

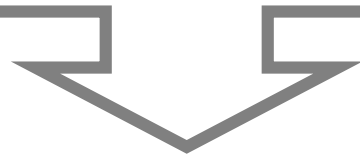
細菌とは

自己増殖できる、
最小の単細胞原核生物

病原菌説の提唱

19世紀後半 コッホ (R. Koch)

細菌の純粋培養技術の確立



感染症の病原菌説を提唱



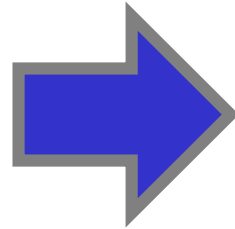
ブラック微生物学(丸善株式会社)から引用

培養とは？

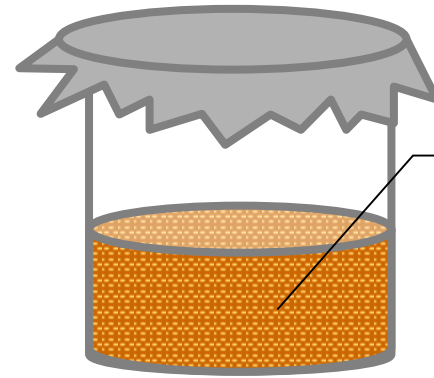
培養：微生物を人工的に増殖させること

→至適条件を満たすことが重要

細菌の培養



培養すると



にごる

コッホによって**純粋培養の確立**

滅菌法の確立
寒天の利用

ペトリ皿(シャーレ)の開発



細菌の培養に必要な栄養 1

①水分

菌体の70%以上は水分

②エネルギー源として炭素源(C)

ブドウ糖など糖類

③菌体構成成分として窒素源(N)

アミノ酸

細菌の培養に必要な栄養 2

④無機塩類 (Na^+ 、 Cl^-)

浸透圧調節のため

多くの細菌は生理食塩水 (0.75%) の条件で発育

好塩菌: ビブリオ、ブドウ球菌

⑤発育因子

それぞれの細菌によって特別に必要とする因子

鉄 (Fe)、硫黄 (S)、リン (P) など

培地の種類

寒天含有量による分類

90°C以上の加熱で融解、
40~45°Cでゲル化し固形

・固形培地

・液体培地

培地の種類

寒天含有量によるもの

	寒天含有量	目的
液体培地 (broth)	含まれない	大量培養など
半流動培地	0.5%	性状試験など
固形培地 (agar)	1.5~2.0%	斜面培地: 継代保存 高層培地: 継代保存 平板培地: 継代保存

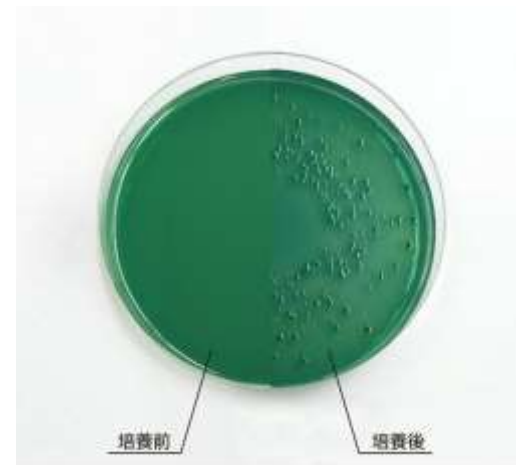
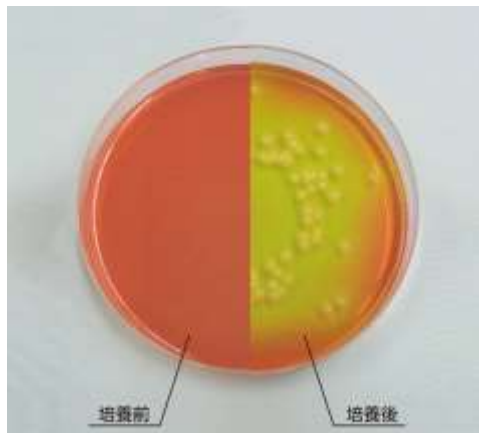
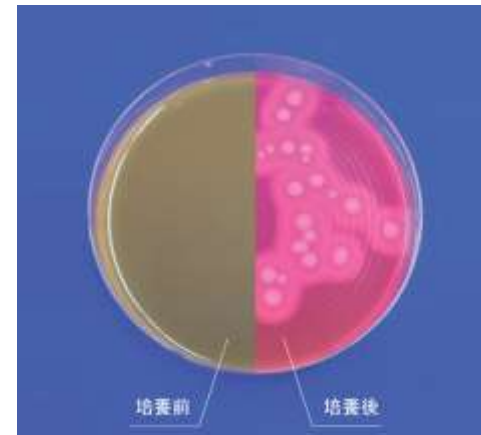
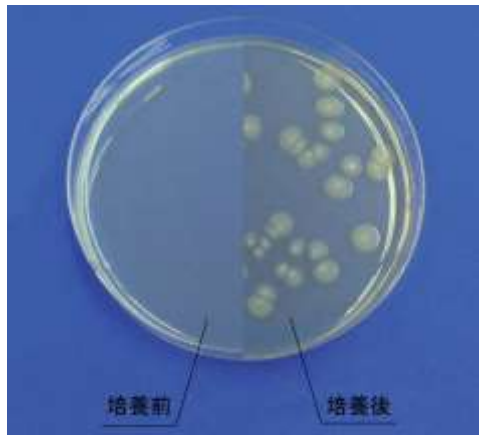
液体培养



