

Salmonella enteritidis のストレプトマイシン耐性に関する研究

京都大学医学部小児科教室（指導教授 服部峻治郎）
助教授（京都大学結核研究所第1部）佐川 一郎

田 中 寛 治

ストレプトマイシン（以下スト・マイと略す）が Waksman により発見されて以来、各種疾患に應用されているが、結核症以外に経口的に應用した報告が Reimann 等によつて始めて行われた。小児科領域では Pulaski Seligmann 等によつて小兒下痢症或はサルモネラ症に用いられた。その後 James 等が多数の乳幼兒下痢症にスト・マイの経口療法を行い詳細に報告した。

我が國では杉山、高橋等により消化不良症に用いて極めて満足すべき結果が得られた。而して、スト・マイの経口療法の際、糞便内に高度のスト・マイ大腸菌耐性株が証明されこれに関する研究に就て余及杉山等が既に報告した。

余は更にスト・マイ耐性に就いて、遺傳学的並びに細菌学的考察を試みたので報告し諸賢の御批判を得たい。

第1章 耐性の獲得について

試験管内で耐性獲得の経過を観察した。

實驗材料及實驗方法：

實驗に供した菌は Salmonella enteritidis 1891（阪大微生物病研究所株）である。この菌は家兎免疫血清による凝集反應、Russel 氏複糖寒天培地による葡萄糖・乳糖に対する態度、グラム染色等により原株との同定が大腸菌にくらべ、遙に容易である。使用したスト・マイは米國メルク社製ストレプトマイシン塩化カルシウム複塩を用ひ、市販 1gm 入單位のものを滅菌蒸溜水 10cc に溶解、氷室に保存し、使用時適宜稀釈して實驗に供した。培地は PH 7.4 の普通寒天培地を用いた。

原感性株を普通寒天平板培地に分離し、その 10 菌集落について、夫々独立に耐性獲得経過を観察した。即スト・マイを含んだ普通寒天培地に隔日に継代し、發育可能なスト・マイの最高濃度が継代と共に如何に変化するかを検索した。

用いたスト・マイの濃度は 1000 γ 、333.3 γ 、111.1 γ 、37 γ 、12 γ 、4 γ 、1.3 γ 、0.45 γ （何れも培地 1cc 中のスト・マイの濃度を示し、1000 γ より $\frac{1}{2}$ づゝ低い濃度となつてゐる）である。又次代に接種する場合、接種菌量を一定にするため、一定の程度まで確実に發育した培地より、略 1cc 1mg になる様に生理的食塩水菌浮游液を作つて、その 10 μ se 宛を用いた。

実験結果：

第1表 耐性獲得経過（継代と共に發育可能なスト・マイ最高濃度を示す）

集落番号	継代数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1		1.3	4	4	12	37	37	333	1000			
2		1.3	4	12	37	37	333	333	1000			
3		1.3	4	12	12	111	333	333	1000			
4		1.3	1.3	4	12	12	37	37	111	333	1000	
5		1.3	1.3	4	1000							
6		1.3	4	12	37	111	111	111	111	333	333	1000
7		0.45	4	12	37	37	111	111	111	1000		
8		0.45	1.3	4	12	111	111	1000				
9		1.3	4	12	37	111	333	1000				
10		0.45	4	37	111	1000						

耐性獲得経過は第1表に示した。10菌集落すべて容易に 1000 γ に發育可能な耐性を獲得し、耐性獲

得の最も速かなものは4代で、最も遅いものでも11代であつた。このうち、最も速に、4代の継代で1000 γ の耐性を獲得した集落 No. 5 は4 γ に發育可能となつた後、突然1000 γ に發育したのである。この点非常に興味深く思う。

以上の様に耐性獲得に関しては菌集落による差が認められ均一性は認められなかつた。又高橋等によつて報告された独立株は認められなかつた。

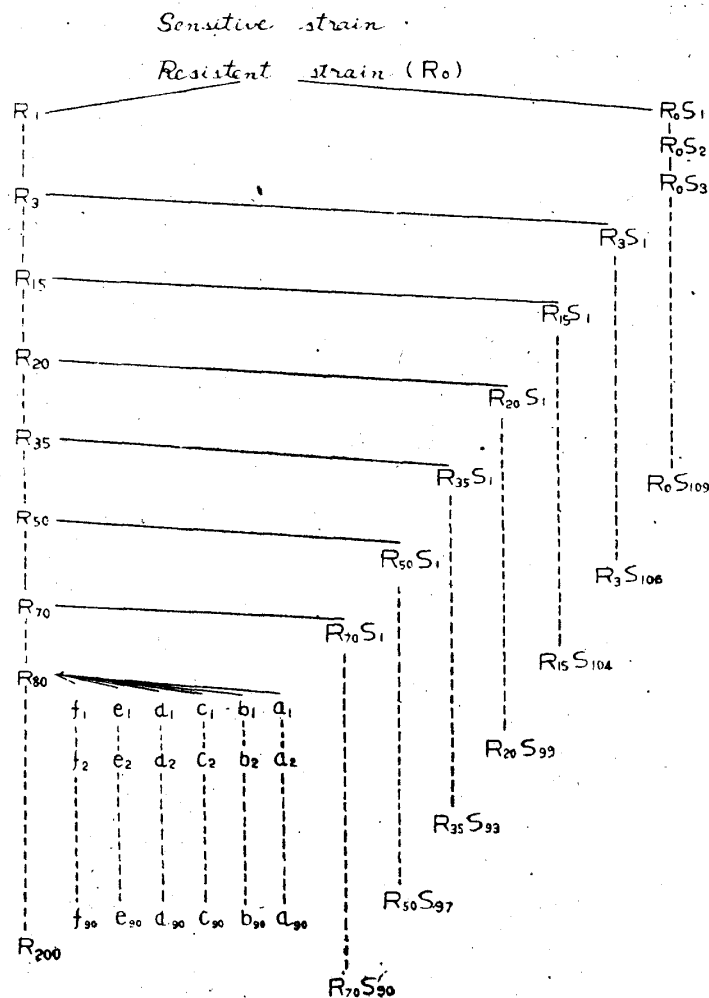
第2章 耐性復歸について

スト・マイは諸種抗生物質中、菌の耐性獲得が最も容易な藥物の一つであるが、菌とこの藥物との接触期間の長短が、果して耐性保持乃至耐性獲得に何らかの関連があるか否かを検討した。

