

空气中より分離せるブドウ球菌に関する研究

第I編 生物学的性状に関する研究

昭和34年5月9日受付

岐阜県立医科大学微生物学教室 (主任: 栗本珍彦教授)

森 昭 夫

Studies on Staphylococcus isolated from the Air

Part I: On the biological properties

Akio Mori

Department of Bacteriology, Gifu Prefectural Medical School

(Director: Prof. U. Kurimoto)

緒 言

ブドウ球菌は人体表面、糞便、空气中にきわめて普通に認められる菌であるが、炎症、食中毒、菌交代による疾患に重要な意味をもつことは周知の通りである。近時、化学療法剤の相續く出現によつて、抗生剤耐性ブドウ球菌の蔓延とこれによる感染症の増加により“Hospital Staphylococcus”による Cross infection の問題が我が国を始め諸外国において重大視されるようになった。著者は昭和33年1月より12月までの間、主として病院内と病院外市街地の地域8ヶ所の空气中より385株のブドウ球菌を採取分離し、その生物学的性状と病原性についての考察をなし、興味ある知見を得たのでここに報告する次第である。

我が国に於ては、従来空气中ブドウ球菌を分離研究せる論文は見当らなかつたが、最近本菌による院内感染が取挙げられ、病院内の塵埃より少数株であるが採取分離せるブドウ球菌に関する研究報告も若干見られる様になつた。(文献は後述)

第1章 定義と分類

我が国では、細菌の分類法は主に米国で発行されている Bergey's Manual of Determinative Bacteriology^①を標準にしている。この分類提要は数年毎に改版され、新しい事実を加え、必要があれば分類形式が改められている。「ブドウ球菌」「Staphylococcus」ということばで長い間親しまれてきたブドウ球菌属が消えて Micrococcus に包括されたのは第6版、1948年の時のことであるが、1957年の秋発行された第7版ではまた“Staphylococcus”の名が復活し菌種の分類はまたかなりの変化を見せた。即ち、ブドウ球菌は古くから色素産生を目標にして

黄色ブドウ球菌 Staphylococcus aureus

白色ブドウ球菌 Staphylococcus albus

橙色ブドウ球菌 Staphylococcus citreus

の3種に分けられ、ブドウ球菌属は Micrococcus と共に Micrococcaceae に包括されていた。ところが第6版では、ブドウ球菌という属名は消失して Micrococcus に合流し上記の3菌種はそれぞれ

Micrococcus pyogenes var. aureus

Micrococcus pyogenes var. albus

Micrococcus pyogenes citreus

と学名が變つたのである。1957年、第7版でブドウ球菌属に含まれる菌種は再び變つて

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

の2種のみになつた。

ブドウ球菌の場合には、病原性の確認が実験動物を通じてでなく、別のいくつかの生物反応(マンニト分解能、食塩耐性、溶血性および血漿凝固)によつて行われることで、病原性のないブドウ球菌(Staphylococcus citreus, および Staphylococcus albus の一部)については Micrococcus との区別はかなり面倒になつてくるし、事実どの菌種だかわからない場合も少くない。そこで第7版では、不規則な排列を示す球菌群の中で好気性でブドウ糖を酸化分解する菌を(Genus I. Micrococcus に、通性嫌気性でブドウ糖を醗酵によつて分解しアセトン(アセチルメチルカルビノール)をつくるような菌を Genus II. Staphylococcus に区分し、ブドウ球菌属の定義として

1) グラム陽性、非運動性、単在あるいは不規則にならぶ小球菌

2) 食塩抵抗性があつて、あるものはこの培地上で黄色色素をつくる

3) 通性嫌気性、ブイヨンや普通寒天によくはえる

4) アルギニンを含む培地でアンモニアをつくる

5) 増殖に各種のビタミンやアミノ酸を必要とする

6) ブドウ糖を醗酵分解しアセトンをつくる

7) 血漿凝固作用陽性の株は各種の毒素をつくるの事項をあげ、要因の1つに食塩耐性がブドウ球菌であるという点である。そしてこれまで非病原性ブドウ球菌として *Staphylococcus medium* No. IIO にはえなかつた株は、今度はブドウ球菌のワクをしめ出されて、*Micrococcus* に入ることになる。そこで、新しいワクに限られたブドウ球菌は血漿凝固作用とマンニト分解能とで次の2種に別けられる。

Staphylococcus

I. Ferment mannitol. Coagulase-positive.

1. *St. aureus*.

II. Does not ferment mannitol. Coagulase-negative.

2. *St. epidermidis*.

そうなると、色のできるできないはどうなるかということになる。マンニト(+), 血漿凝固(+), である菌株は昔の *Staphylococcus aureus* の他に, *Staphylococcus albus* の一部もそれに当るはずだからである。これについては *Staphylococcus aureus* と *Staphylococcus albus* の病原性のちがいは全く色素のあるなしだけであり、しかも色素産生は条件によつて変り得るものだから、昔の分類で "*Staphylococcus albus*" の病原株といわれたものは, *Staphylococcus aureus* が色素産生能を失つた変異だと解釈される。依つて *Staphylococcus epidermidis* は、昔の分類では "*Staphylococcus albus* の非病原株または病原性のよわい株" に当ることになるだろう。非病原性株を切りすてしまつたこの分類は一応すつきりしたものになつたのだが、もちろん問題がないわけでない。