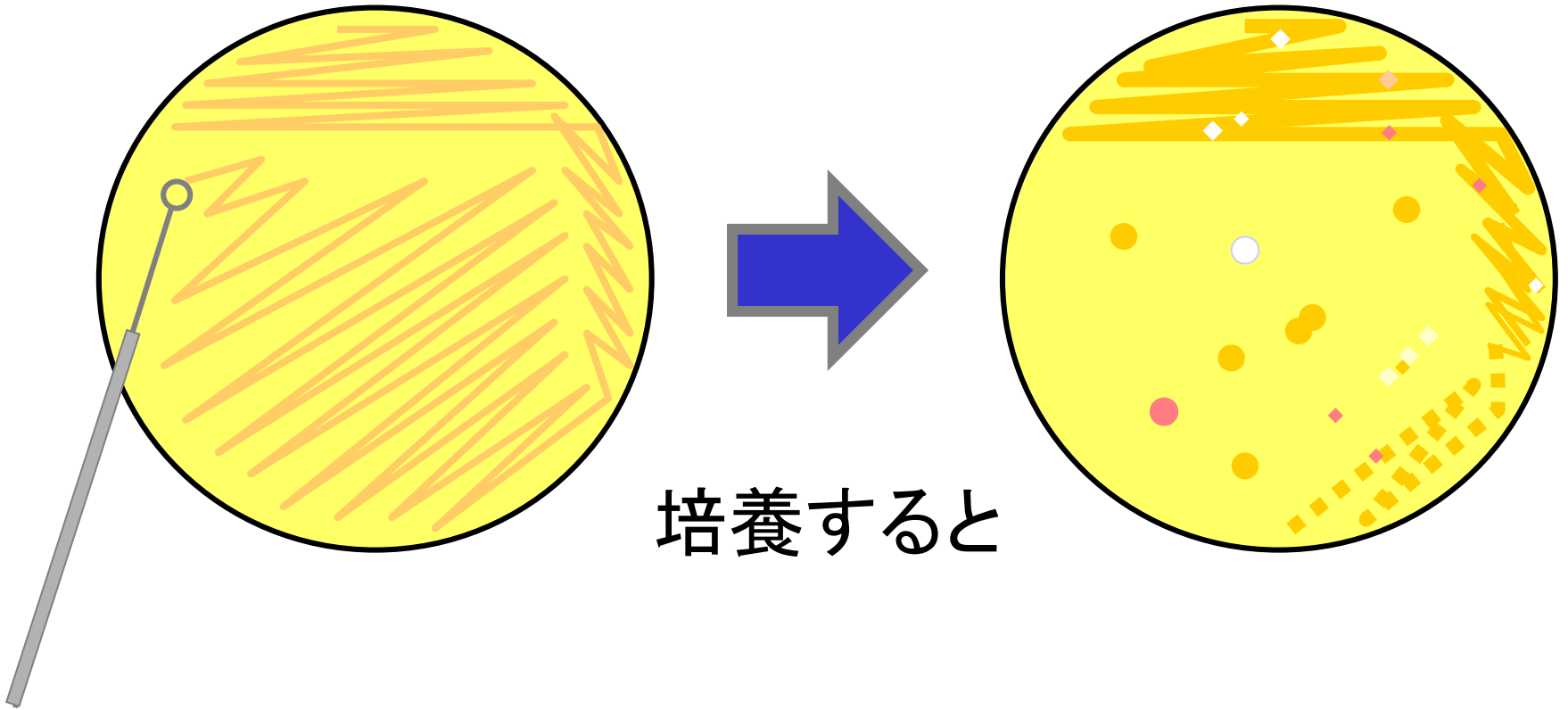
斜面培地(左) 半斜面培地(中) 高層培地(右)



