

緑膿菌のピオシン型別に関する研究

V. 分離株に対する型別法2種の併試特に集落型の差による産生ピオシンの作用域比較

内藤達郎・小浦正昭

長崎大学熱帯医学研究所臨床部門(主任:内藤達郎教授)

岩永祥子

長崎大学医学部細菌学教室(主任:宮本勉教授)

(Received for Publication February, 10, 1973)

Studies on Pyocine Typing of *Pseudomonas aeruginosa*

V. The first application and comparison of pyocines produced by different colonial types using isolates under parallel use of two typing methods

Tatsuro NAITO and Masaaki KOURA

Department of Clinical Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

(Director: Prof. T. Naito)

Yoshiko IWANAGA

Department of Bacteriology, Nagasaki University School of Medicine

(Director: Prof. T. Miyamoto)

Abstract

The methods of both Darrell-Wahba and Gillies-Govan were applied in parallel to 142 strains, excepting strain No.92 of the 143 isolates used in the reports I-III. Throughout the present study, in the case of G-G method, pyocine typing was performed on Tryptosoy agar (Eiken) plates containing 5% defibrinated horse blood (Shiibashi).

In the first experiment, 1-3 day old slant cultures originated from a la colony of each test strain were typed by the two methods during 3 weeks between the second and the third experiment informed in the last report. Each fresh la colony of indicator strains was respectively used for typing the first group of the test strains and a set of slant cultures derived from a part of the same la colony was applied to the remaining 3 groups of them. According to the G-G method (Tables 1 and 2), 120 out of 142 strains were typable into 13 types of original schema and remaining 22 were unclassifiable, whereas only 26 were typable and 116 were unclassifiable by the D-W method (Tables 3-6). The results obtained by the D-W method can be summarized as follows : 11 strains of Type B1, 5 of Type B2, 1 of Type B3, 6 of Type L, 3 of non-producer, and 20 strains of No.38 type in Table 3, 11 of No.104 type in 4, 9 of No.27 type in 3, 8 of No.4 type in 4, 4 strains each of No.2, 101, 77 and 106 types in Table 4, 3 strains each of No.66:74:49 (Tables 4 and 6), No.80:94:90 (4,6), No.84:139:35 (6) and No.52:159:26 (6) types, 2 strains each of No.123:53 (4,6), No.42:143 (4), No.78:147 (4,5), No.121:59 (4,6), No.103:57 (5,6), No.108:18 (6) and No.71:72 (6) types, and 1 strain each of other 26 patterns. Reproducibility of typing results former, present and further experiments performed by the two methods will be compared with one another and discussed in the near future.

Secondly, fresh la and sm colonies of 54 test strains which could be selected from all of 142 isolates by applying the simple isolation technique on nutrient agar plate were subjected to type by the two methods in parallel, using a la colony of each indicator isolated just before the use, for the period between the third and the fourth experiment informed in the last report. As shown in Tables 7-10, differences of the inhibition patterns between la and sm colonies of the test strains were observed in 19 out of 54 strains by the G-G method (Table 8) and 25 strains by D-W method (Table 10). It can be said that different patterns of inhibition were also observable on la and sm colonies of isolates, in addition to the same observation obtained by using indicators and type strains as producers in the third experiment stated in the last report. To compare the results obtained above by the two methods using indicators of the same number, strains W9-W12 for the D-W method were omitted for trial from Table 10 like "Mayo types" of Zabransky and Day. Even so, la and sm colonies of 22 strains excluding No.4, 99 and 56 from 25 strains in Table 10 still show different inhibitions to some of indicators. Next the comparable part of the results standing in the same colonial relationship of producer and indicator to this experiment were selected from Tables 7-10 of the last report and added to the number of the strains mentioned above. Finally, differences of the inhibition patterns between la and sm colonies are seen in 22 out of 65 strains by the G-G method and 27 by modified D-W method. These observations indicate that colonial types of producers may be more effective in pyocine typing by the D-W method than that by the G-G method.

