

Bacillus Gigas (Zeissler u Rassfeld) の 溶血毒に関する研究

金澤醫科大學細菌學教室(主任谷教授)

塩 見 益 朗

Masuro Shiomi

(昭和24年4月18日受附)

(本要旨は日本細菌學會第1回北陸地方支部會に發表した。)

第1章 緒 言

著者¹⁾は1944年 *Bacillus gigas* (Zeissler u Rassfeld), *Bacillus sordellii* (Pasteur No. 24), 及 *Bacillus novyi* (Zeissler) 3菌に関する形態學的, 生物學的比較實驗を行ひ1947年これを報告した。次で此等の菌の産生する毒素に就て比較實驗中, 東洋濾紙會社製除菌用濾過板を以て培養液を濾過した液は「マウス」に對する致死毒, 海狸皮膚に對する壊死毒は相當強いにも拘らず, 山羊赤血球に對する溶血毒は極めて低い事を経験した。即ち Seitz 濾過板による濾液中には溶血毒は殆んど出て來ないので, Welchii 菌

に關する高橋²⁾の報告の如く溶血毒は濾過器に吸着されるものと考えて, 培養液上清を溶血毒素液としてその産生狀況を検討した。

Bacillus gigas の溶血毒に就ては Zeissler³⁾の記載に見へない。 *Bacillus sordellii* に關しては Hall⁴⁾ が本菌と *Bacillus hämolyticus* の比較實驗に於て *sordellii* 菌が血液寒天上で弱い溶血を示す事を認めてゐる。又 *Bacillus novyi* に就ては Zeissler⁵⁾ その他⁶⁾の記載があるが, 總て溶血毒産生に關する精細な報告は見ない。

第2章 驗 方 法

使用菌株は *Bacillus gigas* (Zeissler u. Rassfeld), *Bacillus sordellii* (Pasteur No 24), *Bacillus novyi* (Zeissler) である。

毒素製造用培地は pH 7.8 肝臟ブイオン⁷⁾で容量は特に中試験管に肝片 3~4 gr. 「ブイオン」10cc を秤量して分注した。之に起始培養(肝臟ブイオン)24時間培養で發育良好なもの1滴宛を接種して 37°C で所要時間培養した。

溶血毒測定には所要時間培養した肝臟ブイオン液

を無菌的に遠心しその上清を pH 7.0~7.1 の生理的食鹽水で稀釋し 0.5cc 量系統で小試験管に階段的倍々稀釋する。之に1%山羊赤血球液1滴宛を加へ充分振盪後 37°C 1時間孵卵器内に置き溶血度を判定, 更に之を24時間室温に放置したものに就て溶血を判定した。

表中記載した溶血價の記號は次の通りである。卅完全溶血, 卅殆んど完全溶血, 十半分溶血, 土微かに溶血, 一全く溶血せず, 溶血價は一般に完全溶血を示す最大稀釋倍數を用いた。

第3章 實 驗 成 績

1. 培養時間による溶血價の消長 pH 7.8 肝臟ブイオンに於ける培養時間と溶血價の關

係は第1表の通りである。 *gigas* は14時間培養までは培養液の溷濁も弱く瓦斯發生も殆んどな

い。且溶血毒も極めて弱いか又は認め得ない。之が18時間培養では濁濁，瓦斯發生は未だ少ないが溶血價は8倍となり，24時間培養では最高價に達し32倍となる。以後30時間培養では16倍と減少し，48時間培養で濁濁，瓦斯發生が強くなると2倍にまで減少して来る。

そして72時間培養では原液のみ完全溶血を示す様に減少した。

sordellii に於ては6時間培養まで毒素は認められないが，10時間培養で培養液の濁濁が認められる様になると8倍まで完全溶血をする。次

で14時間培養で最高價32倍となり，次第に減少して30時間培養では消失してしまう。

novyi は10時間培養まで完全溶血を見ないが14時間で8倍となり，18時間で最高價16倍となり以後次第に減少する。

この實驗に於て對照として用ひた非接種肝臟「ブイオン」では全く溶血を認めず。又氷醋酸，苛性曹達を以て pH 8.0, 7.1, 6.5, 6.2, 5.0 の5種肝臟「ブイオン」を作つたが，此等の液は全く山羊血球を溶血しなかつた。(第1表参照)