種々の寒天培地



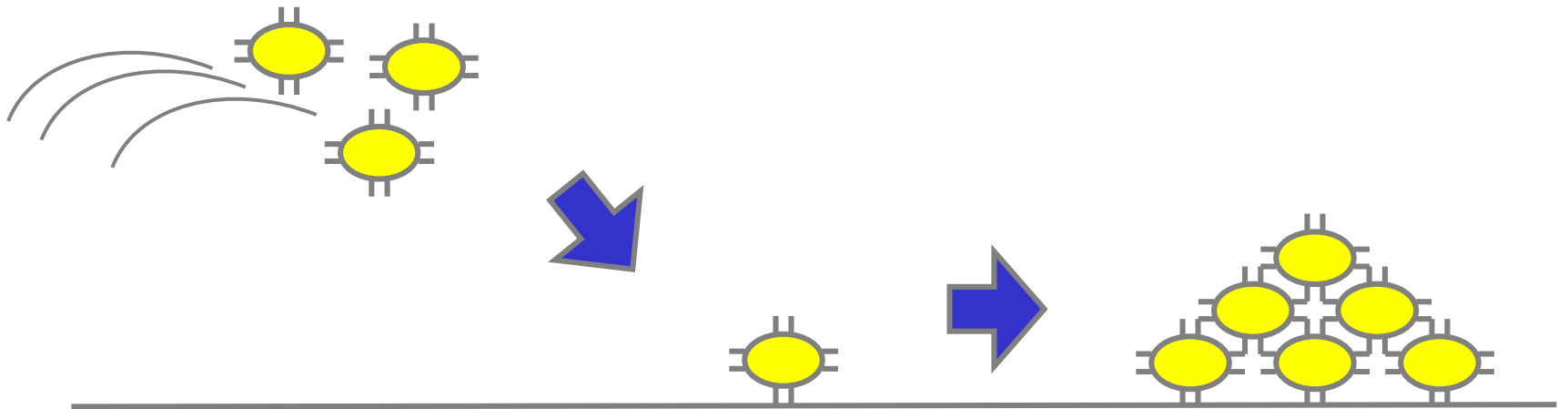
細菌の分離



培養すると

コロニーの形成

コロニー：微生物を純粋培養すると形成する集落



物質・生体の表層

空中細菌 コロニー像



ブラック微生物学(丸善株式会社)から引用

細菌数の数え方

CFU (colony forming unit)

