

新たに開発された羊血液寒天培地の検討

石松 昌己、河口 豊、田村 昌代、濱野 政弘、黒川 幸徳

川崎医科大学附属病院 中央検査部

目的

新たに開発された羊血液寒天培地(極東製薬工業; 以下羊血寒)の主要グラム陽性球菌に対する発育性およびコロニー性状を検討した。

対象および方法

1. *S. pneumoniae*、*S. pyogenes*、*S. agalactiae*、*S. aureus* の各 ATCC 株についてコロニー性状、溶血性および CAMP test の確認を行った。
2. *S. pneumoniae* の臨床分離菌株 38 株について、コロニー性状、胆汁溶解試験、オプトヒン試験、*M. catarrhalis* 混在時の発育への影響、および 24・48・72 時間培養後の生残数について評価した。
3. *S. aureus* の臨床分離菌株 20 株(MSSA 10 株, MRSA 10 株)について、コロニー性状および溶血性について評価した。
4. 臨床材料を用いて、分離培養での発育菌叢について評価した。
5. 検討培地として、羊血寒、A 社培地(以下 A 社)を用い培養は全て 35℃、9% CO<sub>2</sub> 培養で行った。

結果・まとめ

ATCC 株によるコロニー性状 (Table. 1 参照)

1. *S. pneumoniae* は、48 時間培養後の結果で、A 社では明瞭な自己融解を認めなかったが、羊血寒では 2.5mm の明瞭な自己融解を認めた。コロニー直径は、24・48 時間培養後のいずれも羊血寒の方が 1 mm 大きくなった。
2. 溶血環直径は、*S. pyogenes*、*S. aureus* では 24・48 時間培養後のいずれも羊血寒の方が大きくなった。
3. コロニー直径は、*S. pyogenes* において 24・48 時間培養後のいずれも羊血寒の方が 1 ~ 1.5 mm 大きくなった。
4. *S. agalactiae* において、CAMP test ではいずれの培地でも明瞭な矢尻様の溶血を認めた。

*S. pneumoniae* 臨床分離菌株のコロニー直径 (Fig. 1 参照)

A 社に比べ羊血寒の方が 24 時間培養後で 0.5 ~ 1.5mm 大きく、48 時間培養後で 0.5 ~ 2.5mm 程度より大きなコロニーを形成した。また、コロニー直径平均値でみると A 社に比べ羊血寒の方が 48 時間培養後で有意に大きなコロニーを形成した。

*S. pneumoniae* 臨床分離菌株の自己融解明瞭度 (Fig. 2 参照)

24 時間培養後で明瞭度 2+ を示したものは、A 社で 3%、羊血寒で 24% であった。また、48 時間培養後でも 2+ を示したものは、A 社で 24%、羊血寒で 50% であった。

*S. pneumoniae* 臨床分離菌株の結果 (Table. 2 参照)

オプトヒン感受性試験では、阻止円直径が 13mm 未満を示したものが A 社と羊血寒ともに 5% 認めた。なお、胆汁溶解試験ではいずれも 100% 陽性であった。

*S. pneumoniae* 臨床分離菌株の 24・48・72 時間培養後の生残数 (Fig. 3 参照)

A 社、羊血寒ともに生残数は経時的に減少を認めたが、平均値でみるといずれの培養時間でも A 社に比べ羊血寒の方が生残数を多く認めた。

*S. aureus* 臨床分離菌株の溶血環明瞭度、溶血環直径、およびコロニー直径 (Table. 3 参照)

MSSA では、A 社と羊血寒いずれも全ての株において明瞭な溶血環を認めた。MRSA では、羊血寒で 1 株溶血環が不明瞭であった。溶血環の直径とコロニー直径では、A 社と羊血寒は同等の結果であった。

臨床材料(喀痰)による、分離培養の発育菌叢 (Table. 4 参照)

分離菌叢の比較では、ほぼ同等の結果が得られた。No.6 は、A 社で *P. mirabilis* の発育を認めたが、羊血寒で発育を認めなかった。また、No.8 では羊血寒のみ *S. pneumoniae* の発育を認めた。

今回検討した羊血寒は *S. pneumoniae* の分離向上に寄与するものと考えられた。

Table. 1 ATCC 株によるコロニー性状

*S. pneumoniae* ATCC6303

自己融解直径 (mm) と明瞭度		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	-	-
48 時間培養後	±	2+; 2.5

コロニー直径 (mm)		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	2.5	3.5
48 時間培養後	3.5	4.5

*S. pyogenes* ATCC19615

溶血環直径 (mm) と明瞭度		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	2+; 4.5	2+; 5.5
48 時間培養後	2+; 5.5	2+; 7.0

コロニー直径 (mm)		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	2.5	3.5
48 時間培養後	3.0	4.5