桑原²⁾は「ブドウ球菌の新しい分類とテルル酸グリシン寒天培地について」の論文のなかで、「血漿凝固作用(+), マンニト(-)という株はほとんどないが、その逆のマンニト(+), 血漿凝固作用(-)という菌株はある程度見出される。併しこれはどちらの菌種に属するであろうか。血漿凝固作用だけ陰性であってもそう簡単に病原性を否定するわけにいかぬ。特に言葉にこだわるわけでないが *Staphylococcus aureus* という言葉で、昔の *Staphylococcus albus* の一部を包括することはちよつとかならずけない。長い間親しまれてきた *Staphylococcus albus* に代つて *Staphylococcus epidermidis* が普及するのにはちよつと手間がかかりそうである。」と述べている。

Topley³⁾の定義と分類は以下の如くであるがこれは、従来本邦で行はれた分類方法に近い。(英国)

Staphylococcus

Spherical or ovoid, non-motile, Gram-positive

cells, arranged in grapelike clusters on solid media, and in pairs, small groups, or short chains in liquid media. On agar the growth is of a golden, white, or yellow colour. Great variation in biochemical activities, haemolytic power, and pathogenicity. Catalase positive. Actual or potential parasites. Type species is *Staphylococcus aureus* Rosenbach.

Micrococcus

Spherical or ovoid cells, non-motile, arranged in pairs, or groups, but not in grape-like clusters or chains. Generally Gram-positive. Aerobic and anaerobic. Aerobic species grow freely on ordinary media. Some species produce a yellowish pigment. Gelatin liquefaction is not constant and is usually slow. Fermentative activities weak. Some anaerobic species from gas. Usually non-pathogenic to man and animals. Type species is *Micrococcus luteus* Cohn.

Prévot⁴⁾ (仏)の分類体系では

Famille II; Micrococaceae

Micrococcales Gram-positives; trois tribus:

- en paires ou en chaines: Streptococaceae
- en amas plans: Staphylococaceae
- en amas non plans: Micrococaceae

と分けている。即ち純形態学的に観察して、平面的かたまりを *Staphylococcus*, 立体的かたまりを *Micrococcus* に分類している。

かくの如くブドウ球菌の定義についてもかなりの混乱があるが、著者は次の如くに、従来行われてきた慣用分類法に従うこととする。即ち、グラム陽性球菌で大きさ約0.6-1.0 μ で特有の配列を見、普通培地によく生える性質を有する菌をブドウ球菌と定義し、色素産生に依り以下の如く3種に分類した。但し色素産生は *Staphylococcus medium* No. IIO "榮研" 上の43時間後の観察である。

黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*

白色ブドウ球菌 *Staphylococcus albus*

橙色ブドウ球菌 *Staphylococcus citreus*

第2章 使用培地

ブドウ球菌の検索の際厄介な問題は、分離されたブドウ球菌が果して起病性をもつものか、あるいは単なる常在菌かという区別をつけなければならぬことである。この区別をつける指標が 1) マンニト分解能 2) 7.5% NaCl に対する抵抗性 3) 血漿凝固作用 4) 溶血作用及びゼラチン液化性にあること、こ

れ等の性状検査を比較の手早く一時に行い得る培地が *Staphylococcus medium No. IIO* である。

1945年 Chapman^⑥は 7.5% NaCl 加マンニット寒天培地を考案しているがその成績の良好なることは Mc Divitt^⑦により認められている。この改良培地である *Staphylococcus medium No. IIO* “榮研” は我が国で広く使用され推奨されている。鈴木^⑧は「ブドウ球菌分離用培地 No. IIO について」の論文について Difco 製品と“榮研”製品とそれに自製の培地を中心として比較検討し *Staphylococcus medium No. IIO* “榮研” が Difco に比し何等そん色を認めずその優秀性を認めた。

以上の理由に依り本研究では著者は *Staphylococcus medium No. IIO* を使用した。

この培地の組成は以下の如くである。

培地量 1l につき

酵母エキス “榮研”	2.5g
ペプトン “榮研”	10.0g
ゼラチン	30.0g
乳糖	2.0g
マンニット	10.0g
NaCl	75.0g
磷酸水素カリウム	5.0g
寒天	15.0g

培地の調製法

本培地 149g を冷蒸溜水 1l 中に懸濁させて完全に煮沸溶解する。これをフラスコに分注し、15ポンド (121°C) 15分間加圧滅菌する。滅菌後平板に分注する際に、普通の場合よりやや高め温度で気泡が立たぬように静かに振盪して沈澱物を均等に分散させた後平板に分注する。PHは7.0である。

第3章 採取法及び分離培養法

第1節 採取法

昭和33年1月より同年12月までの約1年間、主として晴天午後1時より午後4時までの間に第1表に示す8地区で落下法により空気中のブドウ球菌を採取した。

即ち、*Staphylococcus medium No. IIO* “榮研” をシャーレに 25cc 宛分注平板をつくり、ふらん器で乾燥した後、1地区に10枚から15枚宛大気中に10分間露出放置し採取した。

第1表 ブドウ球菌採取場所

地区 記号	岐阜県立医大 附属病院	地区 記号	岐阜市市街地
A ₁	外来(耳鼻科) 医局員5名, 患者20名在室	B ₁	市街地道路上 自動車, 人交通量 多し
A ₂	病院待合室 外来者, 患者約50名	B ₂	映画館 約500名入場中
A ₃	病室内 内科大部屋, 患者15名	B ₃	国鉄岐阜駅待合室 約60名旅客あり
A ₄	病院庭 人影なし	B ₄	大学基礎教室運動場 人影なし