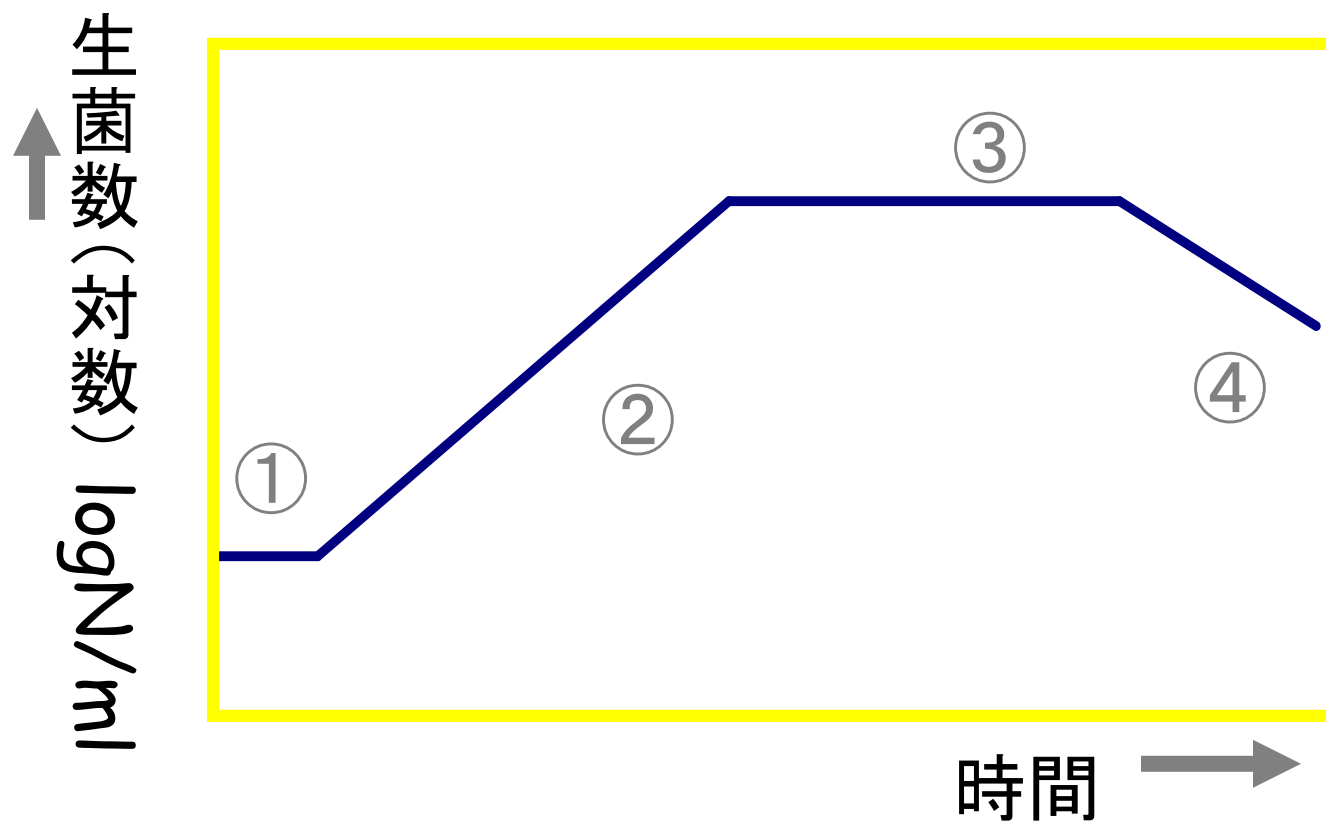
:コロニーを形成する単位

➡寒天培地上で

培地のにごり度合い:吸光度で表す

➡液体培地で

細菌の増殖曲線



各相の特徴

①誘導期

