

Staphylococcus intermediusのマウスに対する病原性

誌名	神戸大学農学部研究報告 = The science reports of Faculty of Agriculture, Kobe University
ISSN	04522370
著者	清水, 晃 河野, 潤一 葉杖, 真二
巻/号	18巻2号
掲載ページ	p. 213-220
発行年月	1989年3月

Staphylococcus intermedius のマウスに対する病原性

清水 晃*・河野潤一*・葉杖真二**・藤浪哲也*

木村 重*・杉原一三***

(昭和63年8月10日受理)

PATHOGENICITY OF *STAPHYLOCOCCUS INTERMEDIUS* FOR MICE

Akira SHIMIZU, Junichi KAWANO, Shinzi HAZUE, Tetsuya FUJINAMI

Shige KIMURA and Kazumi SUGIHARA

Abstract

A total of 10 strains of *Staphylococcus intermedius* isolated from foxes, dogs, pigeons, mink and horses were examined as to pathogenicity for mice in comparison with *S. aureus* and *S. epidermidis*. The results obtained are summarized as follows.

- 1) Eight out of 10 strains of *S. intermedius* used exerted a strong lethal effect upon mice when inoculated intraperitoneally with broth cultures.
- 2) No mice were killed by intraperitoneal administration of the culture filtrate of any *S. intermedius* strain.
- 3) The lethal effect of the *S. intermedius* strains on mice by the intravenous route seemed to be rather weak.
- 4) When inoculated subcutaneously into mice, all the *S. intermedius* strains produced subcutaneous abscesses.
- 5) The protease-positive strains tended to form the larger abscess to mice than that with protease-negative strains.

緒 言

*Staphylococcus intermedius*はかつては*S. aureus*に包含されていた菌である。HÁJEK and MARŠÁLEK^{4,5)}は数種の特徴ある性状を基にして、*S. aureus*を6つの生物型(A～F型)に分類した。しかしその後の研究で、HÁJEK³⁾はこの6生物型のうち、EおよびF型とした菌株は生化学的性状、ファージに対する感受性、遺伝学的性状、細胞壁の化学組成などが、A～D型(典型的*S. aureus*)と異なっていることを明らかにし、両生物型に属する菌株を*S. aureus*から独立させ、これに*S. intermedius*と命名した。

*S. intermedius*は通常健康なイヌ、ネコ、ウマ、ミ

ンク、キツネ、アライグマ、ハトなどの鼻腔内および外耳道を含む皮膚における常在菌であるが、近年イヌ、ネコの中・外耳炎、イヌの膿皮症、生殖器系感染症、創傷感染、ウマ、ミンクの化膿性皮膚炎等より分離され、獣医学領域で注目を集めている^{11～13, 18)}しかし、本菌の動物に対する病原性については未だ不明な点が多く、また、各種動物由来株間で毒力に差があるか否かについての検討は全く行われていない。

そこで本研究では、*S. intermedius*の病原性を解明するための第一歩として、キツネ、イヌ、ハト、ミンクおよびウマから分離した菌株をマウスに接種し、皮下膿瘍形成能、致死力、腎膿瘍形成能などを指標にして、本菌の病原性について比較検討した。

材料および方法

1. 供試菌株

キツネ、イヌ、ハト、ミンクおよびウマ由来の合計10

* 家畜衛生学研究室

** 日本ウェルカム株式会社

*** 家畜管理学研究室

株を用いた。キツネおよびミンク由来株は V. HÁJEK 博士 (Department of Microbiology, School of Medicine, Palacký University, Czechoslovakia) より分与された、イヌ、ハトおよびウマ由来株は当研究室で分離されたものである。対照には *S. aureus* 19-15 (ヒトの膿瘍病巣由来、神奈川県衛生研究所、森 実博士より分与) および *S. epidermidis* ATCC 12228 株を用いた。菌株はトリプトソニー寒天培地 (ニッスイ) で室温継代保存された。これら菌株の生物学的性状は Table 1 に示すごとくである。

2. マウス感染実験

1) 供試マウス

Std: ddY 系、4 週齢、体重 15~19 g の雄マウスを用いた。

2) 接種菌液と接種方法

マウスへの菌接種は皮下、腹腔内および静脈内接種の 3 ルートより行った。接種菌液は 7.5% NaCl 加普通寒天培地に純培養し、ついでヒツジ血液加寒天培地 (日本生物材料センター) で 2 代連続継代し、さらにハートインフュージョン (HI) ブイオン (ニッスイ) で 37°C、18 時間静置培養したものをを用いた。