緒 言

その緒言で述べたように、4報(1972)ではウマ血液加培地使用による Gillies-Govan 法ピオシン型別(1966)と Darrell-Wahba 法ピオシン型別(1964)を、個々の菌株については同一日に併行して実施する方針のもとで得られた成績のうち、両法指示菌20株と、Gillies-Govan 法型標準菌2株の計22株を、産生株としても利用することによって得られた基礎的検討の結果を報告した。

本報では、前報の実験期間内に3報(1972)までに使用してきた分離株を対象に、まず両型別法を全株について併行実施した成績、さらに一部の菌株については塩野谷、本間(1968)の la 型および sm 型集落を

用いて、同じく両法併試のもとでそれぞれの産生ピオシンの各法指示菌に対する作用域を比較した結果を記載し、特に集落型の差による産生ピオシンに関しての考察を加える。

今回の供試菌株についてはさらに数カ月後両型別法と本間ら(1970)の血清型別を、その際分離選定した1個の la 型集落を用いて実施しているが、その成績は別報とし、個々の菌株における成績再現性はその際に考察を行なう予定である。なお本論文の内容はその一部を第43回日本細菌学会総会シンポジウムにおいて発表した。

菌 株 と 型 別 法

供試菌株：1—3報で供試した分離株のうち、その後事故により死滅したNo.92を除く142株を被験菌として使用した。両型別法に対する指示菌は既報と同様である。

Gillies-Govan のピオシン型別法：1報に詳述した方法で行ない、ただ培地への添加血液としてウマ脱

セイ血液(椎橋)のみを用いたのは4報と同じである。

Darrell-Wahba のピオシン型別法：前報と同様に使用シャーレを Gillies-Govan 法と統一したほかは、3報に記載した方法で実施した。

実 験 と 説 明

第1実験：供試菌株の一部を一旦普通寒天平板に分離し、翌日塩野谷・本間の la 型集落単個を選び、これを再び平板に分離、その翌日安定した la 型であることが確認されれば、そのうちの数個をとって普通寒天斜面へ塗抹、一夜培養後はゴム栓をして室温に保存、その後3日以内に斜面培養から直接ブイヨン培養を行なって、Gillies-Govan と Darrell-Wahba の両ピオシン型別法(G法、W法)を同一日に併行して実施する方針で本実験を行なった。4報の第1、2実験を終了するのに先立って集落の選択を開始し、その第3実験までの約3週間に供試菌株を4群にわけて型別した。この際使用した指示菌は、第1群の型別に当っては使用当日 la 型集落単個を選んでその用に供し、第2群以降の型別には、同時にその集落の一部より普通寒天斜面に培養、翌日ゴム栓をして室温に保存したのから、必要に応じて直接ブイヨンに4時間培養して用いた。

G法では供試142株のうち120株がその型別表に示されたいずれかの型に該当し、その型別結果は表1に示したように、1型41株、10型26株、3型20株、非産生8株、5型7株、6型6株、22型と29型それぞれ3株、11型2株、2型、4型、9型、23型各1株であった。残る22株は表2のようにG法の型別表に見出されない15種の指示菌発育阻止パターンを示し、型別不能として整理されるべきものであった。この型別不能株の割合は142株対22株であり、1報のヒト血液使用による126対7、ウシ血液による143:10または126:9に比較するとかなり多いが、2報で供試の121株のうち1/10型を含む101株を型別可能と考え、再現性はあるが型別表にみられないパターンを示した3株と再現性なかった17株とがこれに該当するとみなすと、121:20であって今回の割合が特に高いとはいえない。今回の成績は方法の項に記したように、ウマ脱セイ血液加培地で全株を型別した第1回成績であるので、個々の

Table 1. Pyocine types obtained by Gillies-Govan method of the first experiment

Types	Strains				
	8	10	11	30	31
	34	38	39	42	43
	44	45	48	51	54
	55	61	70	86	88
1	89	95	96	99	100
	104	107	112	114	125
	126	127	132	133	138
	147	149	154	155	157
	158				
2	69				
	6	7	16	23	24
	32	36	46	71	77
3	80	90	93	109	121
	129	137	140	145	150
4	37				
5	13	15	26	64	83
	91	153			
6	72	79	94	105	106
	134				
9	52				
	2	3	4	5	29
	33	35	40	41	53
10	58	59	63	65	76
	78	84	87	102	123
	128	130	135	136	139
	146				
11	22	111			
22	18	19	108		
23	50				
29	103	141	159		
NT	12	20	28	110	122
	124	142	148		

