

胆汁酸の微生物学的分解

(XV) 胆汁酸を分解する一土壤菌について

岡山大学医学部生化学教室 (主任: 水原舜爾教授)

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村上 栄教授)

藤 井 孝 郎

〔昭和 32 年 8 月 2 日受稿〕

1. 結 論

著者は前報¹⁾に於て、家畜屠殺場の内臓殊に胆嚢及び膀胱を乾燥する土壤より、cholic Acid を含む合成培地に良く発育を示し、而も cholic acid-oxidizing Organism として一桿菌を分離して実験を行つた。本編では、該分離菌の生物学的性状を検討し、細菌学分類上如何なる菌群に属するかを決定せんとして、Bergey²⁾の成書に従つて本研究を行つたのでその大要を報告する。

2. 実験材料及び方法

実験に用いた菌の分離には、家畜屠殺場附属の屠殺家畜類の内臓殊に胆嚢及び膀胱を乾燥する干場の一隅の土壤を採取して行つた。

即ち予め準備した合成培地³⁾ (cholic acid 2.0g. K_2CO_3 0.6 g. $(NH_4)_2 SO_4$ 2.0g. K_2HPO_4 1.0g. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g. $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.01g, dis. Water 1.000ml) に採取した土壤を少量宛投じ、37°C 孵籠中に収め、培養を行い一定時期にとり出し、前記合成培地に寒天を添加した固形培地に塗布して、多数の集落中より本菌の純培養を行い、普通寒天斜面に培養保存、以後の実験には原株として使用した。

3. 実験成績

1) 形態及び一般性状。

合成培地を用いて分離し、先に実験に供した本菌は、グラム染色陰性で、運動性を有し

ていて、(鞭毛染色により周毛性の鞭毛)を証明し得る。その形態は一般に寒天培養若くは、Bouillon 培養に於ても、差異は尠く、短桿菌で細長、両端は鈍円型である。

芽胞、莢膜はない。普通染色にても、Neisser染色を行つても顆粒若くは両端濃染等の傾向は認められない。分離当時よりの培養に於ける形態と大きな差異は見られない。

普通寒天培養後室温に放置するも約30日間は生存する。耐熱度に就ても 60°C 5~10 分の加熱により死滅する。諸種の動物の血液に対する溶血性は見られず、Gelatine, Löffler 培地等に於ては蛋白質凝固作用は陰性で培養後長時間に於ても液化作用は認められない。北里, Salkowski 法による Indol 反応は陰性を示し、鉛糖紙法による Bouillon 培養では、 H_2S の産生はない。

リトマス牛乳に於ては凝固を起さず消化作用はなく、アルカリに移行後酸性となるのが見られる。Glucose 加高層培地では穿刺線に沿い様に発育を呈する通性嫌気性の状態を示した。カタラーゼ反応は陰性であつた。その性状を表示すれば第一表の如くである。

(第一表)

2) 培養性状。

本菌は普通寒天培地に良く発育し、24時間培養によりて直径 0.5~2mm の露滴状透明又は半透明であつて円形に隆起し、一種の光輝ある少々乾燥性の集落を形成する。軽度の螢光性を帯びるも粘稠性は見られない。

普通 Bouillon に於ては24時間培養で旺盛

第1表 分離菌の形態及び一般性状

グラム染色	陰	性
形態	桿	菌
芽胞	な	し
莢膜	な	し
運動	有	り
色素の産生	良く発育, ナンゴ色	
赤血球に対する作用	-	
色素の還元	-	
カタラーゼ	+	
硝酸塩の還元	-	
糖類の分解	ガスの産生	-
	酸産	酸性
	の生	1%Glucose 1%Lactose アルカリ
アンモニアの産生	-	
ゼラチンの液化	-	
インドールの産生	-	
硫化水素の産生	-	
リトマス牛乳	凝固消化なし, アルカリとなり後酸性となる	
酸素と発育	通性嫌気性	

な発育を営み、強く潤濁し多量の沈澱物を認める。液面に薄い菌膜を形成する。

Gelatine 培地では 22°C 孵籠内に於ては少々発育が遅延するが、3~5日にして極めて不整形にして周辺不正の集落を形成する。液化性は認めない。

血液、血清、腹水等の添加により発育は良好となるのが認められた。

合成培地上に於ける発育状態を見るに、大略不正楕円形にして、直径 0.2~0.5mm の集落を形成し、発育は比較的良好である。

(第二表)

3) 含水炭素分解作用 基礎培地として1% pepton 水に標示薬として B. T. B. を用い、各種炭水化物を1%に添加して滅菌したものに、分離菌を培養し、特に Glucose 及び Lactose に就ては pH 測定器にて pH の移動を検し

第2表 分離菌の培養性状

平板表面の集落	
外形	不正円, 楕円型
大きさ	直径 0.5~2mm
隆起	少々レンズ型, 円型
表面	平滑
辺縁	隆起はない
色	透明な帯褐色の色調
透明度	透明~不透明
硬度	乳剤になる
臭気	少々有り
合成培地平板表面の集落	
外形	不正円, 楕円型
大きさ	直径 0.2~0.5mm
隆起	多少隆起す
表面	平板と同じ
辺縁	〃
色	無色に近い(時間が経つと少々着色)
透明度	透明
硬度	乳剤になる
臭気	なし
ゼラチン平板	
色	黄味がかつた肌色
形態	周辺, 不整形
液化	なし
液体培地(ブイヨン)	
発育程度	旺盛
潤濁	強く潤濁
沈澱	粘性の膜が沈澱している。振盪しても容易に溶解しない
表面の発育	表面に白膜を生ず。
臭気	少々有り