実験材料及実験方法；

前章の如くして得た一耐性株（集落No.10）を更にスト・マイ1000 γ 含有普通寒天培地に継代し、長短種々の継代後夫々スト・マイを含まぬ培地に移して更に継代し、耐性の復歸の程度と、始めのスト・マイ含有培地に於ける継代数との間に何らかの関連があるか否かを検した。即1000 γ の耐性を得た直後（この係統を $R_0 S_{1+}$ と称し、以後スト・マイを含まぬ培地の継代数を S の右下に数字で示した。以下同じ）スト・マイ1000 γ に継代すること3代（ $R_3 S_{1+}$ と称す）10代（ $R_{10} S_{1+}$ ）、15代（ $R_{15} S_{1+}$ ）、20代（ $R_{20} S_{1+}$ ）、25代（ $R_{25} S_{1+}$ ）、30代（ $R_{30} S_{1+}$ ）、35代（ $R_{35} S_{1+}$ ）、40代（ $R_{40} S_{1+}$ ）、45代（ $R_{45} S_{1+}$ ）、50代（ $R_{50} S_{1+}$ ）、60代（ $R_{60} S_{1+}$ ）、70代（ $R_{70} S_{1+}$ ）で夫々スト・マイを含まぬ培地に移して後、更に90内至100代継代した。他方スト・マイ1000 γ に80代継代した後、夫々独立の6系統を作り、（夫々 a_{1+} , b_{1+} , c_{1+} , d_{1+} , e_{1+} , f_{1+} と、称す）スト・マイを含まぬ培地に90代継代して、耐性の復歸を観察した。尙1000 γ の耐性獲得後、常に1000 γ 含有培地に継代（ R_{1+} ）して対照とした。第2図はその継代の系統を略示したものである。

第2圖 継代の系統図（略示）



継代時の接種菌量は出来るだけ等しくする様に努力し、約 10^5 乃至 10^6 を用いた。

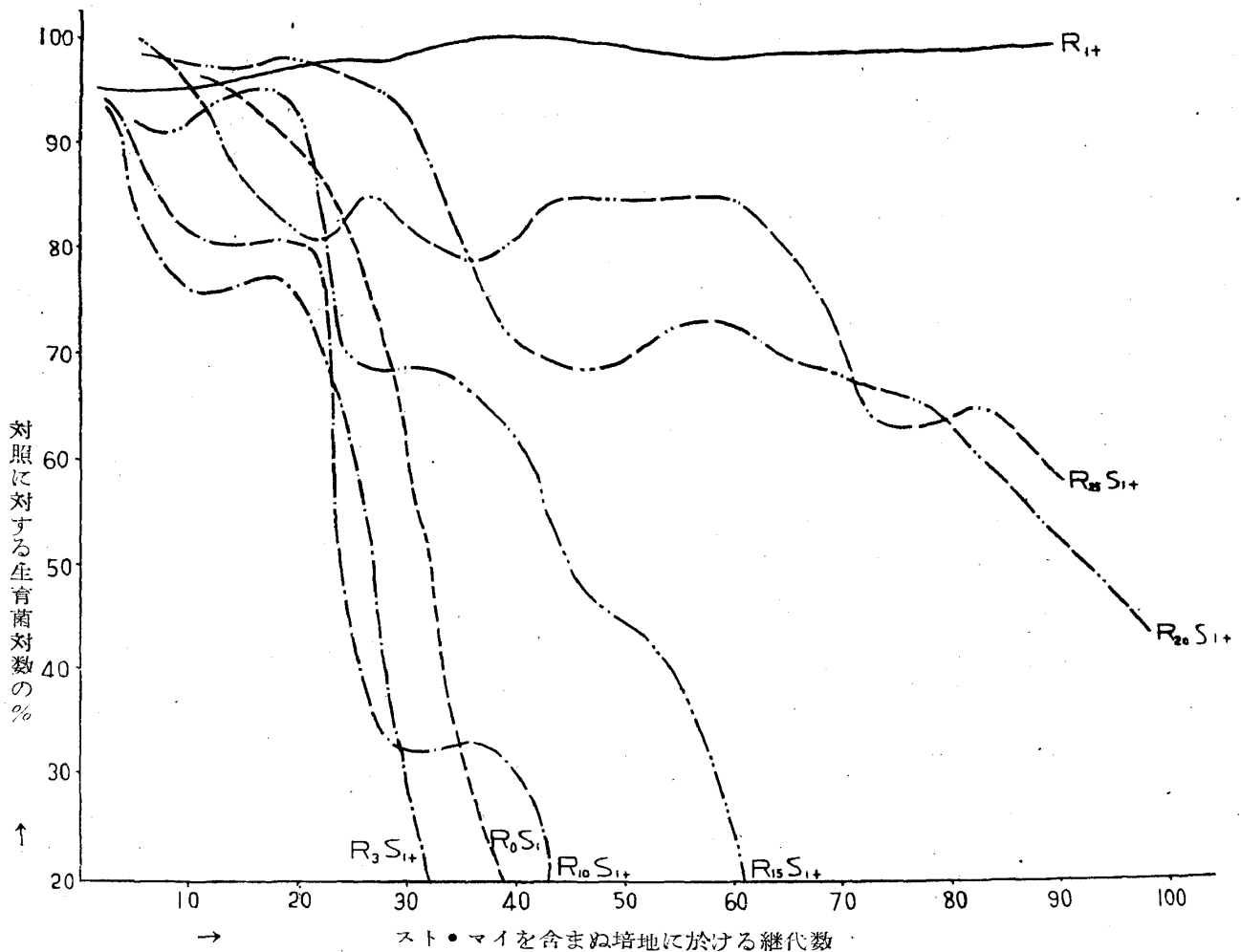
耐性の程度の検索は、継代に用いた斜面培地より1cc1mgの生理的食塩水菌浮游液を調製し、之を適当に稀釈し、その1ccをシャーレに注ぎ、之にスト・マイ1000 γ 、111 γ 、12 γ （何れも培地1ccの濃度）を含む普通寒天培地及対照としてスト・マイを含まぬ普通寒天培地を加えて、振盪培養し、30以上300以下の菌集落を生ずる平板の生育菌数と稀釈度とより計算して原菌浮游液1cc中のスト・マイ各濃度に發育可能な菌数と対照の菌数のそれぞれの対数を比較して、耐性復帰を、継代の経過を追って観察した。