(1) 皮下接種: 各菌株の培養菌液の 0.2 ml (生菌数 $1.1\sim 4.9\times 10^9/ml$) を、1 菌株につき 5 匹のマウスの背部皮下に接種した。菌接種 48 時間後にエーテル麻酔下でと殺し、接種部位を中心に皮膚を広く剝離し、膿瘍形成、出血、充血、脱毛の有無を肉眼的に観察した。膿瘍形成の認められたものについては、その大きさを計測 (長径と短径の平均値で表わす) した。

(2) 腹腔内接種: 各菌株の培養菌液の 0.3 ml (生菌数 $1.1\sim 4.9\times 10^9/ml$) を、1 菌株につき 5 匹のマウスの腹腔内に接種し、生死を指標として 3 週間観察した。

(3) 静脈内接種: 各菌株の培養菌液の 0.1 ml (生菌数 $3.3\times 10^9\sim 1.1\times 10^{10}/ml$) を、1 菌株につき 5 匹のマウスの尾静脈内に接種し、生死を指標として 3 週間観察した。菌接種後 3 週を経過したマウスについては、エーテル麻酔下でと殺し、胸腔内および腹腔内諸臓器に膿瘍が形成されているかについて肉眼的に観察しながら剖検した。

3) 培養上清の腹腔内接種

培養上清は各菌株を HI ブイオン (20 ml) で 37°C 18 時間振盪培養後、3,000 r.p.m. 30 分間遠心し、さらにその遠心上清をメンブランフィルター (450 nm、ミリポア) で濾過滅菌して得た。濃縮液は前記の培養上清 15 ml を透析膜 (ビスキング) に入れ、10% ポリエチレングリコール (分子量 20,000、ナカライテスク) 水溶液中に

浸し、攪拌しながら 4°C 18 時間濃縮し、さらに 20% ポリエチレングリコール水溶液中に浸して 10 倍濃縮し、接種用とした。各菌株の培養上清は 0.3 ml を 1 匹ずつのマウス腹腔内に、濃縮液は 0.3 ml を 2 匹ずつの腹腔内に接種し、生死を指標として 3 週間観察した。

3. コアグラゼ活性およびヒツジ赤血球に対する溶血能の測定

岩田・江田⁸⁾の方法に準じて行った。

1) コアグラゼ活性

各菌株をブレインハートインフュージョンブイオン (ニッスイ) で 37°C 24 時間振盪培養し、培養菌液を 3,000 r.p.m. 30 分間遠心し、さらに上清をメンブランフィルター (450 nm) で濾過滅菌した。滅菌培養上清は滅菌生理食塩液で倍数希釈し、その各 0.5 ml にウサギ血漿 (5 倍希釈液) を等量加え、37°C で 24 時間まで保温し、凝固あるいはフィブリン析出のみられる最大希釈倍数でコアグラゼ活性の強さを表わした。

2) ヒツジ赤血球に対する溶血能

前述のコアグラゼ活性測定法と同様に、滅菌した培養上清を滅菌生理食塩液で倍数希釈し、その各 0.5 ml に 2% ヒツジ赤血球浮遊液 (3 回洗浄) を等量加え、37°C 2 時間保温後に完全溶血を示した最大希釈倍数で溶血能の強さを表わした。

成 績

1. 皮下、腹腔内および静脈内接種による致死効果

各菌株をマウスの皮下、腹腔内および静脈内に接種し、生死を指標として毒力を比較検討した (Table 2)、供試した *S. intermedius* 10 株中 8 株が腹腔内接種により強い致死作用を発揮した。菌株別におけるマウス死亡率は G13 株で 60%、G15 株で 100%、C147 株で 80%、S12 株で 40%、S1 株で 60%、S35 株で 100%、L10 株で 80%、L26 株で 80%、E12 株で 20%、E29 株で 0% であった。死亡経過はいずれの菌株の場合でも、接種後まもなく呼吸促進、沈うつなどの症状を呈し、ついには呼吸困難となり、早いものでは 24 時間以内に、遅いものでも接種後 72 時間以内に死亡した。皮下接種では死亡するマウスは認められず、また、静脈内接種においてもイヌ由来の S12 株で 5 例中 3 例が死亡したのみで、致死効果を示さなかった。