第2節 分離培養法

採取后直ちに大学微生物学教室に持帰り、ふらん器内に 37°C で正確に43時間培養した。ブドウ球菌は本培地に良く発育したので適確にブドウ球菌の集落と認められるものより白色、黄色、橙色の色素産生別に分離、肉汁培地に純培養した。尚分離培養の際、培養時間が長くなると他の菌種が増殖し易いので正確に培養時間を守る様注意した。

本研究に使用せるブドウ球菌は、本菌の確実な集落と思はれるものを採取しグラム染色を行い顕微鏡下で定型的形態と配列を示したものである。

第4章 分離菌の生物学的性状

第1節 集落及び色素産生

集落は正円隆起して湿潤滑沢であり著しく不透明である。培地上で産生する色素で明確に黄色、白色、橙色を区別しうる。第2表は前記8地区に於いての色素産生別成績である。

第2表 集落色素産生別成績

地区 色素産生	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	計 (百分比)
白色ブドウ球菌	20	26	24	22	21	25	26	21	185 (48.1%)
黄色ブドウ球菌	19	16	16	14	19	14	15	18	131 (34.0%)
橙色ブドウ球菌	11	8	8	7	7	9	9	10	69 (17.9%)
計	50	50	48	43	47	48	50	49	389 (100.0%)

備考: 数字は鈎菌した集落数を示す

即ち、Staphylococcus medium No.IIO “榮研”上に生じた集落を無作為に50ヶ鈎菌したがその場合、大白色、橙色、黄色の集落の総数に準じて鈎菌した。以後の実験でブドウ球菌でなかつたものを除外したので、第2表で計が50ヶ以下のものもある。従つて第2表は各地区における3種のブドウ球菌の正確なる割合を示すものではない。

成績は白色ブドウ球菌株が最も多く185株(48.1%)でその約半数を示め、次いで黄色ブドウ球菌株131株(34.0%)、橙色ブドウ球菌株(17.9%)であつた。

第2節 形態

第3表は分離された385株のブドウ球菌の直径の大きさを測定した集計である。

同定の際、顕微鏡下でブドウ房状の配列をなしたもの又は2個づつ向き合つて一体となり所謂 diplo-staphylococcus の形をとつた典型的配列をした株の直径を測定した。測定の結果0.6~1.0μの間にあるものが大多数で346株(89.8%)で、その内0.8μが111株(28.8%)あつた。

次いで0.7μ97株、0.9μ51株、0.6μ48株、1.0μ39株、0.5μ17株、1.2μ11株、1.1μ10株、1.3μ1株の順であつた。

第3節 糖分解能(マンニット分解能)

簡便なマンニット分解能を検査する方法として、典型的集落を拾つた後その個所にブロームチモールブルー(10%水溶液)を1滴滴下し、菌の發育していない部分と比較して色調に変化があればマンニット分解陽性と判定する。あるいは指示薬としてフェノールレッド又はブロームクレゾールパープルを用いても良

い。然し本研究に於いては上記簡便法を使用せず、肉汁培地に各株を純培養したものを使用、Barsiekow培地(ペプトン水100ml、マンニット0.5g、B. T. B.液適量。以上を小試験管に約2ml分注し100°C15分間3回間隔滅菌)に接種、毎日観察し緑色の色調が黄色に変化した日を陽性と判定した。その記載は陽性判定日を+の記号の右肩に小文字で記入し、1週間観察を続けた。例へば7日目に陽性と判定したものは+⁷と記載した。

第4表は病院内と市街地とに区別した385株に対するマンニット分解能検査成績である。

385株中マンニット分解陽性は222株で57.7%を示め、陰性は163株42.3%であつた。地域別に観察すれば病院内の分離株は191株中陽性は124株64.9%を示め、市街地では144株中陽性は98株50.5%で病院内の分離菌の方がマンニット分解能陽性株が優位に認められた。尚この成績は推計学で χ^2 テスト($\chi_{H^2}=8.37$)により病院側と市街地側危険率1%で有意の差を認める。

ブドウ球菌の種類別にマンニット分解能成績を観察するに、第5表に記載された如く、黄色ブドウ球菌がその陽性率高く78株59.5%を認め、次いで橙色ブドウ球菌が40株50.0%を示め白色ブドウ球菌は最下位で104株56.2%であつた。然しこれ等の陽性率は推計学では χ^2 テスト($\chi_{S^2}=0.82$)により危険率5%以上で有意の差を認めない。

尚陽性判定日は第4表によれば+³が67株で最高であり次いで+²52株、+⁵1株、+¹14株、+⁰13株、+⁷4株の順であつた。

第3表 形態(直径の大きさ)

ミクロン 地区	1.3	1.2	1.1	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	計
A	0	2	4	10	30	59	49	32	5	191
B	1	9	6	29	21	52	48	16	12	194
計	1	11	10	39	51	111	97	48	17	385
百分比%	0.3	2.9	2.6	10.1	13.2	28.8	25.2	12.5	4.4	100.0

第4表 マンニット分解能検査成績(地区別)

マンニット 分解能 地区	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	計	-	総計
A	11	32	28	30	15	8	1	124 (64.9%)	67 (35.1%)	191 (100%)
B	3	20	39	21	6	5	3	98 (50.5%)	96 (46.5%)	194 (100%)
計	14	52	67	51	21	13	4	222 (57.7%)	163 (42.3%)	385 (100%)