実験成績：

各耐性検索時の実測値は省略する。

第3圖 耐性の復帰 其の1 $R_0 S_1 \sim R_{25} S_{1+}$ 系統

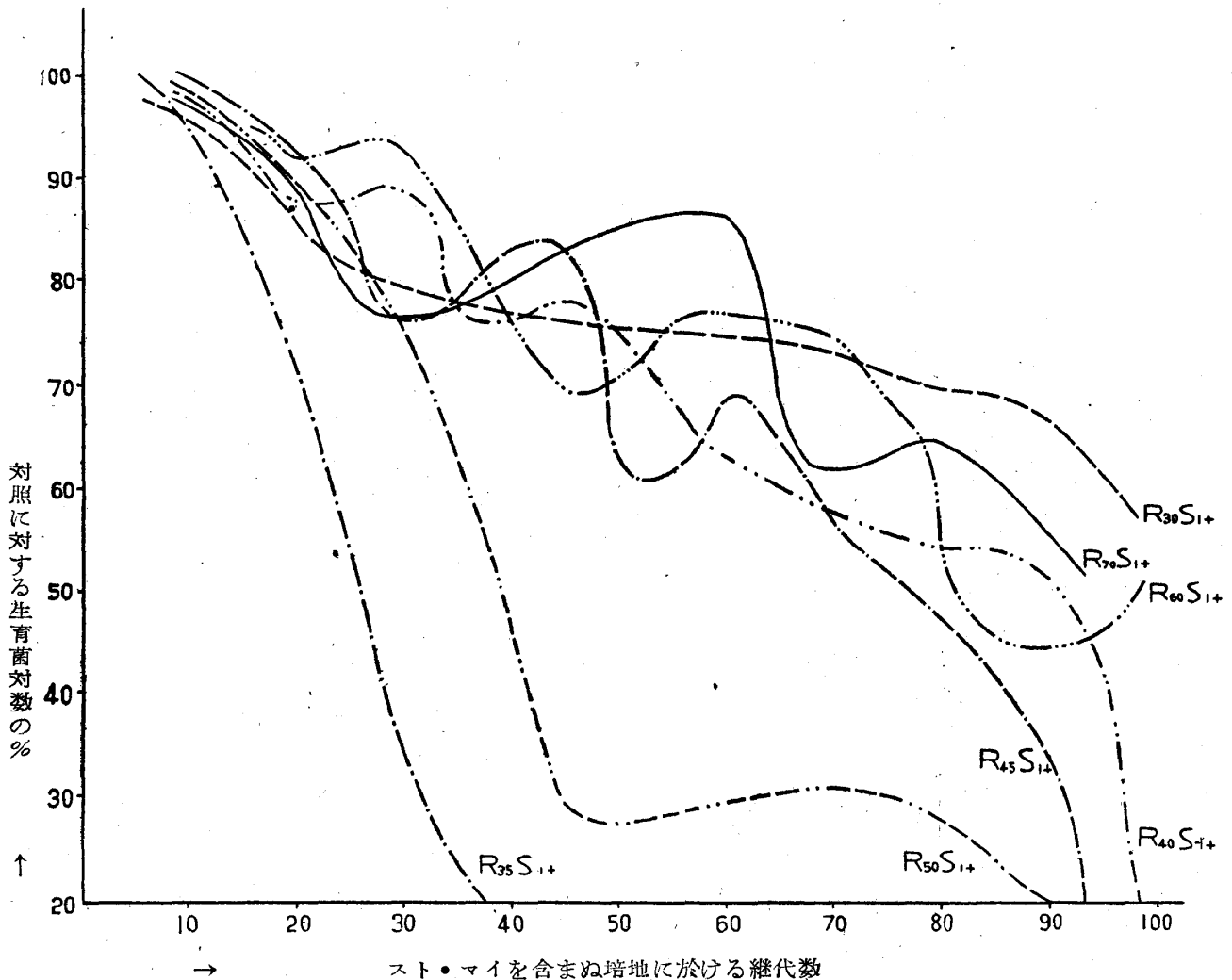
(1000 γ 培地に於ける生育菌数の減少経過)