対照の *S. aureus* 19-15 株は腹腔内 (致死率 80%)、皮下 (100%) および静脈内 (100%) のいずれの接種法でも強い致死効果を発揮した。*S. epidermidis* ATCC 12228 株はいずれの接種法によっても致死効果を示さな

Table 1. Characteristics of *S. intermedius* strains used in the experiment

Characteristic	Origin and strains										<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	Fox		Dog		Pigeon		Mink		Horse		<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	G13	G15	C147	S12	S1	S35	L10	L26	E12	E29	19-15	ATCC	12228	
Coagulase (rabbit plasma)	+	*	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	
Clumping factor	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+		-	
Heat-stable nuclease	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	
Heat-labile nuclease	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	
Protease	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-		-	
Protein A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		-	
Fibrinolysin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	
Hemolysin	β	β	β	β	β	β	β	β	β	β	α		-	

* + : positive, - : negative.

Table 2. Lethal effect of *S. intermedius* strains on mice* by intraperitoneal, subcutaneous and intravenous inoculation

Species	Origin	Strain No.	Mortality of mice inoculated		
			Intraperitoneal	Subcutaneous	Intravenous
<i>S. intermedius</i>	Fox	G13	3/5**	0/5	0/5
		G15	5/5	0/5	0/5
	Dog	C147	4/5	0/5	0/5
		S12	2/5	0/5	3/5
	Pigeon	S1	3/5	0/5	0/5
		S35	5/5	0/5	0/5
	Mink	L10	4/5	0/5	0/5
		L26	4/5	0/5	0/5
Horse	E12	1/5	0/5	0/5	
	E29	0/5	0/5	0/5	
<i>S. aureus</i>	Human	19-15	4/5	5/5	5/5
<i>S. epidermidis</i>		12228	0/5	0/5	0/5

* Mice : Std : ddY strain, male, 4 weeks old.

** No. dead/No. examined.

かった。

2. 皮下接種による膿瘍形成能

各菌株をマウスの背部皮下に接種し、接種後48時間目にマウスをと殺して接種部位を中心に皮膚を剥離し、肉

眼的に膿瘍形成の有無を観察した (Table 3)。供試した *S. intermedius* 10株中全株が程度の差はあるが、全例に皮下に膿瘍を形成した。対照の *S. aureus* も5例中全例の皮下に膿瘍を形成した。*S. epidermidis* を接

Table 3. Subcutaneous abscess formation in mice inoculated subcutaneously with *S. intermedius*

Species	Origin	Strain No.	Protease activity*	Skin lesion by subcutaneous inoculation			Diameter of abscess (mm)**	
				Abscess	Alopecia	Hemorrhage and Hyperemia	Range	Mean
<i>S. intermedius</i>	Fox	G13	+	5/5***	0/5	0/5	11.0-17.5	12.8
		G15	-	5/5	0/5	0/5	8.0-18.0	14.4
	Dog	C147	+	5/5	3/5	0/5	12.5-19.5	16.4
		S12	+	5/5	1/5	0/5	11.5-14.5	13.1
	Pigeon	S1	+	5/5	0/5	0/5	10.5-17.5	15.9
		S35	+	5/5	0/5	0/5	11.0-24.0	16.1
	Mink	L10	-	5/5	0/5	0/5	3.5- 6.5	5.3
		L26	-	5/5	0/5	0/5	1.8- 8.0	6.6
	Horse	E12	-	5/5	0/5	0/5	4.5- 7.0	5.5
E29		+	5/5	0/5	0/5	4.0- 6.5	5.2	
<i>S. aureus</i>	Human	19-15	-	5/5	0/5	5/5	14.0-18.0	14.8
<i>S. epidermidis</i>		12228	-	0/5	0/5	0/5	-	-

* + : positive, - : negative.