2. 生動物蛋白加肝臟「ブイオン」に於ける

第1表： 培養時間による溶血價の消長

菌 株	培養時間	終 末 pH	原	2倍	4	8	16	32	64	128	256
Gigas	6	7.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	7.4	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	14	7.0	+	±	—	—	—	—	—	—	—
	18	6.5	≡	≡	≡	≡	±	—	—	—	—
	20	6.3	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—	—
	24	6.2	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—
	30	6.1	≡	≡	≡	≡	≡	—	—	—	—
	48	6.1	≡	≡	±	—	—	—	—	—	—
72		≡	+	—	—	—	—	—	—	—	
Sordellii	6	7.2	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	6.4	≡	≡	≡	≡	≡	±	—	—	—
	14	6.1	≡	≡	≡	≡	≡	≡	±	—	—
	18	6.0	≡	≡	≡	≡	≡	≡	±	—	—
	20	5.9	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—	—
	24	5.9	≡	≡	±	—	—	—	—	—	—
	48	5.8	Sp.	—	—	—	—	—	—	—	—
	72		—	—	—	—	—	—	—	—	—
Novyi	6	7.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	7.4	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	14	6.4	≡	≡	≡	≡	≡	±	—	—	—
	18	6.3	≡	≡	≡	≡	≡	±	—	—	—
	20	6.1	≡	≡	≡	≡	±	—	—	—	—
	24	6.1	≡	≡	+	—	—	—	—	—	—
	48	6.1	≡	≡	±	—	—	—	—	—	—
	72	6.0	≡	≡	±	—	—	—	—	—	—

gigas 菌の溶血毒產生に就て 著者¹⁾は先に gigas 菌の肝臟「ブイオン」培養に於ける發育が

雞胎仔「エキス」(谷教授考案になる 雞胎仔の酸性タイロッド 浸出液を中和せるもの)，及生家

兔血清添加により極めて促進される事を経験した。依てこの發育促進により溶血毒產生も變化するやも知れずと考へて、肝臟「ブイオン」に30%の割に鶏胎仔エキス、家兎血清を無菌的に加へたる培地を用ひて培養時間と溶血價變動の關係を研究し第2表の成績を得た。

生家兎血清加肝臟「ブイオン」(SLB)では14時間培養で8倍、18時間培養で培養液の濁濁、瓦斯發生が見られる様になると32倍(最高値)となり、以後次第に低下して24時間で8倍、48時間で原液のみ完全溶血を示す様になる。

雞胎仔エキス「加肝臟「ブイオン」(XLB)では更に早く溶血毒が認められ、10時間培養から原液は完全溶血を示し、14時間で16倍、18時間で32倍(最高値)となり、以後次第に低下して24時間では4倍、48時間で原液のみ溶血を示す様になる。

即ちXLB, SLB, LBに於けるgigas菌の完全溶血價曲線はXLB, SLB, LBの順で早い方にずれる。

又雞胎仔エキス「生血清」に添加により溶血價を僅かながら上昇させ得た。(第2表参照)

第2表：生産物蛋白のgigas菌溶血毒產生に及ぼす影響 (pH 7.8 LB 山羊血球)