上述 R_{1+} より $R_{70} S_{1+}$ に到る各系統の1000 γ 培地に於ける生育菌数の減少経過を図示したのが第3図及第4図であり、系統 a_{1+} 、 b_{1+} 、 c_{1+} 、 d_{1+} 、 e_{1+} 、 f_{1+} の耐性復帰を図示したのが第5図である。

以上の実験成績を観察するに、全系統中原感性株程度に耐性の復帰を示したものは $R_3 S_{1+}$ 系統一つのみであつた。(スト・マイ 111 γ 、12 γ 、培地に於ける生育菌数の減少経過は省略した)

又スト・マイ含有培地に於ける継代数と耐性復帰との間には何ら一定の傾向は認められない。 a_{1+} 、 b_{1+} 、 c_{1+} 、 d_{1+} 、 e_{1+} 、 f_{1+} の如くスト・マイ含有培地に於ける継代を同じくし、以後夫々独立して、スト・マイを含有しない培地に継代したものでも、すべて同一の耐性復帰を示さないものである。特にf系統は速かな耐性の低下を示し、 f_{58} と f_{68} の中間に於て、遂に發育の弱い特殊の変異株となつた。この

第4圖 耐性の復帰 其の2 $R_{30}S_{1+} \sim R_{70}S_{1+}$ 系統(1000 r 培地に於ける生育菌数の減少の経過)

様な変異は又 $R_{35}S_{62}$ と $R_{35}S_{72}$ との中間に於ても示した。これら変異株は普通寒天平板培地上に菌集落を分離しても、独立菌集落の発育は特に弱く、48時間内至72時間を要し、集落もS型ながら極めて小なるに反し、菌集落の密集部は発育が速かで、集落の大きさもむしろ独立集落より大である。前記の耐性度の検索に於ても振盪培地に於て深部菌集落として発育すること弱く、以後の耐性度の検索は不能となつた。この様な発育の微弱はスト・マイ含有培地に於ても同様であつた。従つて所謂スト・マイ依存性菌株とも異なるのである。

かかる変異株は其の後、スト・マイ 111 r 含有普通寒天培地及スト・マイを含まない普通寒天培地に30代継代したがこの性質は喪失しなかつた。

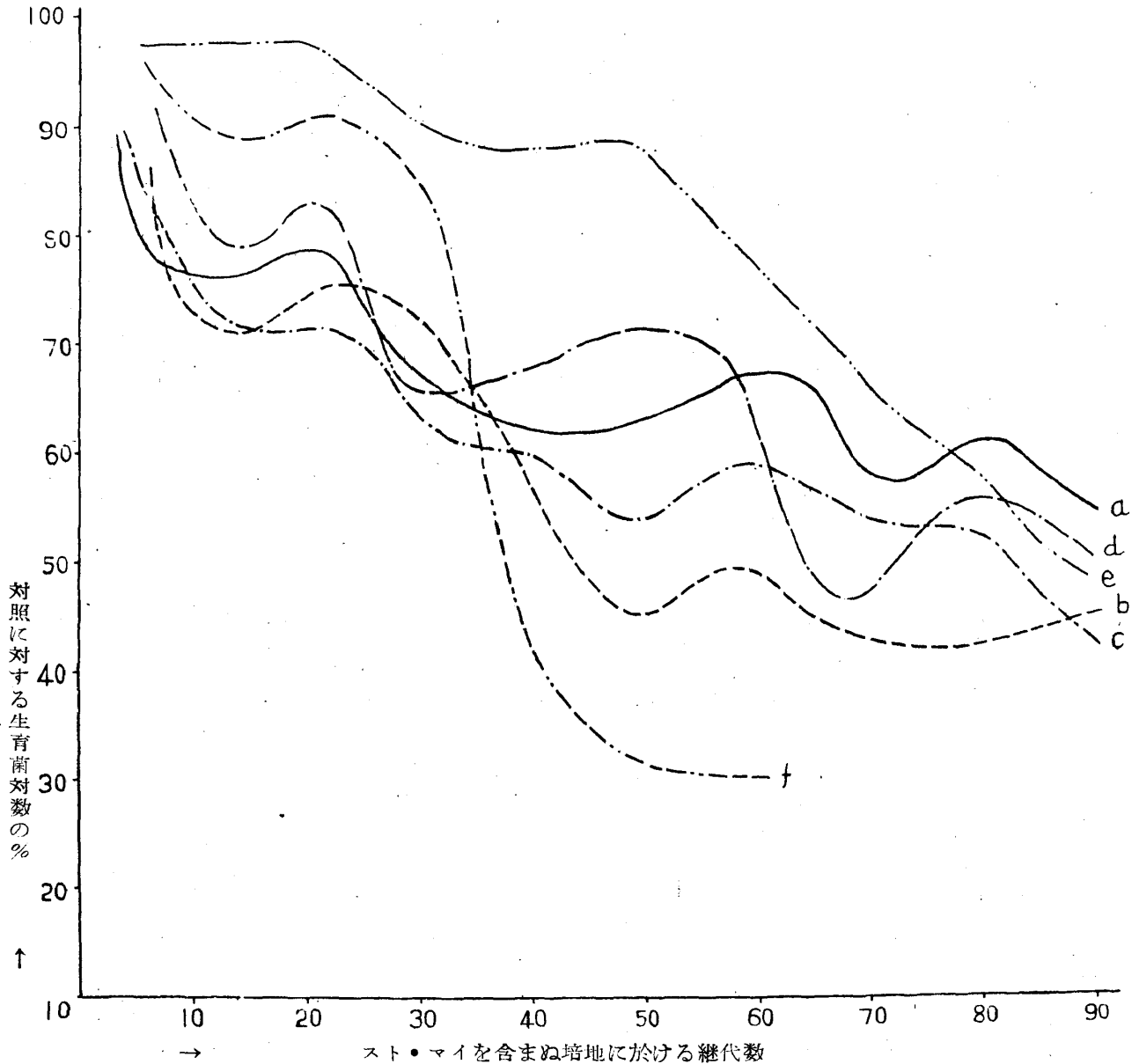
第3章 スト・マイ低濃度含有培地に継代した場合の耐性株の出現について

本章に於ては、低濃度の一定単位のス・マイを含む培地で継代した場合、耐性株が出現するか否かを檢した。

実験材料;