株について1, 2報の成績と比較することは保留し, 緒言でふれたように, 別報に示す予定の同一培地使用による成績との間で比較を行なった後に改めて検討を加えることとする。

W法によって得られた成績は, 同法型別表(古川, 1970の表1)に示された指示菌発育阻止パターンをとった株が極めて少ないので, 型としての取りまとめは余り意味がないことと, いずれ3報の成績をも含め各株についての成績再現性を検討する予定であることを

Table 2. Unclassifiable patterns observed by Gillies-Govan method of the first experiment

Strains		Patterns	
	9	+ - + + + - - +	
	14	+ - + - - - - -	
17	49	62	+ + + - + + + +
66	101	152	- - + - - + - -
	21		+ + - + + - + +
	27		- + + + + - + +
	56		- - + - - + + -
	57		- + + - + + + -
	74		- - + - - - + +
	75		+ + + - - + + -
	85		- + + - + - - -
97		151	- + - - + - - +
	98		+ + + - - - - -
	113		+ + + - + - + +
143		144	+ + + + + - - -
	156		

Table 3. Patterns observed by Darrell-Wahba method of the first experiment using the strains shown in Table 1 of the third report

Strains	Patterns (Types)	
27	+ + + - + + + - + + - -	
38	+ + + - + + + - + + - +	
43	+ + + - + + + - - + - - (B2)	
44	+ + + - + + + - - + - + (B1)	
48	+ + + - + + + - + + - -	
61	+ + + - + + + - + + - +	
70	86	+ + + - + + + - - + - + (B1)
100		+ + + - + + + - + + - +
102		+ + + - + + + - + + - -
112		+ + + - + + + - - + - + (B1)
132		+ + + - + + + - - + - + (B1)
156	157	+ + + - + + + - + + - +

考慮した結果, 3報の表1, 表3, 4, 5, 7, 8, 表10, 12, 表13で示した菌株順に配列し, 表3-6とすることにした。以下にはこの成績を指示菌発育阻止パターンにより整理してみることにする。型別表の型に合致するのは26株であり, 各型を示す菌株数と個々の株

Table 4. Patterns observed by Darrell-Wahba method of the first experiment using the strains shown in Tables 3, 4, 5, 7, 8 of the third report

Strains	Patterns
2 3	+ + - - + + + - + + - -
4 5 41	+ + - - + + + - + + - +
58	+ + - - + + + - + + - -
65	+ + - - + + + - + + - +
123	+ + - - + + + + + + - +
135	+ + + - + + + - + + - +
136	+ + - - + + + - + + - +
42	+ + - + + + + - + + - -
62	+ + + + + + + + + + - -
78	+ + - + + + + - + + - +
101	+ + + + + + + - + + - +
143	+ + - + + + + - + + - -
144	+ + - - + + + - + + - -
66 74	+ + - - + + + - + + + -
146	+ + - - + + + - + + + +
152	+ + - - + + + + + + - -
77	+ - + + + - + - + + - -
80 94	+ - + + + + + - + + - -
104	+ - + - + - + - + + - -
106 107	+ + + + + + + - + + - -
109	+ - + - + - + - + + - -
121	+ - + + + + + + + + - -
129 140	+ - + - + - + - + + - -
145	+ - + + + - + - + + + -
6 7	+ - + - + - + - + + - -
16 24	
32	+ - + + + - + - + + - -
99	+ + + - + + + - + + - +

Table 5. Patterns observed by Darrell-Wahba method of the first experiment using the strains shown in Tables 10, 12 of the third report

