

〔特別掲載〕

東女医大誌第30巻第7号
頁1295—1297昭和35年7月土壌より分離せる抗酸菌と
Nocardia について

東京女子医科大学細菌学教室 (主任 平野憲正教授)

松田小風子・奈良知賀子
マツダソヨコナラチカコ

(受付 昭和 35 年 6 月 3 日)

I 緒 言

自然界に広く分布する非病原性抗酸菌の検出について古くから内外各学者の研究が報告されている。すなわち Ferran,¹⁾ Strassburger,⁸⁾ Mironescu,¹⁰⁾ Möeller⁶⁾ らは人糞、牛馬糞などより、Petri,²⁾ Rabinowitsch,⁵⁾ Tobler,⁹⁾ Korn,⁷⁾ Obermüller,³⁾ 4) Herr, Beninde,¹¹⁾ Weber¹³⁾ は牛乳、バターなどより抗酸菌を分離し、Kersten,¹⁴⁾ Herr,¹²⁾ Büttner,¹⁶⁾ らは土壌より抗酸菌を検出した。我が国でも橋本ら¹⁸⁾ および青木,¹⁹⁾ 太田原ら,²⁰⁾ 植田ら²¹⁾ 14), 長崎, 市原²²⁾ 21) 末吉²⁵⁾, 占部²⁶⁾, 広瀬²³⁾, 草場²⁸⁾, 佐々木³¹⁾, 鈴木ら³²⁾, 岸本³³⁾ は土壌、河川、上下水道水、動物糞便、穀類、バター、牛乳、昆虫、より各種抗酸菌を分離した。土壌中には *Nocardia* が、かなり広く分布している。したがって土壌から抗酸菌を分離する場合には *Nocardia* が同時に分離されることは当然である。著者らは分離せる菌を Ziehl-Neelsen で染色して抗酸性のものを選り、それらを形態上から明らかに *Nocardia* と考えられるものと然らざるものとに分け、それらの生物学的性状を検討した。

II 実験方法

分離培養法としては Söhngen¹⁵⁾ 原法により、まず増菌培養¹²⁾ 16) 17, 24) を行った。

Söhngen 培地

上 水	100cc
第二磷酸加里	0.05g
塩化アンモン	0.05g
炭酸カルシウム	痕 跡

500cc容量のコルベンに上記の培地100ccを入れ次に溶融点45°~60°のバラフィン滅菌し、ビレットでこれを液中に滴下し薄いバラフィン片をつくり、これに一定量の土を細かく砕いて混入し、37°C孵卵器に7~14日間培

養し、バラフィン片の周縁に附着した菌を2%苛性ソーダで洗滌し、約10分間遠心器にかけ、その沈渣を1%および3%の小川培地に培養した。2~4日後発育した一部を再び前回同様苛性ソーダで洗い、小川培地に培養して菌を分離した。分離に用いた土は、東京都、神奈川県、京都府の丘陵、街路、校庭等から集めたもので表層の土壌をさき、下部の一部を滅菌した杉箆で滅菌シャーレにとつた。著者らが分離し得たのは抗酸菌と *Nocardia* を合せ12株であつた。検出率は両者と合せて75%となる。12株について形態、生物学的性状を検し、抗酸菌と *Nocardia* とに大体区別した。

III 実験成績

1. 形 態

小川培地に21日培養したものを Ziehl-Neelsen 法によつて染色した。それによると多くは小さな桿菌であつたが、No. 9 は長桿菌で菌体内に顆粒が認められた。No. 5, 8, 及び 12 には菌糸があり *Nocardia* と考えられる。Cord 形成はいずれの株にも証明されなかつた。なお、これらの菌株について Gram 染色を行つたがいずれも陽性であつた。

2. 初発集落発現までの日数

小川培地上に多くは培養後2日目より、わずかに肉眼的に発育が認められ、No. 3, 5, 11, 12 の発育は少しくおくれ、4日後に観察された。

3. 集落の性状

集落の形はS型のもの9株で3株 (No. 5, 11, 12) のそれはR型であつた。S型で表面やや粗さうのものが3株あつたが、SR型と考えるべきものであろう。色は小川培地上では、白色のもの4株 (No. 1, 2, 4, 6,) 橙~黄色のもの6株 (No. 3, 5, 7, 8, 10, 11,) 薄茶色1株 (No. 9) 淡紅色1株 (No. 12) であつた。

SOYOKO MASUDA, Chikako NARA (Department of Bacteriology, Tokyo Women's Medical College)
Mycobacteria and *Nocardia* isolated from soil.