使用菌株, 使用したスト・マイ, 使用培地は第1章に同じ。

第5圖 耐性復帰 其の3 a_1+ ~ f_1+ 系統
(1000 γ 培地に於ける生育菌数の減少経過)



実験方法;

1) Survival Curve の作製

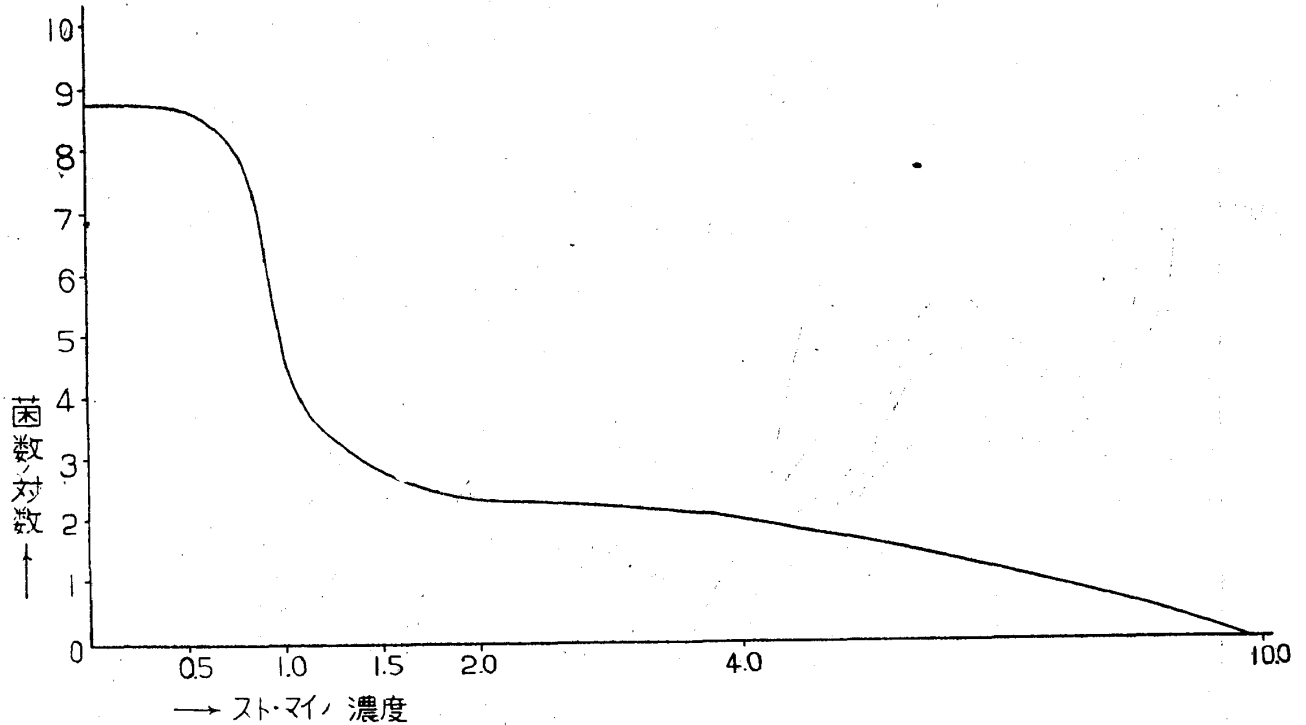
菌を平板に分離し、その1個の菌集落を20時間斜面培養し、之より 1cc1mgの生理的食塩水菌浮游液を作り、之を原菌液として、前章に述べた方法で、その原菌液1c.c.中のスト・マイの種々の濃度の下に生育可能菌数を算定して、所謂 Survival Curve を作つた (第6図参照)。

この Survival Curve によりスト・マイ 0.5 γ 以下の濃度ではスト・マイを含まぬ対照の培地と何ら生育菌数に差を見出さないことを知つた。従つて0.5 γ 以下の濃度を sublethal dose とした。

2) スト・マイの低濃度培地で毎24時間に継代培養した。用いた濃度は 0.05 γ , 0.1 γ , 0.3 γ , 0.5 γ , 0.7 γ , 1.0 γ で、対照としてスト・マイを含まぬ培地にも同様に継代した。

耐性の出現は、第二章に於いて述べたと同様にしてスト・マイ 1000 γ , 111 γ , 12 γ , 4 γ , 1.3 γ を含有する培地及スト・マイを含まぬ培地に生育する菌数を計算した。この様な生育菌数の計算は継代数 10代までは2代毎、以後は5代毎に50代にわたつて観察した。

第6圖 Survival curve



実験成績; Sublethal dose である $0.05r$ に継代した場合の感性度の変動を示したのが第7表である。以下 $0.1r$ の場合が第8表, $0.3r$ の場合が第9表, $0.5r$ の場合が第10表である。更に発育阻止的に働く $0.7r$, $1.0r$ の場合が夫々第11表及第12表で, 対照としてスト・マイを含まぬ培地に継代した場合が第13表である。

