大腸菌の病原性を示唆すると称せられている一連のテスト法、即ち、犬スベルマ凝集性、溶血性、壊死性、De-テスト、マウスの感受性について検討を加え大略次の様な結論を得た。

(1) 犬スベルマは、被検大腸菌によつて、その凝集の度合を異にする場合があり、或る菌株に対しては強く、或る菌株に対しては弱く凝集し、又或る菌株に対しては全く凝集を示さなかつた。

(2) スベルマ凝集性では、A、B双方の病巣株及び糞便株の大多数が陽性を示したが、健康人糞便株の陽性率は低く、概ね陰性であつた。

(3) A、B双方の病巣株の溶血性は両者の糞便株と比較して、或る程度、高い陽性率を示した。

(4) マウス白血球数は、Aの病巣株では概ね減少を示したが、Bの病巣株では多様な結果を示し、又糞便株は概ね増多を示した。

(5) De-テスト陽性株は、B病巣及び糞便株の一部に、又、B病巣株の1部に認められたが、健康人糞便株には認められなかつた。

(6) 血清学的に同一菌型に属する菌株でも、各テストの結果示される成績は多様であつた。

(7) 一般に以上の各テストに対する、各菌株の關聯性は認められない。

稿を終るに當り、終始御懇篤なる御指導と、御助言を戴きました。田崎教授、星子教授、岩月教授、予研中谷、坂崎両博士、及び家衛研波岡博士に対し厚く敬意と謝意を表し、御協力戴いた星子外科教室員各位

に対し、厚く謝意を表します。

(本論文の要旨は、第14回日本細菌学会関東支部總會に於いて発表した)。

### 文 献

- ①P. Uhlenfuth : Ztsch. F. Hyg. u. Infekt-Krh., 26 : 476, (1897) ④V. D. Harrisa : J. Path. & Bact., 7 ; 22 (1901) ③A. C. Houston : Cited From A. System of Bact. IV ; 275, London (1921)  
 ④J. Bray : J. Path. & Bact. 60 ; 395, (1948)  
 ⑤G. Varela : Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. 3 ; 3, (1946) ⑥C. Giles & G. Sangster : J. Hyg. 46 : 1, (1648) ⑦Kauffmann-Knipfshildt-Vahlne 抗原表 : International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy, 4 (1) : 33, (1954)  
 ⑧Sjostedt. S. : Acta path. et Microb. Scand Supp. LXIII, (1946) ⑨Ewertsen. H. W. : Acta Path et Microb. Scand. Supp. LXIII, (1946) ⑩Vahlne. G. : Acta Path et Microb. Scand. Supp. LXII (1945) ⑪H. Fey : Erg. Hyg. Bakt., Immun. u. Exp. Therap., 29 : 394 (1955) ⑫Rogers & Koegler : J. Hyg 44 : 151, (1951) ⑬W. W. Ferguson & June : J. Hyg 55 (2) : 155, (1952)  
 ⑭広木, 中村, その他 : 文部省腸内細菌研究班会議報告, 昭28 ⑮深沢, 木下 : 医療, 8 (2), 77-80  
 ⑯小川(透), 小川(次) : 日本臨床, 11 (11) : 901, 昭28 ⑰高津, 田崎, 他, 小児科臨床, 6 : 71, 昭28  
 ⑱福見 : 日伝 30, 545 昭31 ⑲小張 : 日伝 30, 553 昭31 ⑳F. Kauffmann : Enterobacteriaceae ; 170, 1951 ㉑Löhr. W. : Arch. F. Klin. Chir. 197 : 283, (1940) ㉒Fuld, J. : Arch. F. Klin. Chir. 144 : 369, (1927) ㉓Siede. W. u. Luz. K : Klin. Woch. 10 : 241, (1941) ㉔吉田 : yokohama Medical Bulletin : 8 (1) : 4, (1957) ㉕高橋 : 名古屋市立医学 : 7(3) : 129, 昭31 ㉖沼田, 岡, 野口 : 熊本医学30 : 359, 昭31 ㉗H. Gross : Zthl. F. Bakt Orig. I. 111 ; 317, 1929 ㉘F. Kauffmann : Acta Path. et Microb. Scand, 21 ; 20, 1949 ㉙Knipfshildt. H. E : Copenhagen 1945 ㉚Rolle, M. & Kalisch, J. Ztbl. Bakt. 164, 86 ㉛De. S. N & Chattaja D. N : J. Path. & Bact., 66, 559 (1953)  
 ㉜De. S. N : J. Path & Bact. 71, 201 (1956)  
 ㉝Sears et al : J. Bact. 59, 293 (1950) ㉞大原 : 鹿児島医学 28 ; 66 昭30 ㉟広木 : 日細 6 (5) : 11, 1951 ㊱波岡, 漆堂, 坂崎, : Jap. J. Med. Scie. & Biol, 11 (3), 141 (1958) ㊲Gowen, J., & M. L. Calhoun : J. Inf. Dis., 73, 40 ㊳Goldie, H., A. M. Joes, et al : Science, 119 ; 353 ㊴石井, 小林 : 実験動物彙集 3 ; 13 昭29