	小川培地				Sabouraud		普通寒天		Crystal Violet		Czapeck		Gelatin		Thioglycolate		牛乳培地凝固	中性紅反応	食塩水浮游性	Cord形成	カタラーゼ反応										
	乾湿	色調	緻密	粘調	発育	日数	発育	日数	色調	光沢	発育	日数	発育	日数	液色	発育						表層	中間層	沈澱	日数						
1	乾	乳白	+	±	良	+	良	2	+	良	2	乳白	+	-	良	2	+	良	2	-	白	稍良	膜状	鱗片状	-	2	-	-	不均	-	卅
2	湿	灰白	-	+	良	-	良	3	-	良	3	白	-	+	稍良	2	-	良	2	-	白	良	-	雲状	-	4	-	-	均	-	卅
3	湿	橙黄	-	+	不良	-	不良	4	発育せず	橙黄	-	+	不良	5	発育せず	-	なし	なし	発育せず	-	-	-	-	-	-	-	-	均	-	+	
4	乾	乳白	+	+	良	+	良	3	-	良	3	白	-	-	良	2	+	良	2	-	白	稍良	膜状	膜状	-	4	-	-	均	-	卅
○5	乾	橙白	-	-	不良	隆起	不良	7	発育せず	淡橙	隆起	-	不良	5	発育せず	-	淡紅	稍良	発育せず	-	-	-	-	-	-	-	-	不均	-	+	
6	乾	乳白	+	-	良	+	良	3	-	良	3	白	+	-	良	2	-	稍良	2	-	白	稍良	膜状	鱗片状	-	4	-	-	不均	-	卅
7	湿	黄白	+	+	良	+	稍不良	4	-	良	4	白	+	-	良	2	-	稍良	2	-	白	良	膜状	膜状	-	4	-	-	不均	-	卅
○8	湿	橙黄	-	+	良	-	良	3	-	不良	3	橙黄	+	-	良	2	-	良	2	-	白	稍良	微濁	-	-	9	-	-	均	-	卅
9	湿	淡茶	-	+	良	-	良	4	-	稍不良	4	淡茶	-	+	稍良	2	-	稍良	2	-	白	稍良	-	雲状	-	3	-	-	均	-	卅
10	湿	橙	+	+	良	-	良	3	-	稍不良	3	橙	-	+	不良	3	-	稍良	2	-	淡茶	稍良	-	薄膜	-	3	-	-	不均	-	卅
11	乾	黄	-	-	不良	-	不良	9	発育せず	黄	隆起	-	不良	5	発育せず	-	白	稍良	発育せず	-	-	-	-	-	-	-	-	不均	-	+	
○12	乾	淡紅	-	-	不良	隆起	不良	9	隆起	不良	7	淡紅	隆起	-	不良	5	-	稍不良	2	-	紅白	良	小顆粒	-	-	10	-	-	下均	-	+

○Nocardia とと思われるもの

4. 普通寒天斜面培地

表に示すとく大部分は2~7日で集落の発生を見たが No.3, 5, 11, は発育せず, No.9, 10, 12³⁴⁾の発育は不良であった。

5. Sabouraud 培地

全菌株が発育したけれども No.3, 5, 7, 11, 12, ³²⁾の発育は不良であった。

6. Thioglycolate 培地

表のごとく培養後2~3~9日で表層, 中間層に雲状, 鱗片状, 膜状様に発育し, 試験管底に発育するものは見られなかった。No.3, 5, 12, は中央部に粗い小顆粒状として浮び No.11, は培地表面に僅かに発育しているようであった。

7. Crystal Violet 寒天斜面培地

本培地²⁵⁾上における菌の色調, 発育は小川培地とはほぼ同様であるが, 小川培地より悪く, 緻密をつくり, Crystal violet より濃染され暗紫色の集落をつくるものはなかった。

8. Dubos 培地

総て試験管底に発育し, 菌膜を形成したものはなく, 沈澱は膜状又は顆粒状であった。半数は発育により液を混濁せしめ他は透明であった。発育は培養3日後に認められたが, No.5, 11, 12の発育は不良であった。

9. Youmans 培地

発育に3日以上を要し No.5, 12, は表面に厚い菌膜を形成し沈澱はなく試験管壁に沿って発育し No.2, 3, 4, 7, は薄い菌膜を形成した。他は試験管底に膜状または雲状顆粒状の沈澱を生じた。ただし No.3, の発育は他に比して不良であった。