分裂を開始するまでの準備期間

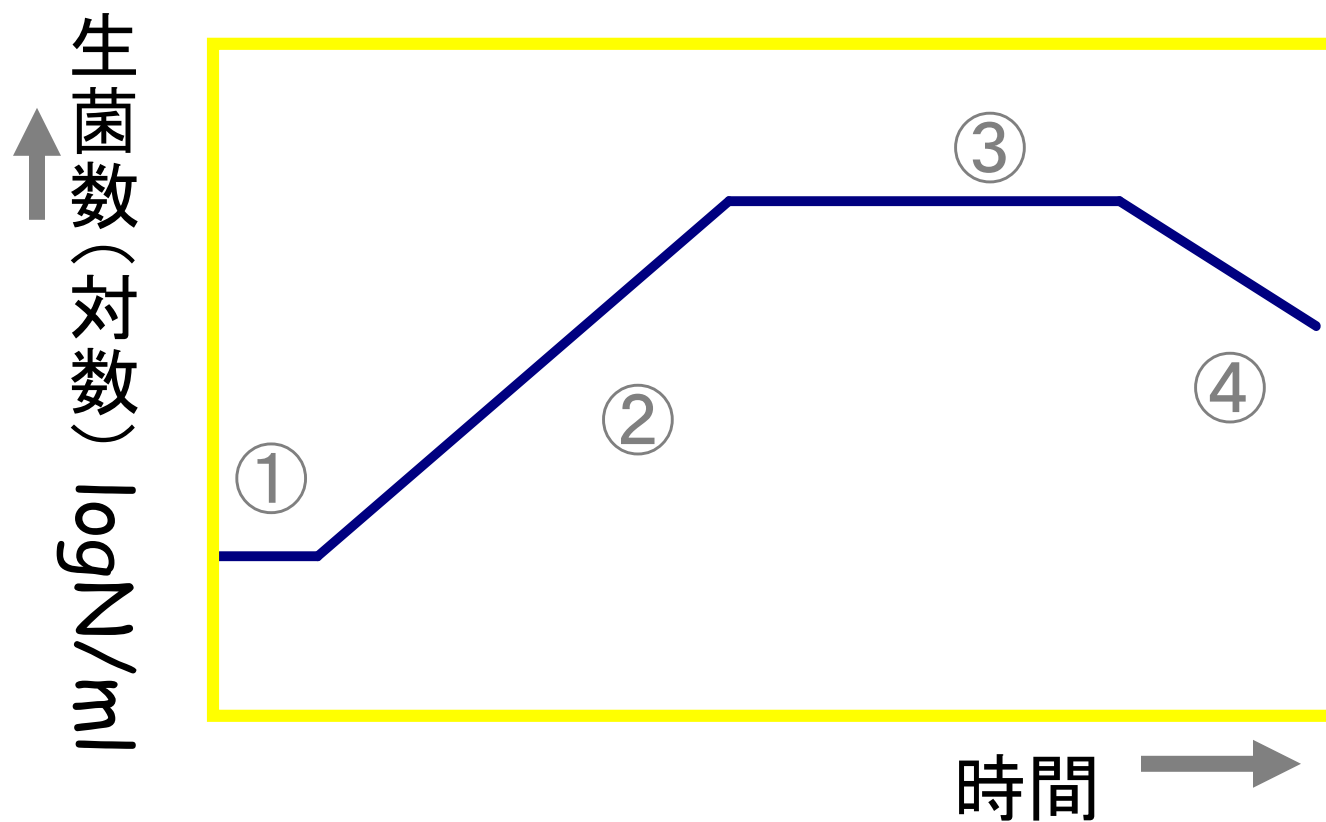
②対数増殖期: 増殖菌 > 死菌 = 0

2分裂を繰り返す

ある一定の菌数に達するまで続く

(*大腸菌で1億個/mL)