** (Long diameter + short diameter) / 2 (mm).

*** No. positive/No. examined.

Table 4. Abscess formation in visceral organs of mice inoculated intravenously with *S. intermedius*

species	Origin	Strain No.	Abscess in				
			Heart	Lung	Liver	Spleen	Kidney
<i>S. intermedius</i>	Fox	G13	0/5*	1/5	0/5	0/5	3/5
		G15	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
	Dog	C147	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5
		S12	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5
	Pigeon	S1	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5
		S35	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5
	Mink	L10	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
		L26	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
	Horse	E12	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
E29		0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	
<i>S. aureus</i>	Human	19-15	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5
<i>S. epidermidis</i>		12228	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

* No. positive/No. examined.

Table 5. Lethal effect of culture filtrate of *S. intermedius* by intraperitoneal inoculation

Species	Origin	Strain No.	Mortality	
			Culture filtrate	Concentrated filtrate*
<i>S. intermedius</i>	Fox	G13	0/1**	0/2
		G15	0/1	0/2
	Dog	C147	0/1	0/2
		S12	0/1	0/2
		S35	0/1	0/2
	Pigeon	S1	0/1	0/2
		S35	0/1	0/2
	Mink	L10	0/1	0/2
		L26	0/1	0/2
Horse	E12	0/1	0/2	
	E29	0/1	0/2	
<i>S. aureus</i>	Human	19-15	0/1	0/2
<i>S. epidermidis</i>		12228	0/1	0/2

* Culture filtrate was concentrated 10 times by dialysis against polyethyleneglycol 20,000.

** No. dead/No. examined.

種したマウス皮下には、膿瘍形成の像は認められなかった。

つぎに皮下膿瘍の大きさを菌株別にみると、キツネ、イヌおよびハト由来の6菌株では対照の *S. aureus* 株 (膿瘍径 14.8mm) にほぼ匹敵する大きな膿瘍を形成し、12.8~16.4mmであった。興味深いことにこれら6株中5株がプロテアーゼ陽性であった。ミンクおよびウマ由来の4株の膿瘍径は5.2~6.6mmで、うち3株はプロテアーゼ陰性であった。

3. 静脈内接種による腎膿瘍形成能

各菌株をマウス尾静脈内に接種し、5臓器における膿瘍形成の有無を肉眼的に観察した (Table 4)。供試した *S. intermedius* 10株中9株は程度の差はあるが、それぞれ5例中1~4例の腎臓に膿瘍を形成した。しかし、心臓、肺、肝臓および脾臓にはほとんど膿瘍を形成しなかった。対照の *S. aureus* 株も *S. intermedius* と同様の傾向を示し、5例中全例の腎臓に膿瘍を形成したが、他の4臓器には膿瘍を形成しなかった。 *S. epidermidis* 株はいずれの臓器にも膿瘍を形成しなかった。

4. 毒力の解析

前述したように、*S. intermedius* の多くの菌株がマウスに対し、特に腹腔内接種により強い致死作用を有することを見出した、そこで、これら *S. intermedius* 菌株のマウス腹腔内接種による強い致死作用を解明するために、菌側の諸因子と毒力との関連において、特に菌のコアグラーゼ活性と溶血能の点から解析を試みた。

1) 培養上清の腹腔内接種による致死効果

各菌株の培養上清およびその濃縮液をマウスの腹腔内に接種して、3週間にわたり生死を観察したが、1例の死亡もみられなかった (Table 5)。

2) コアグラーゼ活性およびヒツジ赤血球に対する溶血能との関係

各菌株の培養上清のコアグラーゼ活性とヒツジ赤血球に対する溶血能を定量的に測定した成績を Table 6 に示した。これらの生物活性と腹腔内接種による致死作用との間には、特に関連性は見出されなかった。

考 察

ブドウ球菌の病原性については古くより多くの研究がなされているが、そのほとんどが *S. aureus* を対象と

Table 6. Coagulase and hemolysin activities of culture filtrate of *S. intermedius*

Species	Origin	Strain No.	Coagulase activity*	Hemolysin activity**
<i>S. intermedius</i>	Fox	G13	<2***	4
		G15	<2	4
	Dog	C147	4	8
		S12	<2	2
	Pigeon	S1	<2	<2
		S35	16	<2
	Mink	L10	32	2
		L26	16	2
	Horse	E12	4	<2
		E29	8	4
<i>S. aureus</i>	Human	19-15	<2	<2
<i>S. epidermidis</i>		12228	—	—

* Coagulase activity was expressed as the highest dilution of culture filtrate to show coagulation of rabbit plasma.