CAMP TEST

	A 社	羊血寒
24 時間培養後	-	-

*S. aureus* ATCC25923

溶血環直径 (mm) と明瞭度		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	2+; 3.0	2+; 4.5
48 時間培養後	2+; 5.5	2+; 6.5

コロニー直径 (mm)		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	2.5	3.0
48 時間培養後	4.5	4.5

*S. agalactiae* ATCC13813

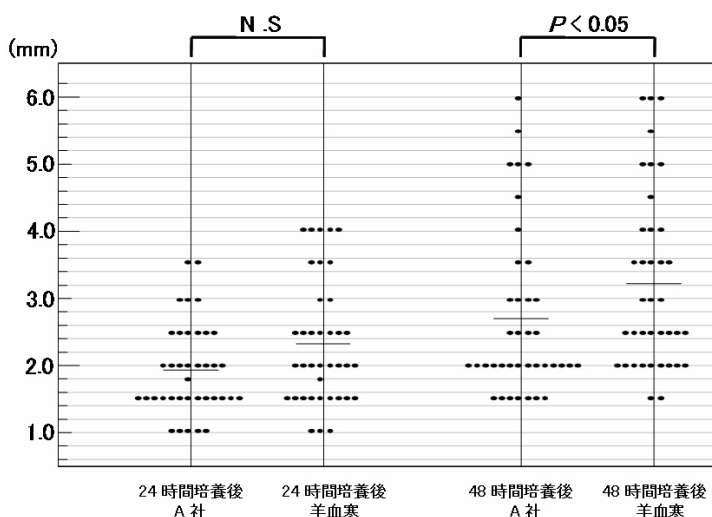
溶血環直径 (mm) と明瞭度		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	+	+
48 時間培養後	+	+

コロニー直径 (mm)		
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	2.0	2.5
48 時間培養後	3.0	3.5

CAMP TEST

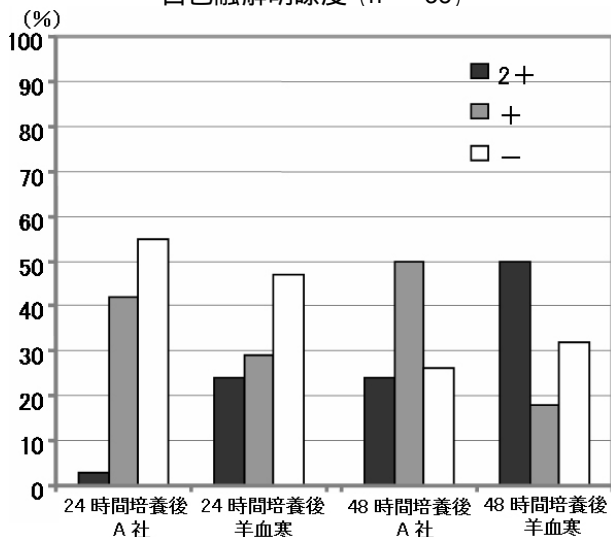
	A 社	羊血寒
24 時間培養後	+	+

Fig. 1 *S. pneumoniae* 臨床分離菌株のコロニー直径 (n = 38)



注) 自己融解の明瞭度: 2+ : コロニーの陥没直径 1mm 以上、+ : 陥没を認めるが直径 1mm 以下、± : 明瞭な陥没を認めないが陥没しなかったもの、- : 陥没を認めない 溶血環の明瞭度: 2+ : 溶血が明瞭、+ : 溶血は認めるが不明瞭、- : 非溶血

Fig. 2 *S. pneumoniae* 臨床分離菌株の自己融解明瞭度 (n = 38)



\*2+: コロニー陥没直径 1mm 以上, +: 陥没を認めるが直径 1mm 以下, ±: 明瞭な陥没を認めないが陥没しなかったもの, -: 陥没を認めないもの

Fig. 3 *S. pneumoniae* 臨床分離菌株の 24・48・72 時間培養後の生残数 (n = 38)

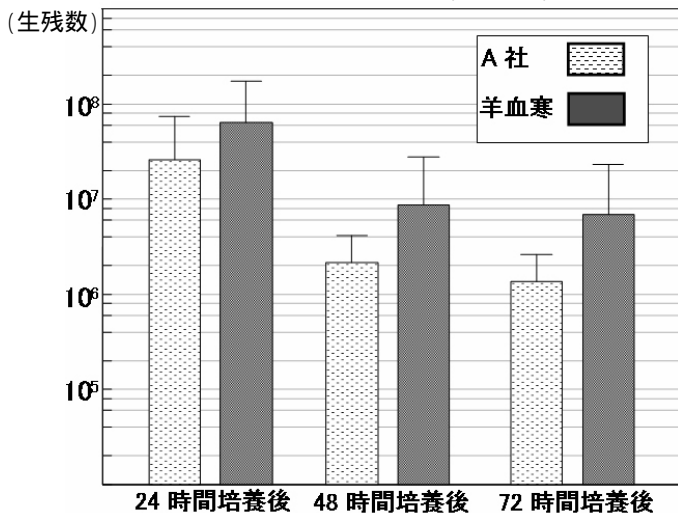


Table. 2 *S. pneumoniae* 臨床分離菌株の結果 (n = 38)