Strains	Patterns (Types)
9 17	+ + + - + + + - + + - -
30 31	+ + + - + + + - + + - +
33	+ + - - + + + - + + - +
34 51	+ + + - + + + - + + - +
98	+ + + - + + + - - + - + (B1)
126	+ + + - + + + - + + - -
147	+ + - + + + + - + + - +
154	+ + + + + + + - + + - +
96	+ + + - + + + - - + - + (B1)
97	+ + + - + + + - - + - - (B2)
76	+ + + + + + + - - + + +
87	+ + - - + + + - + + - +
133	+ + - - + + + - - + - -
15	+ - - - - - - - - + - -
110	- - - - - - - - - - - - (NT)
122	- - - - - - + - - - - + - - (L)
151	+ + + - + + + - - + - - (B2)
103	- - - - - - - - - - - + -
21	- - - - - - + - - - - + +
22	+ - - - + - - - - - - + +
69	- + - - + + + - - - - -
75	+ - + + - + - - - - - -
142	- - - - - - - - - - - - (NT)
148	- - + - - - - - - - - -

番号を表示の順に列記すると、B1型11株：No. 44, 70, 86, 100, 132, 98, 96, 45, 138, 149, 127, B2型5株：No. 43, 97, 151, 55, 89, B3型1株：No. 130, L型6株：No. 122, 83, 91, 50, 153, 141, 非産生5株：No. 110, 142, 28となる。残る116株では、表3のNo. 27と同じパターンを示すものが計9株：No. 48, 112, 9, 17, 126, 54, 134, 88, 同表No. 38の型20株：No. 61, 102, 156, 157, 135, 99, 30, 31, 34, 51, 37, 11, 8, 10, 40, 39, 158, 63, 155, 表4 No. 2の型4株：No. 3, 58, 144, 同No. 4の型8株：No. 5, 41, 65, 136, 33, 87, 56; 同No. 101の型4株：No. 154, 29, 114, 同No. 77の型4株：No. 32, 93, 46, 同

No. 104の型11株：No. 109, 129, 140, 6, 7, 16, 24, 150, 23, 137, 同No. 106の型4株：No. 107, 79, 105と8種が4株以上の示すパターンで、3株ずつのものとしてNo. 66, 74, 49, (表4, 6), No. 80, 94, 90 (表4, 6), No. 84, 139, 35 (表6), No. 52, 159, 26 (表6)の4種、2株が属するのはNo. 123, 53 (表4, 6), No. 42, 143 (表4), No. 78, 147 (表4, 5), No. 121, 59 (表4, 6), No. 103, 57 (表5, 6), No. 108, 18 (表6), No. 71, 72 (表6)の7種となつて、さらに残る26株はそれぞれ異なるパターンを示している。結局型別表に含まれる5種の型のほかに、複数株が示す19種と各1株の示す26種、計50種の指示菌発育阻止パターンがみられる。このW法の成績は使用培地の変更もないので3報との間で再現性の検討を行ない得るが、G法に合わせて別報で検討を加えることにする。

Table 6. Patterns observed by Darrell-Wahba method of the first experiment using the strains shown in Table 13 of the third report

Str.	Patterns, Types	Str.	Patterns, Types	Str.	Patterns, Types
84	++++++-++++	13	+---+-----	85	-+-+-----+
29	++++++-++++	39	++++-+++-++	111	+-----++-----
139	++++++-++++	45	++++-+++-++ ,B1	113	+-----+-----
20	-+-----	95	++++-+++-++	137	+--+--+--+--+
108	+--+--+--+--+	158	++++-+++-++	155	++++-+++-++
37	++++-+++-++	49	+--+--+--+--+	14	+--+-----
53	+--+--+--+--+	63	++++-+++-++	125	++++-+++-++
79	++++++-++++	54	++++-+++-++	128	++++++-++++
11	++++-+++-++	134	++++-+++-++	159	-----+---
19	+--+--+--+--+	138	++++-+++-++ ,B1	57	-----+---
59	+--+--+--+--+	56	+--+--+--+--+	64	+--+-----
90	+--+--+--+--+	114	++++++-++++	83	-----+----- ,L
93	+--+--+--+--+	149	++++-+++-++ ,B1	91	-----+----- ,L
130	++++-+++-++ ,B3	12	+--+--+--+--+	124	-+-+-----
150	+--+--+--+--+	18	+--+--+--+--+	26	-----+---
8	++++-+++-++	36	+--+--+--+--+	28	-----+----- ,NT
10	++++-+++-++	55	++++-+++-++ ,B2	50	-----+----- ,L
23	+--+--+--+--+	88	++++-+++-++	153	-----+----- ,L
46	+--+--+--+--+	89	++++-+++-++ ,B2	141	-----+----- ,L
40	++++-+++-++	105	++++++-++++		
71	++++-+++-++	127	++++-+++-++ ,B1		
72	++++-+++-++	35	++++++-++++		
		52	-----+---		