** Hemolysin activity was expressed as the highest dilution of culture filtrate to show hemolysation of sheep erythrocytes.

したものであり、*S. intermedius* およびコアグラゼ陰性菌種^{16,17)}については未だ十分に検討されていない。ブドウ球菌の病原性を調べるための実験動物としては、主としてマウスが用いられ、また、病原性を解析する手段としては、皮下接種による膿瘍形成能、静脈内および腹腔内接種による致死作用、静脈内接種による腎定着能および腎膿瘍形成能などが一般に用いられている^{16,17,19)}

本研究で、*S. intermedius* をマウスに皮下、静脈内および腹腔内接種したところ、供試した10株中8株が腹腔内接種により著明な致死作用を示した。しかし、皮下および静脈内接種ではへい死するマウスはほとんど認められなかった。このように、*S. intermedius* は腹腔内接種のみにより強い致死効果を示すことが判明した。また、*S. intermedius* が腹腔内接種においてのみ強い致死作用を示す理由を明らかにするために、菌体外代謝産物の面から追求を試みた。すなわち、*S. intermedius* 10株の培養上清およびその濃縮液をマウスの腹腔内に接種したが、いずれの菌株もマウスを致死させなかった。このことにより、*S. intermedius* の腹腔内における強い毒力は少なくとも菌体外代謝産物の直接影響よりはむ

しろ、菌自体の腹腔内あるいは血中における増殖力と関連しているものと推察された。岩田・江田⁶⁻⁸⁾ はヒトの臨床材料からコアグラゼ陰性、DNase 陽性の菌株を分離し、この菌株のマウスに対する毒力を検討し、腹腔内接種により強い毒力を示す特殊ブドウ球菌を報告している。また、同氏ら⁷⁾ は腹腔内接種により強い毒力を示すブドウ球菌の培養上清を腹腔内に接種したが、マウスを致死させることができなかった。

ブドウ球菌の病原性と本菌の産生する各種の菌体外酵素および毒素との関連については古くから多くの研究がおこなわれてきたが、ブドウ球菌の腹腔内接種によるマウスの究極的な死亡が何によってもたらされるかについては、まだ十分に明らかにされていない。KAPRAL⁹⁾ は *S. aureus* の腹腔内感染によるマウスの死亡を、本菌の増殖中に産生される α 毒素によるとしており、またクランピングファクターも毒力に重要な意義を有すると述べている。CRISTIE *et al.*¹⁾ も *S. aureus* の α 毒素産生能とマウス腹腔内感染における毒力との関連性を認めている。木村¹⁰⁾ は *S. aureus* No. 248 orig 株からえた α 毒素産生変異株および β 毒素産生変異株のマウス

腹腔内感染による毒力の比較を行い、前者は後者に比してきわめて毒力が強かったと報告している。本研究で示したように、腹腔内接種により強い毒力を示した *S. intermedius* 10株中9株はクランピングファクターが陰性であり、また全株がβ毒素を産生するものであった。このことから、ブドウ球菌の腹腔内接種による致死作用はクランピングファクターあるいはα毒素だけでは説明できないものと思われる。したがって、ブドウ球菌の腹腔内感染における毒力は単一の因子とは考えられない。

S. aureus は皮下に膿瘍を形成することは古くより知られた事実である。田所¹⁹⁾ はニワトリ由来の *S. aureus* の生物学的性状とマウスに対する病原性を検討し、コアグラゼ産生能が皮下膿瘍形成に大きく関与し、また、プロテアーゼ活性は組織融解に関与すると述べている。本研究において、*S. intermedius* には *S. aureus* と同程度の大きな膿瘍を形成する菌株と、小さな膿瘍を形成する菌株が見出された。そして、これらの膿瘍形成と生物学的性状の関連でみると、プロテアーゼ産生株は概して大きな膿瘍を作り、プロテアーゼ非産生株では小さな膿瘍を作る傾向を示した。このことから、*S. intermedius* でもプロテアーゼ活性は皮下膿瘍形成に大きく関与しているものと推察された。

