

## 蚕から分離した細菌(VIII)

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	児玉, 礼次郎 中筋, 祐五郎 西尾, 昌晃
巻/号	39巻6号
掲載ページ	p. 425-428
発行年月	1970年12月

## 蚕から分離した細菌 (Ⅷ) 無菌飼育蚕の細菌性疾病を 抗生物質で防除する試み

児玉礼次郎, 中筋祐五郎, 西尾 昌晃

大阪市東淀川区・財団法人 発酵研究所  
(1970年4月20日受理)

著者らはこれまで数年にわたって本邦各地に発生した病蚕から種々の細菌を分離し、それらの1部について分類学的地位を明らかにするとともに、人工飼料による無菌飼育蚕にたいする病原性をも検討してきた。

これらの分離菌株のうちには病原性のものも、また非病原性のものもあったのであるが、前者の場合経口接種で無菌飼育蚕に明らかに病原性を示す菌株があるからには、それらの病原細菌の増殖を抑制する物質で細菌性疾病を防除できるのではないかと考えるのは当然の推論である。殊に近時発病に際してのウイルスと細菌との共同作用<sup>2,3)</sup>が研究され、かつ漸次明らかにされつつある事実<sup>4)</sup>に鑑み、桑葉飼育の場および人工飼料による非無菌飼育の場で抗生物質によって細菌だけの活動を阻止しても、蚕病発生の防除に相当な効果が現われる可能性も期待される。

病蚕に由来する細菌の抗生物質感受性についてはAFRIKIAN<sup>1)</sup>、河北ら<sup>5)</sup>および加藤ら<sup>6)</sup>の研究報告が見られるだけで、その数は少ない。抗生物質の投与によって桑葉飼育の場における病蚕の発生を防除しようとした試みもまた少なく、わずかにAFRIKIAN<sup>1)</sup>および宮永<sup>9)</sup>のそれを挙げうる程度である。

今回著者らは実験範囲内における病原性細菌の経口接種による無菌飼育蚕の発病が、それらの細菌の増殖を抑制する抗生物質を含有させた人工飼料の給与によって阻止されうることを確かめたので、本報ではその結果について述べる。

### 材料と方法

I. 供試蚕 松原ら<sup>8)</sup>の方法で無菌的に飼育した5齢健蚕。

II. 蚕への抗生物質の添食方法 供試抗生物質の無菌水溶液(2.5mg/ml, ゼイツ濾過)を滅菌蒸溜水で希釈して種々の濃度に調製し、これらの溶液の0.2mlを5g滅菌人工飼料の表面に塗布して、5齢1日目の蚕1頭に給与した。24時間給与後、すなわち5齢2日目の蚕に前報<sup>7)</sup>に準じた方法で細菌を4時間経口接種し、その後ただちに抗生物質溶液を塗付した新しい滅菌人工飼料と取り替えた。以後上簇まで1日1回新しい抗生物質含有飼料と取り替えながら飼育を続けた。

### III. 抗生物質の試験管内抗菌力測定方法

(1) *Streptococcus* 属菌株 127°Cで15分間加圧滅菌した[粉末酵母エキス5g+ペプトン5g+グルコース20g+Tween 80 1g+SaltsB<sup>10)</sup> 10ml+K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1g/800ml (pH 7.0)]の組成の培地を使用直前にpH9.0~9.5に調節し、4mlずつ試験管に分注する。これに種々の濃度の抗生物質溶液を1mlずつ加えて全量を5mlとなし、ただちに前報<sup>7)</sup>に準じて調製した細菌懸濁液の100倍希釈液1滴を接種する。これらの操作がすべて無菌的に行なわれることはいうまでもない。接種後29°Cで培養し、72時間後の細菌増殖の有無を肉眼的に観察して抗菌力を測定した。