細菌の増殖曲線



各相の特徴

③**定常期**: 増殖菌 = 死菌 = 0に近い

休眠状態

代謝活性が非常に低い

④**死滅期**: 増殖菌 = 0 < 死菌

栄養分の欠乏、自己融解などによる

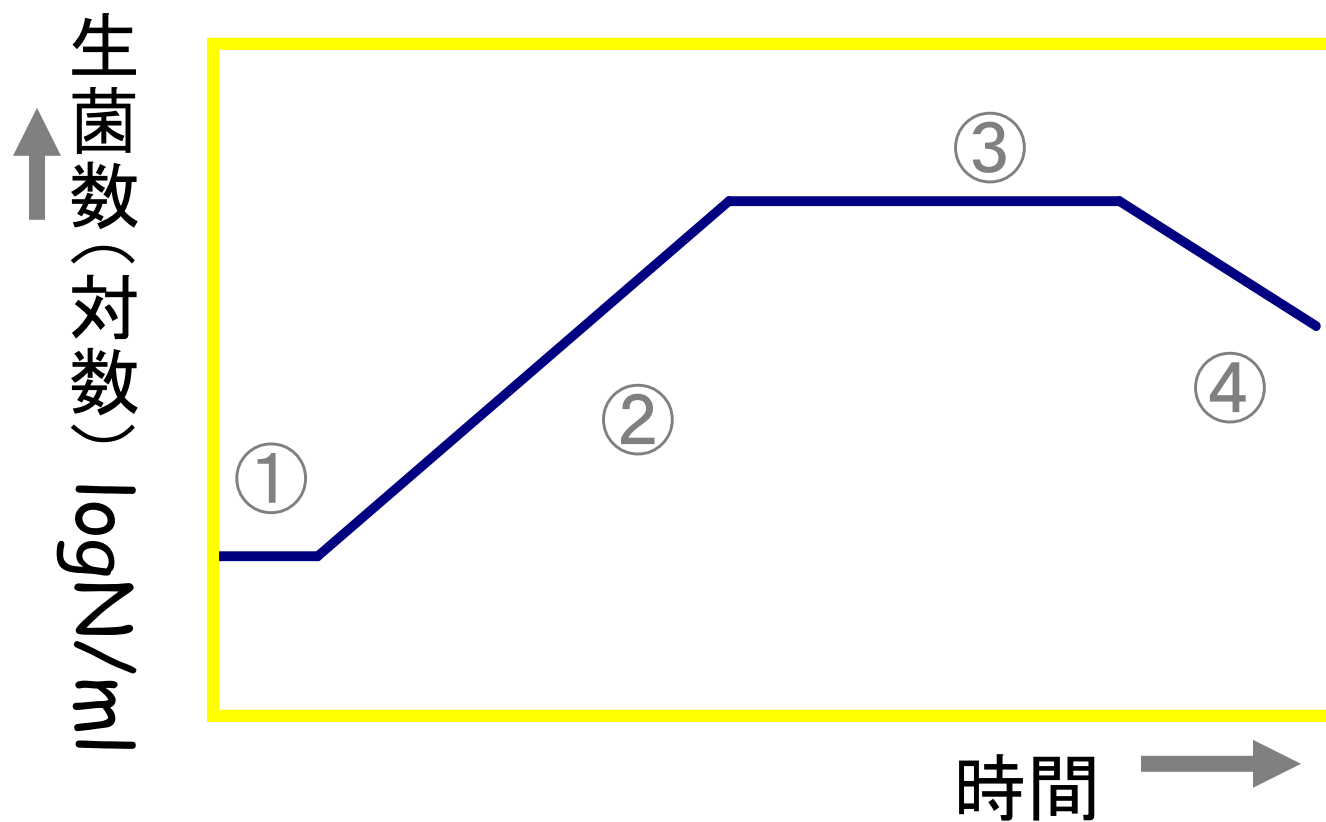
世代交代時間

- ・一回の分裂にかかる時間

- 培地・菌種・環境条件によって異なる

- * 例えば大腸菌なら15分、結核菌では15時間

細菌の増殖曲線

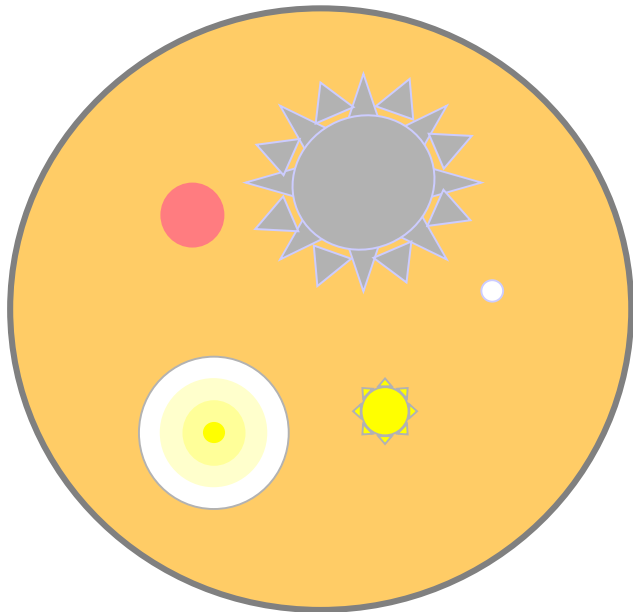


微生物の観察

肉眼で観察

コロニー(集落)で観察する

実体顕微鏡(立体観察可能、
数倍～数十倍)を用いるとより
詳細に観察可能



それぞれの微生物は個性的
なコロニーを形成する

細菌の培養に必要な条件

①温度

細菌の発育に適した温度を**至適温度**という