培地	培養時間	終末 pH	原	2	4	8	16	32	64	128	256
LB,	6	7.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	7.4	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	14	7.0	+	±	—	—	—	—	—	—	—
	18	6.5	≡	≡	≡	≡	±	—	—	—	—
	20	6.3	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—	—
	24	6.2	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—
	30	6.1	≡	≡	≡	≡	≡	—	—	—	—
	48	6.1	≡	≡	±	—	—	—	—	—	—
	72	5.6	≡	≡	—	—	—	—	—	—	—
SLB,	6	7.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	6.6	++	+	±	—	—	—	—	—	—
	14	6.4	≡	≡	≡	≡	++	+	±	—	—
	18	6.2	≡	≡	≡	≡	≡	≡	++	—	—
	20	6.0	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—	—
	24	5.9	≡	≡	≡	≡	++	—	—	—	—
	48	5.8	≡	++	±	—	—	—	—	—	—
	72	5.5	≡	+	±	—	—	—	—	—	—
XLB.	6	7.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	6.5	≡	++	±	—	—	—	—	—	—
	14	6.2	≡	≡	≡	≡	≡	++	±	—	—
	18	6.0	≡	≡	≡	≡	≡	≡	++	±	—
	20	5.9	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—	—
	24	5.8	≡	≡	≡	+	±	—	—	—	—
	48	5.6	≡	±	—	—	—	—	—	—	—
	72	5.5	≡	—	—	—	—	—	—	—	—

3. 起始 pH の溶血毒產生に及ぼす影響 肝臟「ブイオン」の起始 pH が各菌の溶血毒產生に

如何なる影響を與へるかを検査するため、pH 8.5, 7.8, 7.2, 6.4 の4種類の肝臓ブイオン」を作り、gigas は24時間、sordellii は14時間、novyi は18時間培養に於ける溶血價を検索して第3表の成績を得た。培養した肝臓ブイオン」の肉眼

的性状比較では sordellii 及 novyi では4種類培地で差を認めず。唯 gigas 培養の pH 6.4 培地のみ濁濁、瓦斯發生が少なかつた。

各菌共溶血價は pH 7.8 が最高で pH 7.2, 8.5, 6.4 の順に低下した。(第3表参照)

第3表: 培地 pH の溶血毒產生に及ぼす影響

菌種	培地 pH	培養時間	終末 pH	原	2	4	8	16	32	64	128	256
Gigas	8.5	24	6.3	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-	-
	7.8	〃	6.2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	7.2	〃	6.3	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
	6.4	〃	5.7	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-	-
Sordellii	8.5	14	6.2	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-	-
	7.8	〃	6.1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
	7.2	〃	6.0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
	6.4	〃	5.8	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-	-
Novyi	8.5	18	6.3	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
	7.8	〃	6.3	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-
	7.2	〃	6.1	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-
	6.4	〃	5.7	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-	-

4. 溶血毒の耐熱性 各毒素の比較的高價なものを選び、之を水浴中で 50°C 10分, 60°C 10分, 60°C 20分間加熱してその溶血價を測定した。

gigas は pH 7.8 肝臓ブイオン」24時間培養

で32倍まで完全溶血を示すものを加熱した所、50°C 10分加熱後は4倍までに降り、それ以上の加熱では原液に於てすら完全溶血を認めなかつた。sordellii は14時間培養で最高値32倍のものを用ひ 50°C 10分加熱すると8倍までに低下

第4表: 溶血毒の耐熱性

毒素液	加熱法	原	2倍	4	8	16	32	64	128	256
Gigas pH 7.8 LB. 24 H	非加熱	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	50°C 10'	卅	卅	卅	+	±	-	-	-	-
	60°C 10'	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	60°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sordellii pH 7.8 LB. 14 H	非加熱	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
	50°C 10'	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	60°C 10'	卅	±	-	-	-	-	-	-	-
	60°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-
novyi pH 7.8 LB. 18 H	非加熱	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-
	50°C 10'	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
	60°C 10'	卅	±	-	-	-	-	-	-	-
	60°C 20'	-	-	-	-	-	-	-	-	-

し 60°C 10分以上加熱では完全溶血は認めなかつた。又 novyi では18時間培養で最高値16倍のものを 50°C 10分間加熱すると4倍に低下し、それ以上の加熱では完全溶血を示さなかつた。

即ち各菌の溶血毒は 60°C 10分間の加熱により殆んど破壊された。(第4表参照)

5. 溶血毒の濾過性 加熱試験と同材料を用ひて、之を Berkefeld 及 Seitz 濾過器により濾過し、その濾液の溶血價を測定した。各菌の毒素共、Seitz 濾過では原液が完全溶血を示すのみであり、又 Berkefeld 濾過では原液に於てすら完全溶血を認めなかつた。(第5表参照)