10. Gelatin 培地

すべて Gelatin を液化せず, No.3は Gelatin 内で肉眼的な発育はみられない。すべて培養後2ヵ月後に再検したが液化を認めなかった。

11. Czapeck 寒天培地

すべて2日で発育したが No.3, 5, 11, は発育しなかった。

12. 牛乳培地

すべて2牛乳を凝固しなかつた。

13. 食塩水浮遊性

小川培地に発育した集落を生理食塩水に1白金耳を浮せ、其の均一性を検討したものであり表のごとく均一にならないものが多かつた。

14. 中性紅反応³⁰⁾

小川培地の菌苔について本反応を行つた。その結果はすべて陰性であつた。

15. カタラーゼ反応²⁹⁾

10% Tween 80 と過酸化水素を使用、小川培地に流したもので、着色系のものより白色系は発泡度および持続時間が長く、15秒から180秒の間であつた。

IV 考 案

土壌中には抗酸菌のみならず、これに類似する *Nocardia* が相当広く分布している。従つて土壌から抗酸菌を分離する場合には *Nocardia* の存在を常に念頭におかなければならない、私共は土壌から抗酸性の菌株を分離したが、その内の3株には Ziehl-Neelsen 染色により明らかに菌糸が証明されたので、一応これらを *Nocardia* と考え、他の9株との異同を検討したが普通行われている抗酸菌の性状を検査する方法では両者を区別することは不可能であつた。

私共の分離した *Nocardia* は寒天に発育不良か或は発育しなかつたが、*Nocardia* には寒天に良く発育するものが多数あり、抗酸菌においても同様である。Bergeyによると、*Nocardia* 中寒天に発育不良か生えないものは僅かに4種類である。私共の分離したものはこの4種類の何れかに属すると思うけれどもそれは他日の問題として、上述のように土壌から抗酸菌を分離する場合には、*Nocardia* が混在することを考えなければならない。

V 結 論

- 1) 土壌中より抗酸菌を75%に検出した。
- 2) 分離した抗酸菌中3株は形態上 *Nocardia* と考えられる。
- 3) 土壌から抗酸菌を分離する場合には常に *Nocardia* の存在を考えなければならない。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜つた平野憲正教授に衷心より感謝し、御助言御援助をいただいた中西清子助教授ならびに長田富香講師および教室諸姉に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Ferran, J. : Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 22 483 (1897)
- 2) Petri : Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundh-

eitsamt 14 1 (1898)

- 3) Obermüller, K. : Hyg. Rundschau 9 (1899)
- 4) Obermüller, K. : Hyg. Rundschau 7 712 (1897)
- 5) Rabinowitsch, L. : Zschr. Hyg. 25 90 (1897)
- 6) Möeller, A. : Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 25 369 (1899)
- 7) Korn, O. : Arch. Hyg. 36 57 (1899)
- 8) Strassburger, J. : Münch. med. Wschr. 16 533 (1900)
- 9) Tobler, M. : Zschr. Hyg. 36 120 (1901)
- 10) Mironescu, T. : Zschr. Hyg. 37 497 (1901)
- 11) Herr, F. u Beninde, M. : Zschr. Hyg. 38 152 (1908)
- 12) Herr, F. : Zschr. Hyg. 38 182 (1901)
- 13) Weber, M. : Arbeiten aus dem Kaiserl Gesundheitsamt 19 251 (1903)
- 14) Kersten, H.E. : Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 51 494 (1909)
- 15) Sörngen, N.L. : Zbl. Bakt. II. Abt. 37 595 (1913)
- 16) Büttner, H. : Arch. Hyg. 97 12 (1926)
- 17) Frey, A. a. Hagen, A. : J. Infect. Dis. 49 497 (1931)
- 18) 橋本 喬, 他 : 皮泌誌 32 887 (1932)
- 19) 青木義勇 : レブラ 3 267 (1932)
- 20) 太田原豊一, 他 : 東医事新誌 2815 363 (1933)
- 21) 植田三郎 : 東医事新誌 2912 83 (1934)
- 22) 長崎たき, 他 : レブラ 5 531 (1934)
- 23) 広瀬常雄 : レブラ 5 15 (1934)
- 24) 植田三郎, 他 : 日微生会誌 29 789 (1935)
- 25) 末吉彌吉 : 衛伝誌 31 181 (1935)
- 26) 占部 薫 : 満州医誌 22 1125 (1935)
- 27) 市原鶴雄, 他 : 熊本医会誌 11 232 (1935)
- 29) 草場幹人 : レブラ 9 625 (1938)
- 29) Middlebrook, G. : Am. Rev. Tuberc. 69 471 (1954)
- 30) Dubos, R.J. & Middlebrook, G. : Am. Rev. Tub. 58 698 (1948)
- 31) 佐々木論 : 日細菌誌 13 1091 (1958)
- 32) 鈴木明, 他 : 医療 13 282 (1959)
- 33) 岸本敬之 : 日細菌誌 15 225 (1960)
- 34) Mc Millen, S. & Kushner, D.S. : Am. Rev. Tuberc. 76 103 (1957)
- 35) Bergey, D.H. : Bergey's manual of determinative bacteriology 7th Ed, Baltimore.