第7表 スト・マイ $0.05r$ 含有培地に継代した場合の発育菌集落数

スト・マイ γ/cc \ 継代数	1	2	4	6	8	11	15	20	25	30	35	40	45	50
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1 6.3	1 2.5	2 3.1	1 2.8	1 7.9	2 1.2	2 1.7	2 2.1	2 4.2	2 3.1	1 8.9	2 1.5	2 2.8	2 2.3
1.3	2 7.0	3 1.1	3 2.4	3 2.7	3 4.5	2 6.2	2 9.1	2 1.3	3 3.1	3 4.3	4 1.0	3 2.5	2 8.9	2 9.1
0	8 5.7	9 6.9	8 4.3	9 3.5	9 4.1	8 3.6	9 1.2	8 7.7	9 4.2	9 1.5	9 5.3	8 6.1	8 7.5	9 5.6

註 $\frac{8}{5.7}$ とは菌集落数 5.7×10^8 を意味する。以下13表まで同様。

第8表 スト・マイ $0.1r$ 含有培地に継代した場合の発育菌集落数

スト・マイ γ/cc \ 継代数	1	2	4	6	8	11	15	20	25	30	35	40	45	50
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0
4	1 2.3	1 3.0	1 9.1	1 8.6	1 8.3	1 3.0	1 9.3	2 4.0	2 3.6	2 2.0	2 1.6	2 4.6	1 4.7	2 2.8
1.3	2 6.3	2 7.2	2 8.1	2 7.0	2 8.3	3 1.1	2 8.8	3 5.3	4 2.3	3 2.4	3 7.0	3 2.7	3 7.4	3 4.5
0	9 6.3	10 2.6	8 7.4	9 1.0	8 5.8	8 5.9	9 4.1	9 3.3	9 5.8	9 8.2	10 1.1	10 1.3	8 9.8	9 5.7

第9表 スト・マイ 0.3 γ 含有培地に継代した場合の発育菌集落数

継代数 スト・マイ γ /cc	1	2	4	6	8	11	15	20	25	30	34	40	45	50
1000	0	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0
111	0	1	0	0	1	0	0	1 4.6	0	3	0	4	6	0
12	0	2	0	2 1.5	2 3.4	1 9.3	2 4.4	3 1.0	2 6.9	2 4.8	2 5.4	2 7.5	2 6.9	2 7.9
4	1 2.5	1 5.8	1 9.8	4 9.3	4 1.5	3 1.6	5 3.7	6 1.1	6 5.6	6 5.3	8 6.0	7 4.8	7 6.8	8 2.1
1.3	4 1.7	4 5.8	7 3.2	8 8.6	7 9.0	8 4.4	10 1.0	8 7.9	9 5.5	10 1.4	10 1.0	9 3.1	9 1.1	9 9.7
0	10 1.2	10 1.2	8 7.7	9 1.3	8 1.2	8 5.4	9 9.6	8 8.8	9 6.0	10 1.7	10 1.0	9 4.1	9 1.4	9 9.5

第10表 スト・マイ 0.5 γ 含有培地に継代した場合の発育菌集落数

継代数 スト・マイ γ /cc	1	2	4	6	8	11	15	20	25	30	35	40	45	50
1000	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	5	0	0	2
111	0	0	0	0	1	0	1	2 2.3	2 1.3	2 3.8	2 2.2	2 3.0	2 9.7	2 3.2
12	5	2 1.5	2 1.9	2 1.6	3 1.4	1 8.0	2 1.1	5 1.5	6 5.0	7 5.3	8 6.2	9 1.3	9 1.0	9 4.1
4	3 9.6	3 3.2	3 7.1	5 1.0	5 1.6	3 3.0	4 3.7	9 1.5	9 1.2	9 1.5	9 5.2	9 7.0	9 3.1	10 1.2
1.3	5 6.5	6 1.0	8 5.3	8 7.0	7 8.0	8 5.1	8 3.5	9 2.9	9 1.2	6 4.0	9 5.8	9 6.5	9 4.2	10 1.2
0	10 2.7	10 2.1	9 3.2	8 7.2	8 1.2	8 8.7	8 4.2	9 3.1	9 1.2	9 4.8	9 6.4	9 6.3	9 3.4	10 1.4

第11表 スト・マイ 0.7 γ 含有培地に継代した場合の発育菌集落数

継代数 スト・マイ γ /cc	1	2	5	7	9	12	15	21	25	30	35	40	45	50
1000	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
111	0	0	8	2 1.0	1 2.6	1 4.2	0	7	1 1.3	1 3.2	2	2 1.7	1 6.8	1 6.2
12	4	2 2.3	2 7.6	3 6.6	3 4.5	3 5.1	3 1.6	4 1.1	4 4.2	4 1.1	3 8.5	4 5.0	4 5.0	4 3.4
4	4 2.8	4 3.0	7 7.0	8 7.3	8 6.5	8 3.4	8 1.7	9 3.2	9 3.9	9 3.9	9 3.1	9 4.8	9 1.0	9 4.5
1.3	7 1.3	7 3.0	8 4.1	8 7.9	8 4.8	8 4.2	8 1.5	9 4.4	9 4.2	9 7.5	9 3.1	9 4.9	9 1.1	9 5.3
0	9 3.2	10 1.8	8 4.3	8 8.3	8 9.3	8 4.7	8 1.2	9 7.2	9 3.7	9 7.2	9 3.2	9 4.3	9 1.3	9 5.4