第5表 マンニツト分解能検査成績(分類別)

マンニツト分解能 分類	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	計	-	総計
白色ブドウ球菌	7	14	34	26	13	7	3	104 (56.2%)	81 (43.8%)	185 (100%)
黄色ブドウ球菌	4	22	23	19	6	3	1	78 (59.5%)	53 (40.5%)	131 (100%)
橙色ブドウ球菌	3	16	10	6	2	3	0	40 (58.0%)	29 (42.0%)	69 (100%)

第6表ゼラチン液化性検査成績(地区別)

地区 ゼラチン 液化性	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	小計	B ¹	B ²	B ³	B ⁴	小計	総計
陽性	20	33	32	16	101 (52.8%)	18	18	21	25	82 (42.3%)	183 (47.5%)
陰性	32	17	16	27	90 (47.2%)	29	30	29	24	112 (57.7%)	202 (52.5%)
総計					191 (100%)					194 (100%)	385 (100%)

第7表ゼラチン液化性検査成績(分類別)

分類 ゼラチン 液化性	白色ブドウ球菌	黄色ブドウ球菌	橙色ブドウ球菌	計
陽性	77 (41.6%)	70 (53.4%)	36 (52.3%)	183 (47.5%)
陰性	108 (58.4%)	61 (46.6%)	33 (47.7%)	204 (52.5%)
計	185 (100%)	131 (100%)	69 (100%)	385 (100%)

第4節ゼラチン液化性

Staphylococcus medium No. 110 を使用した場合、簡便にゼラチン液化性を観察する Stone 反応がある。

これは硫酸アンモンの飽和液 5cc を培地に流して 10分間放置する。若しゼラチン液化性のある菌であれば集落の周囲、あるいは集落の存在した場所の周囲に透明帯を生ずる。

尚この際硫酸アンモンの飽和液の外 20% スルフォサリチル酸を使用しても良好な結果が得られる。然し乍ら本研究に於ては正確を期するために、以下の如くゼラチン培養基を作り、接種后 7日間 27°C のふらん器内に入れ液化性の有無を判定した。

ゼラチン培養基

- 1) ブイヨン 11 を 50°~60°C に温めておく
- 2) ゼラチン 100g (冬) 又は 200~300g (夏) を加え、かきまわしながら溶解
- 3) 反応修正
- 4) 卵白 2 個分をよく混合 Koch の釜で約 30分間加熱した後、濾紙で濾過
- 5) 再び反応修正
- 6) 透明にならなければ再び卵白を加え、加熱濾過を繰り返す

7) 分注。100°C 15分間づつ 3 回間歇滅菌

第6表は地区別によるゼラチン液化性測定成績である。空气中より分離せる 385 株中ゼラチン液化性を認めるもの、即ち陽性株は 183 株 (47.5%) で陰性株は 202 株 (52.5%) であった。地区別に観察すると、病院内ブドウ球菌では 101 株 (52.8%) 陽性で市街地陽性 82 株 (42.3%) より優位でありこれは、 χ^2 テスト ($\chi_s^2=4.98$) により危険率 1% 以上 5% 以内であった。

ブドウ球菌の種類別にゼラチン液化性を検討するに、第7表に示す如く黄色ブドウ球菌はその陽性率高く 70 株 (53.4%)、次いで橙色ブドウ球菌 36 株 (52.3%)、白色ブドウ球菌は最低で 77 株 (41.6%) であった。これは χ^2 テスト ($\chi_s^2=5.9$) により危険率 1% 以上 5% 以内であった。

第5節 血漿凝固作用

Brain-heat infusion broth あるいは肉汁ブイヨンなどに病原性ブドウ球菌を培養した上清を、血漿に等量加えると著明な血漿凝固が起るが、これは菌の産生するコアグラゼ (血漿凝固酵素) の作用によることは古くから知られている。ブドウ球菌コアグラゼによる血漿凝固現象は、生理的な血漿凝固とは異なりクエン酸ソーダ、蓆酸、ヘパリンのような抗血液凝固剤

を用いて凝固を防いだ血漿をコアグララーゼは凝固させることが出来る。この凝固作用では血清中に存在しプロトロンビンと密接な関係のあるコアグララーゼ反応因子 (C. R. F., Coagulase Reacting Factor)^⑧がコアグララーゼに作用して Coagulase thrombin と呼ぶ中間複合体を作り、これがフィブリノーゲンをフィブリンに変化させるものと云われる^⑨。

コアグララーゼ+C. R. F.=中間複合体

中間複合体+フィブリノーゲン=フィブリン

C. R. F. はブドウ球菌コアグララーゼの作用に関する以外、生理的な血液凝固作用には関係がないようであるが、動物種族の違いによつて血液中の C. R. F. 濃度は著しく異なつている。すなわちブドウ球菌に対して感受性の高い人や家兎には高濃度含有されているが、感受性の低いモルモット、マウス、鶏などには極めて僅かか殆んどないようである。血漿凝固作用の時間的強さから見た動物血漿凝固作用の相違を第8表に示した^⑩。

第8表 コアグララーゼによる血漿凝固の動物種族の相違

血 漿	血 漿 凝 固 時 間
人	50 秒
兎	50 秒
馬	2 分
緬 羊	10 分 以上
モルモット	10 分 以上
牛	10 分 以上
犬	10 分 以上
マ ウ ス	10 分 以上