S. aureus を静脈内に接種すると、腎臓で特異的に増殖し、腎膿瘍を形成する。本研究でも、対照として用いた *S. aureus* 接種マウスでは全例が腎臓に膿瘍を形成した。*S. intermedius* でも50例中19例に腎膿瘍がみられた。ブドウ球菌における腎定着に関与する因子としては、桑原¹⁵⁾ はフリーコアグラゼを、GORRILL *et al.*²⁾ はクランピングファクターをあげている。久野ら¹⁴⁾ は compact 型株に腎定着能を認め、YOSHIDA *et al.*²⁰⁾ は compact 型株より分離される compact colony forming active substance をあげている。本研究で使用した *S. intermedius* はコアグラゼを産生していることから、*S. intermedius* においても腎定着にはコアグラゼが関与していると考えられる。しかし、クランピングファクターは腎定着に関与しないと思われる。

要 約

キツネ、イヌ、ハト、ミンクおよびウマから分離した *S. intermedius* 10菌株のマウスに対する病原性を検討し、つぎのような結果を得た。

1. 供試した10株中8株がマウス腹腔内接種により、きわめて強い致死作用を示した。
2. 被検10菌株の培養上清およびその濃縮液ではマウ

ス腹腔内接種により、致死効果を示さなかった。

3. 静脈内接種による *S. intermedius* の致死作用は弱いようである。

4. 供試した全株が皮下接種による皮下膿瘍形成能を有し、*S. aureus* と同程度の大きな膿瘍（膿瘍径 12.8～16.4mm）を作る菌株と、小さな膿瘍（5.2～6.6mm）を作る菌株に分けられた。また、生物学的性状との関連でみると、プロテアーゼ産生株では大きな膿瘍を作り、プロテアーゼ非産生株では小さな膿瘍を作る傾向にあった。

謝 辞

終りに貴重な菌株を分与いただいた V. HÁJEK 博士 (Department of Microbiology, School of Medicine, Palacký University, Czechoslovakia) ならびに神奈川県衛生研究所森 実博士に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) CRISTIE, R., E. A. NORTH and B. T. PARKIN: *Aust. J. Exp. Biol.*, **24**, 73-78, 1946.
- 2) GORRILL, R. H., K. M. KLYHN and E. M. MCNEIL: *J. Pathol. Bacteriol.*, **91**, 157-172, 1966.
- 3) HÁJEK, V.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **26**, 401-408, 1976.
- 4) HÁJEK, V. and E. MARŠÁLEK: *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.*, **A217**, 176-182, 1971.
- 5) HÁJEK, V. and E. MARŠÁLEK: In *Staphylococci and Staphylococcal Infection*, Edited by J. JELJASZEWICZ, pp. 11-21, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1976.
- 6) 岩田和夫・江田 享: 日細菌誌, **23**, 165-171, 1968.
- 7) 岩田和夫・江田 享: 日細菌誌, **23**, 348-354, 1968.
- 8) 岩田和夫・江田 享: 日細菌誌, **23**, 392-400, 1968.
- 9) KAPRAL, F. A.: *J. Bacteriol.*, **92**, 1188-1195, 1966.
- 10) 木村晃三: 日細菌誌, **26**, 1-8, 1971.
- 11) KLOOS, W. E.: *Ann. Rev. Microbiol.*, **34**, 559-592, 1980.
- 12) KLOOS, W. E. and J. H. JORGENSEN: In *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed, Edited by LENNETTE, E. H., A. BALOWS, W. J. Jr. HAUSLER and H. J. SHADOMY, pp. 143-153, American Society for Microbiology, 1985.

- 13) KLOOS, W. E. and K. H. SCHLEIFER: In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Edited by P. H. A. SNEATH, pp. 1013-1035, Williams and Wilkins, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney, 1986.
- 14) 久野宗和・高橋昌己・吉田耕作: 日細菌誌, **30**, 693-697, 1975.
- 15) 桑原章吾: 第21回日本細菌学会関東支部総会シンポジウム予稿集, 1-4, 1966.
- 16) 村上正博: 日細菌誌, **25**, 591-597, 1970.
- 17) 村上正博: 日細菌誌, **26**, 493-498, 1971.
- 18) 清水 晃: メディヤサークル, **31**, 392-403, 1986.
- 19) 田所一郎: モダンメディア, **13**, 110-118, 1967.
- 20) YOSHIDA, K., T. OHTOMO and Y. MINEGISHI: *Jpn. J. Microbiol.*, **19**, 75-76, 1975.