(2) グラム陰性桿菌 [牛肉エキス10g+ペプトン10g+食塩1g/800ml (pH 7.0)]の組成の培地

表1 病原細菌の試験管内での増殖抑制

病原細菌	供試株数	増殖抑制に有効な抗生物質
<i>Streptococcus faecalis-Streptococcus faecium intermediate</i>	3	Oleandomycin, Triacetyloleandomycin, Erythromycin, Leucomycin, Carbomycin, Pikromycin, Spiramycin, Tylosin および Tertiomycin などの Macrolide 群抗生物質, Enduracidin, (CA)
Nitrate-reducing streptococci	5	CA, Macrolide 群抗生物質
<i>Streptococcus faecalis var. liquefaciens</i>	4	CA, Macrolide 群抗生物質
<i>Achromobacter superficialis</i>	1	NM, CA, DSM
<i>Aerobacter cloacae</i>	1	NM, KM, ZM, CA, DSM
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	NM, DSM
<i>Flavobacterium aquatile</i>	1	DSM, Enduracidin
<i>Proteus vulgaris</i>	2	NM, (DSM), CA, ZM
<i>Proteus morgani</i>	2	(DSM), (NM)
<i>Proteus mirabilis</i>	1	NM, DSM
<i>Proteus inconstans</i>	2	NM, KM, ZM, DSM
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	DSM
<i>Serratia indica</i>	1	NM, DSM, CA
<i>Serratia marcescens</i>	5	NM, ZM, (KM), (DSM)
<i>Serratia piscatorum</i>	3	(KM), NM, ZM

上表中 CA : chloramphenicol, NM : neomycin, DSM : dihydrostreptomycin, KM : kanamycin, ZM : Zygomycin.

( ) は菌株によって抗菌活性を異にするもの。

を用い、これを使用直前に pH8.0~8.5 に調節する以外は *Streptococcus* 属菌株の場合と同様な方法で測定した。

### 結果と考察

I. 試験管内での増殖抑制 分離菌株のうちには、分類学的には近縁のものであっても、病原性のもも非病原性のももあつたし、明らかに病原性とはいえない程度のももあり、また当研究所の保存菌株の中にも病原性の強いものがあつたので、この試験に際してはそれらの中から明らかに病原性と判断される菌株を選んで供試した。

試験の結果を表1に一括した。“1次性侵襲細菌”に含められるもの (*Streptococcus faecalis-Strep-*

*tococcus faecium intermediate* および nitrate-reducing streptococci) であれ、また“2次性侵襲細菌”に含められるもの (*Streptococcus faecalis var. liquefaciens*) であれ、*Streptococcus* 属菌株の増殖抑制には macrolide 群抗生物質および enduracidin が効果的であつた。“2次性侵襲細菌”と見られるグラム陰性桿菌は主として dihydrostreptomycin や neomycin-kanamycin 群抗生物質によってその増殖が効果的に抑制された。

II. 無菌飼育蚕での防除試験 次に抗生物質が試験管内で病原細菌の増殖を抑制しうる場合、これを生体に適用しても、発病を阻止しうるかどうかの疑問が残る。この点を検討するため、表1所載の病原細菌のうちから数菌株を選んで(これらの菌株はこ

表2 抗生物質の発病防除効果

供 試 菌 株	接種生菌数 (飼料1gあたり)	添食した 抗生物質	抗生物質 添食量 ( $\mu\text{g}$ /飼料1g)	致死率 (%)	試験管内増殖の 抑制に必要な量 ( $\mu\text{g}$ /培地1ml)
<i>Streptococcus faecalis</i> - <i>Streptococcus faecium</i> intermediate E-5	$2.3 \times 10^3$	Spiramycin	0	100	0.1—0.5
			1	80	
			10	10	
			100	0	
	$2.3 \times 10^3$	Tylosin	0	100	0.5—1.0
			1	80	
			10	20	
			100	0	
	$9.6 \times 10^2$	Leucomycin	0	100	0.5—1.0
			1	90	
			10	0	
			100	0	
Nitrate-reducing streptococci, strain MY-121	$3.7 \times 10^3$	Spiramycin	0	90	0.1—0.5
			1	50	
			10	20	
			100	0	
	$3.7 \times 10^3$	Tylosin	0	90	1.0—2.5
			1	80	
			10	20	
			100	0	
	$5.4 \times 10^2$	Leucomycin	0	80	1.0—2.5
			1	50	
			10	0	
			100	0	
<i>Streptococcus faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i> A-1	$6.2 \times 10^3$	Spiramycin	0	30	0.1—0.5
			1	10	
			10	0	
			100	0	
	$6.2 \times 10^3$	Tylosin	0	30	0.5—1.0
			1	30	
			10	0	
			100	0	
	$1.7 \times 10^3$	Leucomycin	0	20	0.5—1.0
			1	10	
			10	0	
			100	0	
<i>Proteus vulgaris</i> I-215	$1.1 \times 10^6$	Neomycin	0 1 10 100	40 10 20 0	1.0—2.5
<i>Proteus inconstans</i> A-142	$1.1 \times 10^6$	Neomycin	0 1 10 100	20 10 0 0	1.0—2.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3898	$2.0 \times 10^6$	Dihydro-streptomycin	0 1 10 100	30 30 0 0	5.0—10.0
<i>Serratia indica</i> IFO 3759	$1.8 \times 10^6$	Neomycin	0 1 10 100	40 10 10 0	2.5—5.0
<i>Serratia marcescens</i> A-21 (non-chromogenic strain)	$1.2 \times 10^6$	Neomycin	0 1 10 100	30 20 10 0	2.5—5.0
<i>Serratia piscatorum</i> E-15	$1.6 \times 10^6$	Neomycin	0 1 10 100	50 40 30 0	2.5—5.0