第12表 スト・マイ 1.0 γ 含有培地に継代した場合の発育菌集落数

継代数 スト・マイ γ /cc	1	2	5	7	9	12	15	21	25	32	35	41	45	50
1000	0	0	0	4	1	2	1	5	1 8.1	2 1.3	4	1 2.4	1 9.2	1 4.3
111	0	0	0	2 1.8	2 4.0	2 6.2	2 4.0	3 1.3	3 3.2	5 2.1	3 3.3	3 3.5	3 7.9	3 2.7
12	9	2 3.7	5 1.2	8 1.9	8 9.4	9 2.4	8 2.5	9 8.3	9 3.4	9 4.2	9 1.4	9 5.0	8 6.3	9 6.2
4	3 9.2	4 3.1	6 2.1	8 4.6	9 1.1	9 3.5	8 3.4	10 1.1	9 3.3	9 4.1	9 1.3	9 5.9	8 5.4	9 5.1
1.3	7 1.1	8 1.2	10 3.0	8 6.9	9 1.2	9 3.2	8 3.5	9 6.4	9 4.5	9 4.1	9 1.4	9 7.5	8 6.6	9 5.3
0	9 1.3	10 5.3	10 3.1	8 6.2	9 1.1	9 3.7	8 3.2	10 1.1	9 4.1	9 5.0	9 1.5	9 5.0	8 6.1	9 8.4

第13表 対照 (スト・マイを含みぬ培地に継代した場合の発育菌集落数)

スト・マイ γ /cc \ 継代数	1	2	4	6	8	11	15	20	25	30	35	40	45	50
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
4	1 3.0	1 4.4	1 1.9	2 1.4	2 1.1	1 9.8	2 1.5	2 1.2	1 8.9	2 9.3	2 1.7	2 3.7	2 1.1	2 4.1
1.3	2 5.5	2 5.9	2 5.9	2 8.0	2 9.1	2 6.8	3 3.2	3 4.1	2 6.0	4 1.0	3 1.1	3 5.8	2 9.1	3 7.1
0	9 6.9	10 1.6	8 9.2	9 1.3	8 9.0	9 7.3	9 6.9	10 1.3	9 2.5	10 2.3	9 5.7	9 6.4	8 6.7	9 5.2

スト・マイ依存性菌株の出現については、1.0 γ に継代した場合32代に於て、1000 γ に発育した菌集落中にスト・マイ依存性菌株を確認したが、この性質は不安定で、2~3代継代することにより消失して、スト・マイ耐性株となつた。

統計學的觀察；

本実験成績に関し相関分析法による検定 Analysis of covariance を試みたので、その大要を述べる。

今縦軸に菌の発育抑制率 (死亡率) 横軸に継代に用いた培養基中のスト・マイの濃度をとると、exponential distribution を示す。之は直線に換算し得る。従つて、相関分析法による uniformity of groups を検定すると、継代数6に於て uniformity が消失する即ち、差を生じてくる。

次に相関分析法による各二つのグループ間の Covariance を検討すると Adjusted mean 即 x の値を考慮した各グループの平均の値は第14表の如くなる。

第14表

	G ₆	G ₈	G ₁₅	G ₃₀	G ₄₀	G ₄₅
T _{0.0} — T _{0.3}	—	—	++	—	++	++
T _{0.0} — T _{0.5}	++	+	++	+	+	+

但 継代数 G_n

継代に用いたスト・マイの濃度 T_c

— 差のないもの

— 5%の危険率で差のあるもの

++ 1%の危険率で差のあるもの

考 按

本章の実験成績及統計學的觀察により、Sublethal dose である 0.05 γ , 0.1 γ では対照と差がなく、0.3 γ , 0.5 γ では明に差が認められる。スト・マイが若干発育阻止的に働く 0.7 γ , 1.0 γ では、耐性株の出現は極めて容易に、しかも高度である。

抑々この様な耐性株の出現に関する遺傳學的機序に関しては、二つの説が対立している。その一つは細菌と毒物又は阻害物質との間の交互作用によつて、細菌がそれらの物質に対して、漸次順應して抵抗性を獲得するとするのであつて、Seligmann 及 Wassermann はスト・マイ耐性に関してこの説を唱えている。

他の説は、耐性株は突然変異 ¹⁰⁾mutation¹¹⁾ によつて生じ、毒物又は阻害物質は唯淘汰という点で貢献しているに過ぎぬと云ふのである。Luria, Demerec, Newcombe, Paine¹²⁾ その他この説に有利な実験の報告が多数なされている。

余は上述の実験より、淘汰的に働かないスト・マイの濃度でも耐性の上昇を認めたのであつて、しかも濃度の極めて低い 0.05r, 0.1r では耐性の獲得を認めず、0.3r, 0.5r となると始めて耐性の上昇を認めた。しかし淘汰的に働く濃度である 0.7r, 1.0r では遙に速に高度の耐性株を認めるのである。

遺傳と変異については、1900 年 メンデルの法則が唱導されて以來、突然変異 ¹³⁾mutation と、淘汰 selection とによつて生物の変異が起ることが承認されたのであるが、その対象はすべて有性生殖を営む比較的高等な動植物であり、有性生殖も営まず、しかも直接外界に暴露されている細菌類の変異は外界との交互作用による適應的漸進変異が存在しても、敢へて異とするには足らぬと思う。

第 4 章 スト・マイ耐性株の性狀菌形態に就いて

¹⁴⁾Strauss. はスト・マイの低濃度で細菌を發育せしめた場合の形態の変化を観察して 2 乃至 3 倍に膨化することを報告したが、余も原株に比し膨化伸長し、大小不同が著しくなるのを認めた。更に 20 乃至 25 代スト・マイ含有培地に継代すると、この性狀は減退した。

菌集落に就いて;

認むべき変化はなかつたが、継代と共に R 型集落に変化した。但しスト・マイ含有培地に於ける菌集落の性狀は略 S 型であつた。

糖分解能について;

糖を 1% に加へた B. T. B. pepton 水 (pH 7.2) を使用して 37°C に 14 日間観察した。

原感性株は糖分解陽性である Glukose, Xylose, Arabinose, Dultit, Sorbit, Rhamnose, Maltose Mannit, 分解陰性である Saccharose, Raffinose, Dextrin について分解能の変化を検索した。