第5表: 溶血毒の濾過性

毒素液	処理法	原	2	4	8	16	32	64	128	256
Gigas pH 7.8 LB. 24 H	非濾過	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	Seitz	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
	Berkefeld	卅	+	±	-	-	-	-	-	-
sordellii pH 7.8 LB. 14 H	非濾過	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
	Seitz	卅	卅	±	-	-	-	-	-	-
	Berfeld	卅	±	-	-	-	-	-	-	-
novyi pH 7.8 LB. 18 H	非濾過	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-
	Seitz	卅	+	-	-	-	-	-	-	-
	Berkefeld	卅	±	-	-	-	-	-	-	-

6. 血球の種類と溶血價の關係 使用毒素液は前實驗と同一である。人、山羊、家兎、海猿の1%赤血球の生理的食鹽水浮游液を作り、溶血毒の各種赤血球に対する作用度を比較實驗し

た。各血球の感受性は gigas に對しては家兎、海猿、山羊、人の順に、sordellii 及 novyi に對しては海猿、家兎、山羊の順に低下した。但し大きな差ではない。(第6表参照)

第6表: 血球種と溶血價の關係

毒素液	血球	原	2	4	8	16	32	64	128	256	512
gigas pH 7.8 LB. 24 H	人	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	山羊	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	家兎	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
	海猿	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
sordellii pH 7.8 LB. 14 H	人	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
	山羊	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
	家兎	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
	海猿	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	±	-
novyi pH 7.8 LB. 18 H	人	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-	-
	山羊	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-	-
	家兎	卅	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-
	海猿	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-

第4章 結 論

Bacillus gigas, Bacillus sordellii, Bacillus novyi の溶血毒に就て比較實驗を行ひ次の結果を得た。

1. 各菌の肝臟「ブイオン」培養には動物の赤血球を溶解する物質が認められる。この物質は細菌濾過器で濾過すれば吸着されて殆んど濾液中に出ない。この毒素に對し海猿、家兎血球は最も鋭敏で、山羊次で人の血球の順に抵抗性が強い。肝臟「ブイオン」に於ける本物質產生至適

pH は 7.8 乃至 8.0 である。又この物質は 60°C 10分間の加熱により殆んど破壊される。

2. gigas 菌發育促進物質たる「雞胎仔エキス」及「生家兎血清加肝臟「ブイオン」」に於ては gigas 菌の溶血毒產生は早くなり、且より高價な毒素を作る。

欄筆に當り御指導、及御校閱を賜つた谷教授に深謝する。

文 獻

1) 鹽見, 十全會雜誌, 50, 1, (1947). 2) 高田, 實驗醫學, 21, 190, (昭12). 3) 高橋, 長崎醫學誌, 9, 612, (昭6). 4) Zeissler u Rassfeld: Archiv für Wissenschaftliche u. praktische Tierheilkunde, 59, (1929). 5)

Ivan C. Hall: J. of inf. dis, 45, (1929). 6) Zeissler: Handbuch d. pathog. Microorg. Bd. IV. S. 1115, (1928). 7) 谷友次, 醫學微生物學, 南山堂發行, 303, (昭23).

根本治療への新しい道

文献送呈
乞掲載誌名記入

新發賣

リウマチ 神經痛

- 昨年()にリウマチ學界で今まで考へ及ばなかつた副腎皮質ホルモンの一つである「コルチソン」の著効に驚倒してある時に、従来の鎮痛劑、消炎劑に依る一時しのぎの治療で満足できますか……
- 「サルギン」は林江澤博士が永年に亘る系統的な基礎並に臨床研究の成果であつて、その成分たる特殊菌體から抽出精製した新物質(多糖體)は生體細胞の抵抗を強め、完全治療に導くのです
- 我が國獨自の「サルギン」は入手困難な「コルチソン」に匹敵する根本治療への近道であります 2c.c.×10A 皮下、筋肉注射



製造販賣元 中村瀧製薬株式会社
東京都中央区日本橋本町3の1

中藥藥品