オプトヒン感受性試験

阻止円直径	A社	羊血寒
13mm 以上	95%	95%
13mm 未満	5%	5%

胆汁溶解 TEST

	A社	羊血寒
陽性	100%	100%

*M. catarrhalis* 混在時の *S. pneumoniae* 発育への影響

	A社	羊血寒
24 時間培養後	特になし	特になし
48 時間培養後	特になし	特になし

Table. 3 *S. aureus* 臨床分離菌株の溶血環明瞭度、溶血環直径、およびコロニー直径 (n = 20)

溶血環明瞭度

供試菌株	24 時間培養後		48 時間培養後	
	A社	羊血寒	A社	羊血寒
MSSA	2+:100%	2+:100%	2+:100%	2+:100%
MRSA	2+:100%	2+:90% +:10%	2+:100%	2+:90% +:10%

溶血環直径 (mm)

供試菌株	24 時間培養後		48 時間培養後	
	A社	羊血寒	A社	羊血寒
MSSA	5.0 ~ 8.5	5.5 ~ 10.0	10.0 ~ 19.0	10.5 ~ 21.0
MRSA	4.5 ~ 7.5	4.5 ~ 7.5	8.0 ~ 15.5	10.5 ~ 15.0

コロニー直径 (mm)

供試菌株	24 時間培養後		48 時間培養後	
	A社	羊血寒	A社	羊血寒
MSSA	3.0	2.5 ~ 3.5	4.5 ~ 5.5	4.0 ~ 6.0
MRSA	1.5 ~ 3.0	2.5 ~ 3.0	3.5 ~ 5.0	4.0 ~ 5.5

注)2+: 溶血が明瞭, +: 溶血寒は認めるが不明瞭

Table. 4 臨床材料 (喀痰) による、分離培養の発育菌叢

No.	培養結果 (A社)				培養結果 (羊血寒)			
	菌種	量	結果	結果	菌種	量	結果	結果
1	B群 - st	+	MRSA	+	B群 - st	2+	MRSA	2+
2	yeast	少			yeast	少		
3	<i>P. aeruginosa</i>	+			<i>P. aeruginosa</i>	+		
4	<i>P. aeruginosa</i>	+			<i>P. aeruginosa</i>	+		
5	MRSA	少	<i>S. maltophilia</i>	+	MRSA	少	<i>S. maltophilia</i>	2+
6	MRSA	+	<i>P. mirabilis</i>	少	MRSA	+	(-)	
7	<i>S. marcescens</i>	+			<i>S. marcescens</i>	+		
8	(-)				<i>S. pneumoniae</i>	少		
9	MRSA	2+			MRSA	2+		
10	<i>P. aeruginosa</i>	+			<i>P. aeruginosa</i>	+		
11	<i>P. aeruginosa</i>	+	<i>S. maltophilia</i>	+	<i>P. aeruginosa</i>	+	<i>S. maltophilia</i>	+
12	<i>E. aerogenes</i>	少			<i>E. aerogenes</i>	少		
13	<i>K. pneumoniae</i>	+			<i>K. pneumoniae</i>	+		
14	ブドウ糖発酵菌	少	yeast	少	ブドウ糖発酵菌	少	yeast	少
15	<i>S. pneumoniae</i>	少			<i>S. pneumoniae</i>	少		
16	<i>K. oxytoca</i>	少	<i>A. baumannii</i>	少	<i>K. oxytoca</i>	少	<i>A. baumannii</i>	少
17	<i>S. pneumoniae</i>	2+	<i>E. coli</i>	+	<i>S. pneumoniae</i>	2+	<i>E. coli</i>	+
18	yeast	少			yeast	少		
19	<i>S. pneumoniae</i>	+			<i>S. pneumoniae</i>	+		
20	MRSA	少	<i>K. pneumoniae</i>	少	MRSA	少	<i>K. pneumoniae</i>	少
21	<i>E. aerogenes</i>	+	<i>S. aureus</i>	少	<i>E. aerogenes</i>	+	<i>S. aureus</i>	少
22	<i>P. aeruginosa</i>	少			<i>P. aeruginosa</i>	少		
23	yeast	少			yeast	少		
24	yeast	少	MRSA	少	yeast	少	MRSA	少
25	<i>S. aureus</i>	少			<i>S. aureus</i>	少		

この一部は第 20 回日本臨床微生物学会総会 (2009.1.31 ~ 2.1) で発表した。