中温菌 (**37°C前後**) : **多くの病原性細菌**

低温菌 (15~20°C) : カンジダ

高温菌 (50~60°C) : 温泉などの細菌

細菌の培養に必要な条件

②酸素条件

好気状態：酸素分圧が15%以上

嫌気状態：酸素分圧が1%以下

→嫌気ジャー、嫌気BOXの利用

嫌気培養

嫌気チャンバー



嫌気培養

嫌気ジャー



酸素に対する感受性

	好気培養 (酸素あり)	嫌気培養 (酸素なし)
好気性菌	○	×
通性嫌気性菌	○	○
偏性嫌気性菌	×	○
好二酸化炭素菌	△(+CO ₂ で○)	○

- 好気培養: 酸素(+)で培養
- 嫌気培養: 酸素(-)で培養
- 炭酸ガス培養: 大気 + 10% CO₂

細菌の培養に必要な条件

③水素イオン濃度

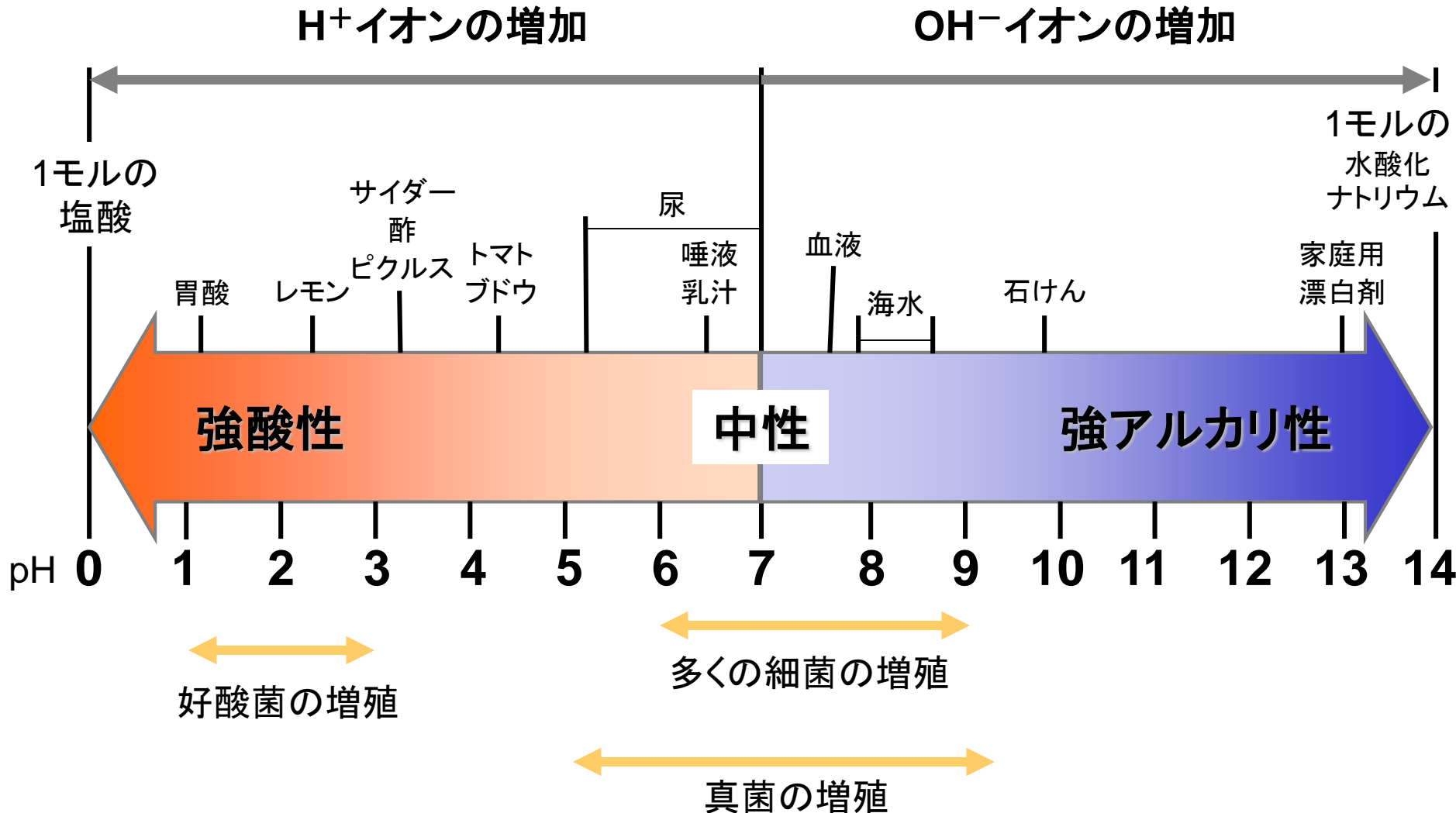
多くの細菌は至適pHを中性領域とする

(pH7前後)