た。其の結果 Glucose には分解して酸の形成が見られ、培養10日に於ける pH は、6.15を示すに至るが、Lactose は10日に於ても酸

第3表 Glucose 及び Lactose 加 Pepton 水に於ける pH の移動

	培養前	1	2	3	5	6	7	8	9	10	
Glucose	7.0	7.15	7.35	7.45	6.6	6.2	6.5	6.4	6.35	6.15	+
Lactose	7.4	7.68	8.4	8.5	8.35	8.5	8.5	8.51	8.35	8.5	-

第4表 含水炭素分解試験

日	1	2	3	4	5	6	7
アラビノゼ	-	-	-	-	-	-	-
フルクトーゼ	-	-	-	-	-	-	-
ガラクトーゼ	-	-	-	-	-	-	-
マンノーゼ	-	-	-	-	-	-	-
サッカローゼ	-	-	-	-	-	-	-
マルトーゼ	-	-	-	-	-	-	-
ラフィノゼ	-	-	-	-	-	-	-
デキストリン	-	-	-	-	-	-	-
イヌリン	-	-	-	-	-	-	-
ドルシット	-	-	-	-	-	-	-
マンニット	-	-	-	-	-	-	-
ザリチン	-	-	-	-	-	-	-

の形成はなく pH はアルカリ域に移行する。(第三表)

他の含水炭素を含有した pepton 水では、良く菌の発育は見られるに拘らず、等しく分解作用はないことが認められた。(第四表)

4) マウスに対する病原性

本菌の食塩水浮游液を経口及び腹腔内に投与若くは接種を行つて見たが、本菌によりての感染及び発症例は一例も認められなかつた。

4. 総括及び考按

合成培地を用いて分離した一桿菌の形態、

主 要 文 献

- 1) T. Fujii · J. Biochem., 44, 383 (1957)
- 2) Bergey's : Manual of Determinative Bacteriology, P. 388 (1948)
- 3) S. Hayakawa: Proc. Japan Acad., 30, 128 (1954)

培養及び一般性状に就て実験を行い所見を得た。

本菌の生物学的性状に於ては、グラム染色陰性の短桿菌にして、形態は桿状をなし、糖分解作用は、Glucose のみ分解して酸を形成するが、他の糖類は分解しないし、Gelatine 液化性は見られない点より考えれば、Pseudomonadaceae を想起せしめるが、色素形成能を欠ぎ、寧ろ Enterobacteriaceae に於ける Glucose 分解能のない群に相似した性状を有していることが指摘されるのである。

本菌が病原性を欠ぐとは云いながら、多くの動物に寄生して、多少の病原性を発揮するものとも考えられるが、マウスの感染実験ではその病原性を証明出来なかつた。

5. 結 論

分離した本菌の生物学的性状より考察して大略 Enterobacteriaceae に属する細菌であると推測された。

Enterobacteriaceae に属する *Erwinia rhapontici* と同一の菌と断定することは容易に出来ないが、その性状は極めて類似していることが指摘された。

Microbiological Degradation of Bile Acids**XV. Identification of a soil Bacterium isolated from a slaughter-yard.**

By

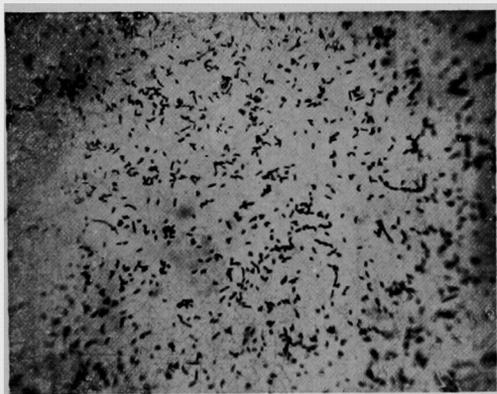
Takao Fujii

(From the Departments of Biochemistry and Bacteriology, Okayama University
Medical School, Okayama)

A Gram-negative bacterium which was isolated from the soil of a slaughter-yard and was able to degrade cholic acid has been identified to be quite similar to *Erwinia rhapontici*.

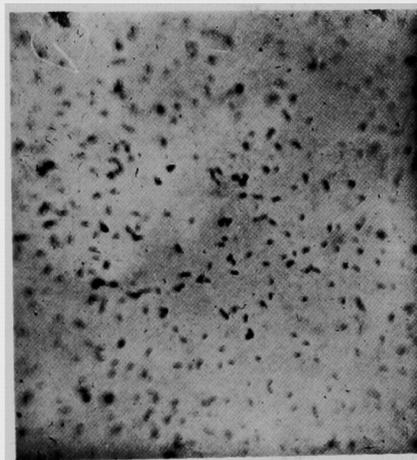
藤井論文附図

附図1.



ブイヨン (24時間)

Bouillon 培地

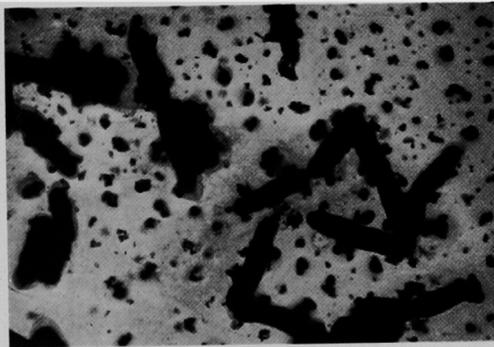


平 板

附図2.



Bouillon 培地 (24時間)



Bouillon 培地 (28時間)



平 板 (24時間)



Bouillon 培地 (28時間)

附図1. 顕微鏡写真倍率900倍. 附図2. 電子顕微鏡写真倍率5000倍