Table 7. Pyocine types of the strains showing no differences between colonial types by Gillies-Govan method of the second experiment

Types	Strains				
	2	9	17	33	40
1	56	58	62	97	98
	99	101	102	106	156
3	36				
6	72	94			
	3	29	49	66	74
10	123	128	136	152	
11	113				
16	75				
22	18				
29	13	15	52	153	
31	12				

第2実験：前実験の終了直後に実施された4報第3実験の結果として、指示菌の集落型が型別成績に対して被験菌側のそれ以上に影響することが判明した。同実験は両型別法指示菌にG法型標準の2株を加えたものを産生菌にも利用することによって実施されているので、分離株においてその集落型の差がどの程度ピオシン型別成績に影響するかを検討する目的で本実験を行なった。すなわち供試菌を普通寒天平板に分離し、明らかに1a型とsm型集落が認められた場合、それぞれの単個集落よりブイオン培養して被験株とし、指示菌については毎回それを必要とする前日に普通寒天平板に分離し、当日1a型集落単個をとってブイオンに4時間培養したものを使用することとし、両法ピオシン型別を個々の菌株については同一日に併行して実施した。供試菌142株のうち1回の平板分離で明らかに集落型の解離がみられたのは54株であったので、延べ108株の型別を行なった。

G法の成績で、両集落型それぞれの産生ピオシンに指

Table 8. Results of the strains showing differences between colonial types by Gillies-Govan method of the second experiment

Str.	Patterns	Types (la : sm)
4	s++++-+s	uc : 1
14	+++l+s+l	1 : 22
19	+++l++++-	33 : 22
20	+++-+s+-	3 : 22
21	l-+---++-	uc : uc
22	l+---s+-	11 : uc
41	+++++s++	1 : 10
50	l+---l-	35 : 29
53	+++++s++	1 : 10
59	+++++l	10 : 33
63	++++-++	10 : 1
65	+++++s++	1 : 10
87	l l l l l l + 1	10 : 31
103	-+-+--+s-	uc : uc
104	+++++--+l	1 : 6
105	++l+--+l+	1 : 12
127	+++++--+s	6 : 1
143	+++++--+l	1 : 6
150	+++s+--+	3 : 6

l and s in "Patterns" indicate that inhibition was observed by la and sm types.

示菌発育阻止パターンの差がみられなかったのは被験54株のうち35株であって、その判定結果は表7に示したように、1型15株、10型9株、29型4株、6型2株、3型、11型、16型、22型、31型それぞれ1株であった。残る19株では表8のように集落型によって産生ピオシンの作用域が異なっていた。その差異点は19株のうち13株までは指示菌のいずれか1株に対する阻止の有無であり、他は No. 4, 22, 50, 105で2指示菌、No. 14で3指示菌に対してであり、残るNo. 87では la 型で全指示菌を阻止したのに対して sm 型では1指示菌と極端な差がみられた。この1株を除けば la 型菌側のみに阻止があったのが13, sm 型菌側のみが11で、集落型と指示菌発育阻止範囲の間に特に関係は見出されない。また型別表に含まれていないパターンを集計してみると、la 型菌、sm 型菌ともに3株と同数であった。