備考: MODERN MEDIA, 4: 18, 1958より引用

本研究に於ては、Coagulase test には家兎血漿を使用した。即ちクエン酸ソーダで凝固を防いだ家兎血漿をピオンで5倍に稀釈したもの0.5mlに、云い換えれば家兎血液9に対し5%クエン酸ナトリウム液1の割合に加え遠心分離してプラズマを分け、生理的食塩液で10倍に稀釈し、小試験管に0.5ccずつ分注したものに、分離せるブドウ球菌をピオンに接種後16~24時間培養したもの0.5mlを加え、振盪混和し37°Cの水浴におき1時間毎に3時間まで観察する。病原性のある菌は大多数が3時間以内に血漿を凝固させた。

もし凝固がおきなければさらに18時間おいて結果をみる。対象としてあらかじめ判つている陽性菌を加えた試験管と、菌を加えない試験管とをおく。少しでも

凝固が起れば陽性と判定した。凝固所要時間を30分、1時間、2時間、3時間と時間を逐つて凝固の状態を検査し、30分で血漿凝固作用陽性は(卍)、1時間で陽性のものは(卍)、2時間で陽性のものは(卍)、3時間以上18時間迄に血漿凝固作用陽性のものを(+), 陰性のもの即ち凝固しなかつたものを(-)と記載した。

空气中より分離せるブドウ球菌385株中血漿凝固作用陽性株は59株(15.3%)を占め、第9表に示す如く病院側が陽性株36株(61%)市街地は32株(39%)で病院側の血漿凝固作用陽性率が高い値を示めた。次いで血漿凝固作用陽性株につきその血漿凝固所要時間を観察するに、30分後に陽性を観た株はなく、1時間後4株(6.8%)で病院側の陽性株が3株を占めた。次いで2時間後は9株(15.3%)を示し、3時間以後18時間迄の血漿凝固作用陽性は46株(77.9%)を認めた。

第9表 血漿凝固時間よりみた血漿凝固作用陽性株

地区	A	B	計
卍	3	1	4 (6.8%)
卍	4	5	9 (15.3%)
+	29	17	46 (77.9%)
計	36 (61%)	23 (39%)	59 (100%)

第10表はブドウ球菌の種類別より見た血漿凝固作用検査成績である。黄色ブドウ球菌が19.1%(25株)で最もその陽性率高く、白色ブドウ球菌が15.1%(28株)、橙色ブドウ球菌は8.6%(6株)の順であつた。

血漿凝固作用とマンニット分解能及びゼラチン液化性との関係をみるに、第11表に示す如く、血漿凝固作用陽性株はマンニット分解能、ゼラチン液化性の陽性率(マンニット71.2%,ゼラチン62.7%)共に高値を示し、血漿凝固作用陰性株と比し(マンニット55.2%,ゼラチン44.8%)差を認めた。尚 χ^2 テストにより(マンニット $\chi^2_{5.1}$,ゼラチン $\chi^2_{6.5}$)共に危険率5%以内である。即ち血漿凝固作用陽性株はマンニット分解能、ゼラチン液化性の陽性率も高い。

第6節 溶血反応

下記の方法で血液寒天を作り分離せる全株に溶血反応を実施した。

血液寒天

1) 普通寒天(3%)を100°Cに加熱してとかす

第10表 血漿凝固作用陽性株の内分け

地区 分類	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	B ¹	B ²	B ³	B ⁴	計	百分比%
白色ブドウ球菌	4/20	7/26	3/24	3/22	3/21	3/25	2/26	3/21	28/185	15.1
黄色ブドウ球菌	5/19	4/16	2/16	3/14	3/19	3/14	3/15	2/18	25/131	19.1
橙色ブドウ球菌	1/11	1/8	1/8	2/7	0/7	0/9	1/9	0/10	6/69	8.6
計	10/50	12/50	8/48	6/43	6/47	6/47	6/48	5/50	59/385	15.3

備考：分子は陽性株，分母は総数を示す。

第11表 血漿凝固作用とマンニット分解能，ゼラチン液化性との関係成績

マンニット及びゼラチン	血漿凝固作用	血漿凝固作用陽性 (59株)	血漿凝固作用陰性 (326株)
マンニット分解能	+	42 (71.2%)	180 (55.2%)
	-	17 (28.8%)	146 (44.8%)
ゼラチン液化性	+	37 (28.8%)	180 (44.8%)
	-	22 (37.3%)	180 (55.2%)

2) 温湯の中で約45~50°Cに保つ

3) 無菌家兔血液から脱纖維素血液を作りその1/10量を無菌的に加え，よく混和する

4) 平板にかためる

即ちシャーレ1枚に6株宛ピジョンで純培養せる分離株を白金耳で採取，血液寒天に塗抹後直ちに37°Cふらん器内に入れ24時間後判定した。判定方法はシャーレの裏側より観察して検査株の集落及びその付近が透明にみえるものを陽性とした。(β溶血)

第12表は各地区より見出された溶血反応陽性株をブドウ球菌の種類別に分類し集計した成績表である。385例中50例(13.0%)が溶血反応陽性株であり，そのうち病院側及び市街地の地区別に見た場合共に25株陽性株をみとめ，同等の成績であつた。尚黄色ブドウ球菌が陽性率高く19.8%で，次いで白色ブドウ球菌9.7%，橙色ブドウ球菌8.6%の順位であつた。