耐性株を 1000r 培地に 90 代継すると Xylose, Dultit, Sorbit, Rhamnose, Maltose, Mannit の分解の分解が遅延した。200 代の継代により、Dultit は分解陰性となつた。分解陰性から陽性になつたものはない。

Katalase 產生について;

Warburg 氏檢圧計を用ひ發生する O₂ 量を計つた。菌は 48 時間培養、菌量は光電比濁計により、生理的食塩水浮游菌液の濁度を一定とした。過酸化水素は 0.31 Mol のものを 0.1 cc, pH は 7.7 $\frac{M}{15}$ 磷酸緩衝液を用ひ温度は 38°C とした。

耐性株は感性株に比し、Katalase 產生量が減少し、約 1/2 であつた。

耐性の復歸と共に Katalase 產生量は次第に増加した。

(但しスト・マイは菌及 Katalase 自身に対しては感性株たると耐性株たるとを問はず、何らの影響も與へない)。

呼吸について;

同じく Warburg 氏檢圧計を用ひ、0.2% Glukose を含有する $\frac{M}{15}$ 磷酸緩衝液 pH 6.8, 5% 苛性カリ 0.1 cc, ガス腔は空氣、温度は 38°C, 時間は 3 時間にわたつて観察したが、耐性株と感性株の両株の間に差は認められなかつた。又スト・マイは両株の何れに対しても、その呼吸に影響はなかつた。

アミノ酸必性変異について;

Escherichia coli¹⁵⁾ を sulfanil amide を含む培地に継代して得た Methionin 必要性変異については Kohn 及 Harris¹⁶⁾ が報告し、本実験と同じ Sal. ent. 1891 株のスルファミン剤に対する耐性株の Methionin 必要性変異については、藤野等の報告があるが、余はスト・マイ耐性株について 70 代継代

することにより、或る種 amino酸必要性変異株を得た。

この変異株は Glucose-Simmons 培地に発育せず、Asparagin 又は Gintamin酸を添加した場合のみ発育可能であつた。

結 論

Sal. ent. 1891 株についてスト・マイ耐性に関する試験管内実験を行ひ、下記の結果を得た。

1) スト・マイに対する耐性獲得を検索したが、菌集落による耐性獲得の難易があり、4代乃至11代の差を認めた。

2) 耐性株をスト・マイ含有培地に継代した場合、その継代の長短と耐性復帰の間には特別の関係を認めなかつた。

3) スト・マイ低濃度含有培地に於て、50代継代した。スト・マイ 0.5 γ 以下では発育阻止作用は認められないのであるが、0.05 γ , 0.1 γ では耐性の獲得は認められず、0.3 γ , 0.5 γ では耐性の獲得が認められる。更に 0.7 γ 及 1.0 γ では(発育阻止的に作用する濃度)耐性獲得はより速であつた。

4) スト・マイ依存性菌株の出現を認めたが、不安定で、2乃至3代の継代により耐性株に変異した。

5) 菌形態は低濃度培養により菌形態は膨化伸長した。耐性株はスト・マイ 1000 γ 培地に90代継代により糖分解は稍遅延し、200代継代した耐性株では Duitit を分解しなくなつた。

Katalase 産生は、耐性株は感性原株の約3/5であつた。

70代継代によりアスパラギン又はグルタミン酸必要性変異株を得た。

終りに御指導・御校閲を賜つた恩師服部教授、結核研究所佐川助教授、御援助下さつた数室員諸兄並びに統計学に関し多大の御助言を載いた曾我美勝医学士に深甚の謝意を表する。更にアミノ酸に関する研究に御援助を受けた阪大微生物病研究所藤野教授、中田大輔氏に併せて謝辭を述べる。

文 献

- 1) Reimann, H. A. et al. 1945 J. A. M. A. 128, 175
- 2) Pulaski, E. J. and Auspacher, W. H. 1947 The New Engl. J. of Med, 237, 419
- 3) Seligmann, E. et al. 1947 J. Pediat. 30
- 4) James and Ivor R. H. Kramer 1948 Lancet CCLV. 555 Oct. 9
- 5) 杉山大助 最新医学 5巻 9号 30 (1950)
- 6) 高橋次郎 日本臨牀 9巻 6号 18-28 (1951)
- 7) 杉山大助, 田原 晴, 田中寛治 最新医学 5巻 11号 70-74 (1950)
- 8) 高橋次郎, 國分義行, 奥山虎二 治療 33巻 9号 17 (1951)
- 9) Seligmann, E., and wassermann, M., 1947 Induced r.sistance to streptomycin J. Immunioe, 57, 351-360
- 10) Luria, S. E., 1946 Spontaneous bacterial mutati n to resistance to antibacterial agents. Cold Spring Harbor Symposia Quant Biol., 11. 130-137
- 11) Demerec, M., 1949 Patterns of bacterial resistance to Penicillin, aureomycin and streptomycin. J. Oli. Invest, 28, 891-893
- 12) Newcombe, H. B., and Hawirko, R., 1949 Spontaneous mutation to streptomycin resistance and dependance in Escherichia. Coli. J. Bact 57
- 13) Paine, T. F. and Finland, M., 1948 Observations on bacteria sensitive to, resistant to, and dependent upon streptomycin. J. Bact. 56. 207-218
- 14) Strauss, E., 1946 Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 6291. 25-31
- 15) Kohn, H. I. and Harris, T. S., 1942 J. Bact., 44, 717-718
- 16) 藤野垣三郎, 高木忠敬, 中田大輔, 西野信夫 日本細菌学会雑誌 5巻 5号 299-303 (昭和25年)