W法によって得られた成績のうち、両集落型間に差が認められなかった29株について、表3-6の菌株順に指示菌発育阻止パターンを示したのが表9である。

Table 9. Patterns obtained by the strains showing no differences between colonial types in Darrell-Wahba method of the second experiment

Strains	Patterns (Types)
102 156	+++--++++-++-
2 3	
41 58	+-+--++++-++-
65 136	
62	+++++-----
101	+++++-----
66 74	
152	+-+--++++-++-
94	+--+-----
106	+--+-----
17	++++-++++-++-
15	+--+-----
21 22	+--+-----
19	+--+-----
40	++++-++++-++-
49	+--+-----
63	+--+-----
18	+--+-----
105	+++++-----
127	++++-++++-++- (B 1)
113	+--+-----
128	+--+-----
153	-----+----- (L)

The arrangement of strains is the same as that in Tables 3-6.

No. 127がB1型、No. 153がL型と型別されたのみで、No. 102, 156, 17, 40, No. 2, 3, 41, 58, 65, 136, No. 101, No. 66, 74, 152, No. 106, No. 19, No. 63, No. 105は前実験で複数株が示したパターン(それぞれ前実験のNo. 38, 4, 101, 66, 80, 121・59, 123・53, 106の型)をとり、残る9株のうちNo. 62, 94, 15, 49, 113は前回1株ずつが示した26種のうちそれぞれNo. 128, 36, 13, 146, 111と同じパターンで、今回は同一の発育阻止域を示したNo. 21と22, およびNo. 18, No. 128は前回にはみられなかったパターンを示していた。一方集落型によってその産生ピオシンの作用域が異なった25株の成績は上記と同じ配列規準で表10に示した。この成績を各株について集落型間に差があった指示菌の数としてみると、1指示菌が10株 : No. 123, 104, 99, 9,

103, 29, 53, 150, 72, 36, 2 指示菌 7 株 : No. 4, 143, 33, 98, 97, 56, 50, 3 指示菌 5 株 : No. 20, 59 13, 12, 52, 5 指示菌 1 株 : No. 87, 6 指示菌 2 株 : No. 75, 14 となる。また差異点として la 型側のみで指示

菌発育阻止のあったのが 19, sm 側のみが 37 であって、たとえ sm 型側のみで 6 指示菌に差のあった 2 株を除いても 25 となり、sm 型菌による広い作用域の傾向がうかがわれた。

考 察

本報に示したのは、3 報までにも使用してきた分離菌 142 株に対する Gillies-Govan 法と Darrell-Wahba 法両ピオシン型別の併行実施による初回の成績と、そのうち 54 株を対象にそれぞれの la 型と sm 型集落単個によって産生されたピオシンの各法指示菌に対する作用域を、両型別法を同時に行なって比較した結果とである。既述のように指示菌に関しては、第 1 実験が 4 報第 3 実験に先立つて行なわれたため、その第 1 群の型別には新鮮な la 型集落を、第 2-4 群にはその集落の一部を斜面に保存したものを、いずれもブイオン培養して用いたのに対して、第 2 実験に際しては当日確認した新鮮 la 型集落からブイオン培養して用いるとの方針を適用したので、両型別法ともに完全な意味では同一条件下にあったとはいえない。また今回の供試菌株については、数カ月後に上記最終方針のもとで再度の型別が実施されている。そこで再現性の検討はその成績の提示後に行なうこととし、以下には集落型による産生ピオシンの差について考察を加える。

供試 142 株のうち単なる普通寒天平板分離法で sm 型集落が解離したのは 54 株であった。表 7-10 によると、この 54 株のうち G 法で 35 株、W 法で 29 株は集落型間で産生ピオシンの作用域には差がみられず、両型別法いずれでも差異を示さなかったのが 21 株(表 9 の順に No. 102, 156, 2, 3, 58, 136, 62, 101, 66, 74, 152, 94, 106, 17, 15, 40, 49, 18, 113, 128, 153)、両法を通じて差があったもの 11 株(表 10 の順に No. 4, 143, 104, 87, 103, 20, 53, 59, 150, 14, 50)、G 法のみで差を示したのが 8 株(表 8 の No. 19, 21, 22, 41, 63, 65, 105, 127)、逆に W 法に限り差があったものが 14 株(表 10 の No. 123, 99, 9, 33, 98, 97, 75, 29, 72, 13, 56, 12, 36, 52)となる。一方 4 報表 7-10 に示した成績のうち、産生菌側の la 型、sm 型集落によって産生されたピオシンの la 型指示菌セットに対する阻止域をみると、その供試 11 株のうち G 法で差がなかったのは G1, G4, G7, Ty. 1, W1, W9, W10, W12 の 8 株であり、W 法ではそのうち G7, W10 を除