第13表は溶血反応とマンニット分解能，ゼラチン液

化性，血漿凝固作用の関係を観察した成績である。溶血反応陽性株は血漿凝固作用陽性率54.0%あり，陰性株の血漿凝固作用陽性率9.6%に比し著しく高率である。(x²テストに依り危険率1%で有意の差を認める。)

マンニット分解能とゼラチン液化性は共に溶血反応陽性株における陽性率高く，マンニットでは64.0%，ゼラチン液化性では58.0%であり，溶血反応陰性株の比率(マンニット56.7%，ゼラチン45.3%)より高い。しかしx²テストに依り，マンニットx_S²=0.8，ゼラチンx_S²=2.3で共に危険率5%以上で有意の差を認めない。

第13表 溶血反応とマンニット分解能，ゼラチン液化性，血漿凝固作用との関係成績

		溶血反応陽性 (50株)	溶血反応陰性 (335株)
マンニット分解能	+	32 (64.0%)	190 (56.7%)
	-	18 (36.0%)	145 (43.3%)
ゼラチン液化性	+	29 (58.0%)	154 (45.3%)
	-	21 (42.0%)	181 (54.1%)
血漿凝固作用	+	27 (54.0%)	32 (9.6%)
	-	23 (46.0%)	303 (90.4%)

第12表 溶血反応陽性株内分け

地区 分類	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	B ¹	B ²	B ³	B ⁴	計	百分比%
白色ブドウ球菌	3/20	2/26	4/24	1/22	1/21	3/25	3/26	1/21	18/185	9.7
黄色ブドウ球菌	3/19	1/16	3/16	4/14	3/19	4/14	3/15	5/18	26/131	19.8
橙色ブドウ球菌	1/11	1/8	2/8	0/7	1/7	0/9	0/9	1/10	6/69	8.6
計	7/50	4/50	9/48	5/43	5/47	7/47	6/48	7/50	50/385	13.0

備考：分子は陽性株，分母は総数を示す。

第7章 病原性についての考察

現在学会のうすせいはブドウ球菌を病原性と非病原性の2つに分け、この中前者を医学的に重要視している。ブドウ球菌の病原性が不変のものであるか、又変異し易いものであるかについて確実なる研究もない様である。

元来ヒト以外の実験動物(家兎, モルモット, ラツテ, マウス)はブドウ球菌に自然抵抗性が強く、ヒトに病原性のあるブドウ球菌でもなかなか実験動物にうまく感染させることができない。そこで Koch, Chapman, Stone 等は長い研究の結果、次の性状をもつブドウ球菌は病原性と考えてよいという結論に達した。

- 1) 濃厚に NaCl を含む培地 (7.5%) に増殖できる
- 2) マニットを分解して酸をつくる
- 3) 血漿を凝固させる酵素をもつ
- 4) 溶血性がある
- 5) ゼラチンを液化する能力がある

この5つの性状の全部または大部分をもつものを病原性のあるブドウ球菌と考えるのである。上記の5性状のなかで一番重要視されることは血漿凝固作用の問題であろう。ブドウ球菌感染における血漿凝固作用の役割についての考察をしたい。ブドウ球菌の免疫は腸内細菌などに比べて不明な点が多い。特にブドウ球菌は α , β , γ , δ の4種の溶血毒 (Leucocidin), コアグラゼ, ヒアルロニダーゼ, 繊維素溶解酵素 (Fibrinolysin), エンテロトコシン等各種の毒素, 酵素を産生し、これらがそれぞれ病原性に密接に関係していると考えられている。これ等の中で免疫に主役を演ずる成分は何か。以前は主として壊死, 致死作用を示す溶血毒が菌力 (ビルレンツ) を決定づける重要な因子と考えられていた。実際に抗溶血毒が治療効果を示す場合もあるので症状発現には溶血毒がかなり重要な意義を有することが想像される。しかしブドウ球菌が血清や白血球などの宿主の抵抗性因子に打勝って感染を成立

せしめるのに溶血毒が常に主働的意義を有するものであるとは考えられない。たとえば溶血毒 (+), 血漿凝固作用 (+) のブドウ球菌を家兎皮内に接種した場合には、化膿巣を作ることが出来るが、溶血毒 (+) であつても血漿凝固作用 (-) の菌では化膿は起らない。また溶血毒 (III) であつても、もし血漿凝固作用のない菌では極めて大量を接種しなければ化膿巣を作らないことが知られている。こうしてみると、ブドウ球菌が感染する第一の段階においては、血漿凝固作用は化膿の原因となつたブドウ球菌では常に陽性であつて古くから病原性株の指標としてあげられて来ており、1957年の Bergy の分類でも、血漿凝固作用 (+), マニット分解性 (+) が病原性の分類標準となつている。(第I編, 第1章参照)

著者が空中より分離した385株のブドウ球菌のうち、以上の5性状がいずれも陽性であるものは病院側9株, 市街地5株計14株 (3.6%) であつた。即ち、これ等の5性状を完備している株は病原性ありと認定されよう。他の1, 2の性状が陰性のものは弱い病原性ありとするべきであらうか。以上の5性状の中、前述せる如く血漿凝固作用陽性は、殊に病原性に深い関係をもつ事が推察是認される。よつて著者は血漿凝固作用 (+), マニット分解能 (+) の株を病原性株としその関係を考察した。

第14表は空気中より分離せる385株のブドウ球菌の病原性株についての内分けである。

病院側は病原性株28株14.7%, 市街地病原性株14株計42株 (11.4%) を見出した。即ち病院側の病原性株出現率は市街地よりも優位である。(x² テストによれば $x_s^2=5.2$ で危険率1%以上5%以内である)。