れまでの研究結果から経口接種で無菌飼育蚕に病原性を示すことが明らかになったもの、抗生物質の添食の有無ならびに量と病蚕発生との関係をしらべた(表2)。

表2から見られるように無菌飼育5齢健蚕を用いたこの実験の範囲内では病原細菌に基因する疾病は試験管内でその細菌の増殖を抑制する抗生物質の添食によって防除され得た。すなわち一般に抗生物質の添加量の増加とともに致死率は低下し、10-100 µg/gの割合に人工飼料に添加することによって100%の健蛹率が得られた。

このように試験管内増殖抑制効果と細菌性疾病防除効果とは平行的であるが、しかしいずれの抗生物質の場合でも試験管内での病原細菌の増殖を抑制するのに必要な量と病蚕の発生を防除するのに必要な人工飼料への添加量との間にはかなりの開きがあった。

#### 摘 要

人工飼料で無菌的に飼育した5齢健蚕を用い、病原細菌の経口接種に基因する疾病の抗生物質経口投与による防除について検討を加えた。その結果この種の疾病は試験管内でそれらの細菌の増殖を抑制する抗生物質によって防除され得た。抗生物質の試験管内での細菌増殖抑制効果と生体での発病防除効果

とは平行的であるが、しかし両者における抗生物質の必要量にはかなりの開きがあった。

#### 文 献

- 1) AFRIKIAN, E.G. (1960) : J. Insect Path., **2**, 299-304.
- 2) 鮎沢千尋・古田要二・児玉礼次郎・中筋祐五郎 (1968) : 日蚕雑, **37**, 395-402.
- 3) 蛭原富男・福原好信 (1968) : 日蚕雑, **37**, 251-252 (講演要旨).
- 4) 加藤昭輔・丸尾文治 (1968) : 蚕糸研究, **No. 68**, 151-157.
- 5) 河北俊彦・渡辺卓也・石坂尊雄・林 金雄 (1966) : 日蚕雑, **35**, 248-252.
- 6) 児玉礼次郎・中筋祐五郎 (1969) : 日蚕雑, **38**, 406-412.
- 7) 児玉礼次郎・中筋祐五郎 (1968) : 日蚕雑, **37**, 477-482.
- 8) 松原藤好・加藤 勝・林屋慶三・児玉礼次郎・浜村保次 (1967) : 日蚕雑, **36**, 39-45.
- 9) 宮永堅吾 (1968) : 日本蚕糸学会関東支部講演要旨集, p. 60.
- 10) SNELL, E.E. and L.D. WRIGHT (1941) : J. Biol. Chem., **139**, 675-686.

#### Summary

##### Bacteria isolated from silkworm larvae

#### VIII. Experiments to protect aseptically reared silkworm larvae from bacterial diseases by oral administration of antibiotics

By

Reijiro KODAMA, Yugoro NAKASUJI and Masaaki NISHIO

Experiments were carried out to protect larvae from bacterial diseases by oral administration (feeding) of antibiotics, employing healthy silkworm larvae in the 5th instar, which were reared aseptically on an artificial diet.

The oral administration of the antibiotics, which suppressed effectively the growth of the pathogenic bacteria used in the test tubes, made it possible to protect the larvae from diseases to be caused by the bacteria orally inoculated. However, there were marked differences between the amounts of antibiotics in the test tubes required for suppressing the growth of the bacteria and those in the diet required for protecting the larvae from bacterial diseases. (*Institute for Fermentation, Osaka*)