く 6 株、W 法に限り差があったのがこの 2 株となって、両法を通じて差を示しているのが未記述の G2, G3, Ty. 16 である。これらの成績を総合すると、供試 65 株のうち G 法で 43 株、W 法で 35 株には差がなく、両法で

Table 10. Patterns obtained by the strains showing differences between colonial types in Darrell-Wahba method of the second experiment

Str.	Patterns (Types)
4	++--+++++s-
123	++s-+++++--
143	++-s++++-s
104	+-+s++++-
99	+++--++++s+
9	+++l++++-+
33	++l-+++++s+
98	+++s++++-s+(1:B1)
97	+++l++++-s+
87	+l l-+++++l-l
103	++-+-s---+-
75	s s s s -s---s---(1:NT)
29	+++l+++++--+(1:A2)
20	+l+++++s+-s
53	++-s+++++--
59	+s+s+l++++-
150	+s-++++-+-
72	+++-+l+-+-
13	+s s++++-+-s
56	+++-+++++l s
12	+l---l+-+l---
36	+-+--+l-+-
52	----+s+s+s+-
14	s-s s s+s+s+-
50	-l---+-l+-

l and s are the same as that in Table 8.

The arrangement of strains is the same as that in Tables 3-6.

差なしが27株、共に差あり14株、G法のみで差あり8株、W法にのみ16株となつて、W法ではG法におけるよりも高頻度に集落型による産生ピオシン間に作用域の差がみられている。

以上ではW法の指示菌数がG法に比して多いことを考慮していないので、3報でも利用した Zabransky and Day (1969) の判定法に準じて、W法の指示菌のうちW1-W8までの成績で整理を行なつてみる。これによると本報の表10のうちNo.4, 99, 56の3株が集落型間に差がなかったものとして追加されるのみで、結局差異を認めなかったのはG法で43株、W法で38株、いずれかの型別法のみで差を示したのがG法8株、W法13株となつて、やはりW法での高率を支持している。

一方G法で差がみられた19株では、表8のようにその差異点が31カ所であるのに対して、W法では表10の25株で56カ所、指示菌W1-W8の範囲でみても39カ所である。さらに前項でも利用した4報の成績をみると、G法(表8)でG2の2カ所、G3の3カ所、Ty.16の1カ所、W法(表10)でG2、G3、G7、Ty.16の各2カ所、W10の1カ所、これを指示菌8株としてみるとG7のみが1カ所減少となり、これを集計するとG法は3株6カ所、W法で5株9カ所または8カ所となる。結局両成績を通じてみると、G法が22株37カ所に対してW法では30株65カ所または47カ所となつて、前項と同じくG法よりもW法により多く型別成績に対する集落型の影響が認められる。