種類別に観察すれば、黄色ブドウ球菌が19株 (14.5%) の病原性株を見、次いで橙色ブドウ球菌7株 (10.6%), 白色ブドウ球菌16株 (8.6%) の順であつた。

第8章 考 察

我が国に於いては、空気中より分離せるブドウ球菌

第14表 病原性株の内分け

地 区 \ 分 類	白色 ブドウ球菌	黄色 ブドウ球菌	橙 色 ブドウ球菌	小 計	各地区ブドウ球菌と 病原性株百分比(%)
A (病 院)	11	11	6	28	191 (14.7%)
B (市 街)	5	8	1	14	194 (7.2%)
小 計	16	19	69	42	385 (11.4%)
各種ブドウ球菌総数と 病原性株百分比 (%)	185 (8.6%)	131 (14.5%)	69 (10.6%)	385 (11.4%)	

の生物学的性状を研究した文献は、天津^⑩が37株空气中より分離しその色素産生能、ゼラチン液化性、血漿凝固作用、溶血反応の結果を報告したにすぎない。天津のは実験株数が僅少であるが此の報告によると、大阪市中の繁華街に所在する歯科診療室内の空气中から *Staphylococcus medium* No. IIO (Difco) を使用し分離した37株中 *Micrococcus pyogenes* var. *albus* は83.7%、*Micrococcus pyogenes citreus* 16.3%で、*Micrococcus pyogenes* var. *aureus* は検出出来なかつた。ゼラチン液化性については液化性陽性株は16株、陰性株は9株、不明は12株あり、血漿凝固作用はすべて37株共陰性であつた。又溶血反応は陽性株9株、陰性株25株、不明株3株であつたと報告している。尚各方面より分離したブドウ球菌についての生物学的性状の報告を若干紹介し考察するに、中村^⑪は婦人腔分泌液から検査、30例のうち20例にブドウ球菌の35株を分離し、其の菌型は色素産生では白色ブドウ球菌が最も多く27例を占め、次いで黄色ブドウ球菌5株、橙色ブドウ球菌3株であつた。溶血反応は20株に証明されたが色素産生では一致しなかつた。河辺^⑫は動物由来ブドウ球菌に関する研究で健康動物の皮膚や粘膜に常在する非病原性ブドウ球菌には多数のマニット分解性、血漿凝固作用陽性、8.5%食塩抵抗性の菌株を認めた。ゼラチン液化性、牛乳凝固能並に溶血性の3性状が血清学上の型と関連を有すると報告している。楢垣^⑬は伝染性膿痂疹患者より分離したブドウ球菌について、牛乳凝固作用は20株中16株に認め、ゼラチン液化性は20株中14株に又溶血反応、血漿凝固作用はすべて陽性であつた。松本^⑭はブドウ球菌の毒性に関する研究でブドウ球菌126株について生物学的性状就中其の血漿凝固作用について成果を発表しているが、それに依るとブドウ球菌の血漿凝固作用は化膿病巣よりの黄色株が最強で60株中58株が陽性株でその陽性株中の大多数は3時間以内で完全凝固が認められた。又溶血性は54株陽性であり、ゼラチン液化性も58株陽性反応を呈し、血漿凝固作用、溶血反応、ゼラチン液化性の三者もよく一致した。橙色株は黄色株より血漿凝固作用弱く、17株中6株陽性、溶血性は4株陽性、ゼラチン液化性は8株陽性株が認められた。尚健康口腔由来株は一般に血漿凝固作用弱く陽性株は46株中4株あり、その4株はいずれも黄色株であつた。溶血性、ゼラチン液化性陽性株は46株中各5株認められるにすぎなかつたと云っている。以上の研究成果は著者の成績とはほぼ近似している。

即ち各方面より分離したブドウ球菌についての生物学的性状を観察せる若干の研究成果を挙げたが、その

他ブドウ球菌についてこの方面に関する研究報告はかなり多く見受けられる^⑮~^⑳。

尚最後に生物学的性状による病原性について考察したい。即ち、本研究は病原性と生物学的性状の関聯に触れる実験を行つていない。しかし、空中より分離した385株のブドウ球菌の中42株(11.4%)が病原性を疑われ、而かも病院内において市街地よりも高率に病原性を疑うブドウ球菌が分離される事を証明した。病院内に病原性あるブドウ球菌が他の地区より濃厚にあるという事実は、近時ブドウ球菌の病院内感染が問題にされるようになって以来想像されていた事であるが、今迄の研究報告は主に創傷部位、毛布、医師看護婦の鼻腔、手指から分離したブドウ球菌に関するものであつた。本研究は空中雑菌としてのブドウ球菌に於ても市街地に比して病院は病原性ブドウ球菌が濃厚である事を証明した。かかる病原性ある空中のブドウ球菌が何に由来するかは又別の問題であるが、本研究の成績よりして、単に病院職員、看護人の手指、寝具等の清浄のみでなく、例えば殺菌燈による空中雑菌の滅菌、病室の換気、手術室における空中落下菌の考慮等いくたの問題と対策を示唆するものである。

第9章 結 論

著者は病院内、病院外の8地区の空气中より、*Staphylococcus medium* No. IIO “榮研”を使用し分離した385株のブドウ球菌についてその生物学的性状及び病原性を検査せる成績は以下の如き結果を得た。

- 1) 分類では白色ブドウ球菌が約半数(48.1%)をしめ、次いで黄色ブドウ球菌、橙色ブドウ球菌の順であつた。
- 2) 大多数のブドウ球菌(89.8%)は直径0.6~1.0μの球状菌であつた。その内分けは0.8μが最も多く、次いで0.7, 0.9, 0.6, 1.0μの順であつた。
- 3) マニット分解能は222株(57.7%)陽性をみた。
- 4) マニット分解能陽性率は病院内で分離されたブドウ球菌の方が64.9%で、市街地の50.5%よりも高率であつた。
- 5) マニット分解能陽性判定日は+⁸が多く、次いで+², +⁴, +⁵, +¹, +⁶, +⁷の順であつた。
- 6) マニット分解陽性率は黄色ブドウ球菌、次いで橙色ブドウ球菌、白色ブドウ球菌の順であつた。
- 7) ゼラチン液化性は183株(47.5%)陽性であつた。
- 8) ゼラチン液化性陽性率は病院内で分離されたブドウ球菌の方が52.8%で、市街地の42.3%よりも高率であつた。

- 9) ゼラチン液化性陽性率は黄色ブドウ球菌高く、次いで橙色ブドウ球菌、白色ブドウ球菌の順であつた。
- 10) 血漿凝固作用は59株 (15.3%) 陽性であつた。
- 11) 血漿凝固作用陽性率は黄色ブドウ球菌高く、次いで白色ブドウ球菌、橙色ブドウ球菌の順であつた。
- 12) 血漿凝固作用陽性率は病院内で分離されたブドウ球菌群に於て、市街地より分離された群よりはるかに高率であつた。
- 13) 血漿凝固に要する時間は、3時間以上18時間迄のものが大部分で次いで2時間後、1時間後の順であつた。
- 14) 血漿凝固作用、マンニット分解能及びゼラチン液化性との関係を観察するに、血漿凝固作用陽性群は陰性群よりマンニット分解能及びゼラチン液化性の陽性率高い。
- 15) 溶血反応は50株 (13.0%) 陽性であつた。
- 16) 溶血反応陽性率は黄色ブドウ球菌高く、次いで白色ブドウ球菌、橙色ブドウ球菌の順であつた。
- 18) 溶血反応陽性株は病院内で分離されたブドウ球菌も市街地も共に25株見出され、その陽性率は殆んど同じで地区的優位の差を見出せなかつた。
- 18) 溶血反応陽性株群50株はマンニット分解能64%陽性、ゼラチン液化性が58%陽性で、溶血反応陰性株群335株はマンニット分解能56%陽性、ゼラチン液化性45%陽性であつた。(x² テストにより危険率5%以上で有意の差を認めず)
- 19) 病原性株は42株 (11.4%) であつた。
- 20) 病原性株は病院では28株 (14.7%) で市街地は14株 (7.2%) で病院の病原性株の方が多かつた。

参考文献

- ①Bergy: Bergy's Manual of Determinative Bacteriology, 1948, 1957. ②桑原章吾: MODERN MEDIA, 4: 15, 1958. ③Topley: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. Arnold, 1944. ④Prévo: Manuel de Classification en de Déterminative des Bactéries anaérobies, Masson, 1948. ⑤Chapman, G. H.: J. Bact., 50: 201-203, 1954; Ibid., 51: 409-410, 1946. ⑥Mc Divitt, M. E. and Hussenmann, D. L.: Am. J. Publ. Health., 44: 1455-1459, 1954. ⑦鈴木昭: MODERN MEDIA ⑧Tager, M., J. Exp. Med., 104: 675, 1956. ⑨Miale, J. B., Blood, 4: 1039, 1949. ⑩善養寺浩: MODERN MEDIA, 4: 18, 1958. ⑪天津正彦: 関西医学, 4: 324, 1955. ⑫中村儀之丞: 弘前医学, 3: 24, 1952. ⑬河辺昌保: 各個研究及び助成研究, 研究報告集録農学編, 1953. ⑭榎垣登: 岡山医学会雑誌, 66: 7, 1953. ⑮松本一雄: 熊本医学会雑誌, 28 (特輯号), 1953. ⑯中西良, 所司慎吾, 諏訪八稜, 中山重男: 東京都衛生局業務報告書, 17: 60, 1956. ⑰中西良, 諏訪八稜, 中山重男, 所司慎吾, 莊昭徳: 最新医学, 11: 1405, 1956. ⑱辻重行: 長崎医学会雑誌, 28: 654, 1953. ⑲松井清治, 富川栄一, 小林丈次, 須藤茂雄: 衛生検査, 4: 4, 1955. ⑳石渡忠太郎, 黒沢誠一郎, 堀口義仁: 皮膚科性病科雑誌, 65: 4, 1955. ㉑小笠原四郎, 沢野豊, 桜田教夫, 波戸東洋男: 北海道医学雑誌, 30: 78, 1955. ㉒深沢義村, 岩原繁雄, 宮崎福男: 東京医事新誌, 71: 1280, 1954. ㉓西村保: 大阪医科大学雑誌, 14: 972, 1953. ㉔源河朝明: 大阪市立医科大学雑誌, 3: 383, 1953. ㉕源河朝明: 大阪府立医科大学雑誌, 3: 341, 1953. ㉖小林美智子, 徳永純一: 九州科学会歯雑誌, 6: 591, 1953.