ついで同じ菌株群について両集落型により産生され

たピオシンの作用域をその広さの面から整理すると、G法では4報表8のG2、G3、Ty.16対1a型指示菌の場合いずれもsm型産生ピオシンが1a型に比して広域であるが、本報表8の19株では1a型の広域が10株(No.14, 19, 21, 50, 59, 63, 87, 104, 105, 143)、No.22は阻止パターンは異なるが阻止された指示菌数は同数、従つてsm型での広域が残る8株(No.4, 20, 41, 53, 65, 103, 127, 150)となつて、この程度の差では集落型と作用域の間に一定の傾向があるとはいえない。一方W法では4報表10のG2、G3、G7、Ty.16、W10と1a型指示菌の成績をみると、G2、G7、W10ではsm型の広域、Ty.16は同数、G3のみが1a型での広域であり、本報表10の25株では1a型側での広域が7株(No.9, 87, 29, 72, 12, 36, 50)、同数3株(No.33, 97, 56)、sm型での広域15株(No.4, 123, 143, 104, 99, 98, 103, 75, 20, 53, 59, 150, 13, 52, 14)となる。W法全体としてみると30株がsm型での広域18株、同数4株、1a型の広域8株となり、sm型での広域傾向がうかがわれる。これを指示菌W1-W8の部分のみとしてみると、No.4, 99, 56は集落型による差異なしで対象外となり、No.33, 97が同数より1a型での広域、No.20がsm型の広域より同数へと変るのみで、前報での対象株を含む27株はsm型での広域15株、同数2株、1a型の広域10株となつて、W法においてはsm型菌の産生するピオシンの作用域が1a型菌の場合に比して広い場合が多い傾向にあるといえる。

結

論

1) 供試142株の第1回両型別法併試による結果としては、G法では29種の指示菌発育阻止パターンがみられ120株が型別表にある13の型と合致したのに対して、W法では50種のパターンを示し26株が原表の5種と判定されたにすぎなかった。

2) 同じ142株のうち1回の平板分離で1a型に混じてsm型集落を解離したのは54株であった。

3) この54株のうち33株ではそれぞれの1a型とsm型集落によって産生されたピオシンの間に指示菌発育

阻止パターンの差がみられ、前報の知見に加えて分離株でもその確認がなされたこととなる。

4) 33株のうち両型別法を通じて差を示したのが11株、G法のみで8株、W法のみが14株でG法に比してW法での差異出現は高率である。

5) W法ではsm型菌産生ピオシンの作用域が1a型菌のそれに比して広い場合が多かったが、G法では1a型菌側で広い場合と同程度にみられた。

文 献

- 1) Darrell, J. H. and Wahba, A. H. : Pyocine-typing of hospital strains of *Pseudomonas pyocyanea*. J. Clin. Path., 17 : 236-242, 1964.
- 2) 古川弘明 : 呼吸器疾患患者, 特に結核患者喀痰より分離した緑膿菌のピオシン型別, 長崎医学会誌, 45 (8・9) : 515-528, 1970.
- 3) Gillies, R. R. and Govan, J. R. W. : Typing of *Pseudomonas pyocyanea* by pyocine production. J. Path. Bact., 91(2) : 339-345, 1966.
- 4) 本間遜, 金桂守, 伊藤晶子, 山田紘子, 塩野谷博, 河部靖 : 緑膿菌の血清型別と院内感染, 日細菌誌, 25 (8) : 379-389, 1970.
- 5) 内藤達郎, 岩永祥子, 齊藤厚, 那須勝 : 緑膿菌のピオシン型別に関する研究 I. Gillies-Govan 法における培養条件の検討, 感染症学雑誌, 45 (10) : 427-434, 1971.
- 6) 内藤達郎, 福原秋子, 岩永祥子 : 緑膿菌のピオシン型別に関する研究 II. Gillies-Govan 法における再現性と交叉試験よりみた型の独立性の検討, 感染症学雑誌, 45 (11) : 481-489, 1971.
- 7) 内藤達郎, 岩永祥子, 小浦正昭 : 緑膿菌のピオシン型別に関する研究 III. Darrell-Wahba 法適用による諸経験, 熱帯医学, 14 (1) : 1-9, 1972.
- 8) 内藤達郎, 小浦正昭, 岩永祥子 : 緑膿菌のピオシン型別に関する研究 VI. 型別法2種を併用しての培地の検討および集落型の差によるピオシン産生性と感受性, 熱帯医学, 14 (2) : 71-85, 1972.
- 9) 塩野谷博, 本間遜 : 緑膿菌集落の解離, 日細菌誌, 23 (5) : 332-342, 1968.
- 10) Zabransky, R. J. and Day, F. E. : Pyocine typing of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Microbiol., 17 (2) : 293-296, 1969.