好アルカリ性菌：コレラ菌：pH9～10

好酸性菌：乳酸桿菌：pH6

水素イオン濃度



培地の種類

非選択培地

栄養分豊富な培地

多種の細菌を培養することが可能

選択培地

培養する細菌の特徴を利用して、目的とする細菌のみを培養することが可能

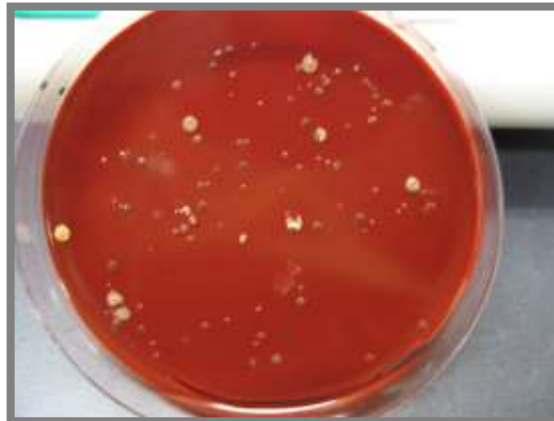
非選擇培地



BHIA
(brain heart
infusion agar)

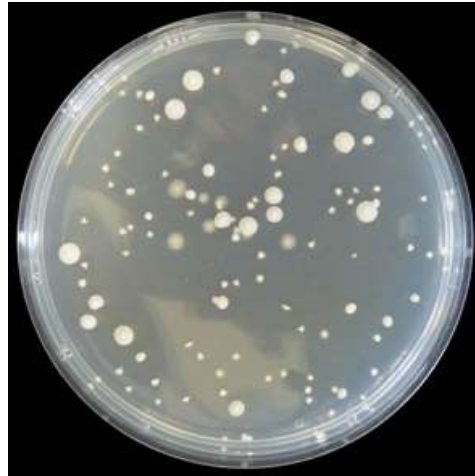
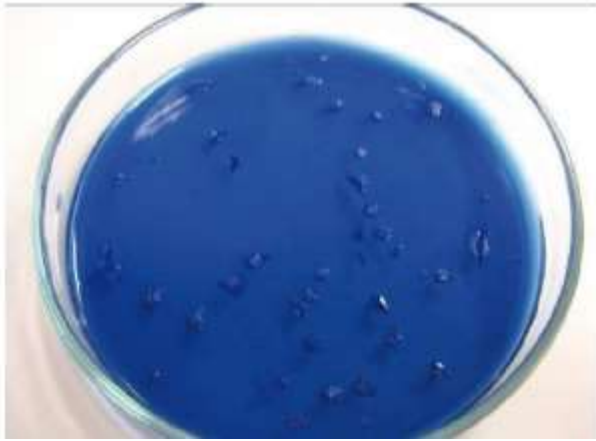


TSA
(trypticase
soy agar)



血液寒天培地
(好氣培養用)
CDC血液寒天培地
(嫌氣培養用)

選択培地



乳酸桿菌用

Rogosa (ロゴサ) SL
agar

レンサ球菌用

ミティス サリバリウス寒
天培地 (MS寒天培地)



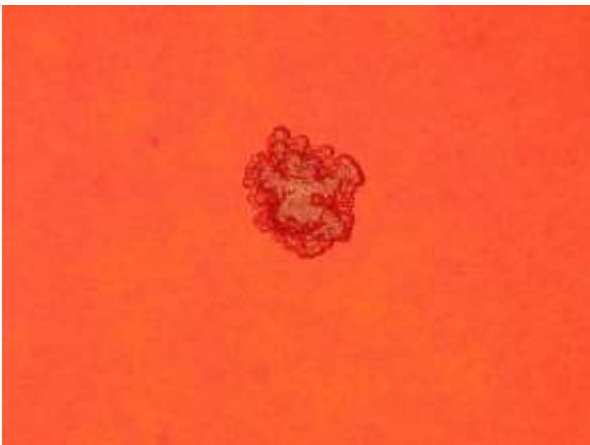
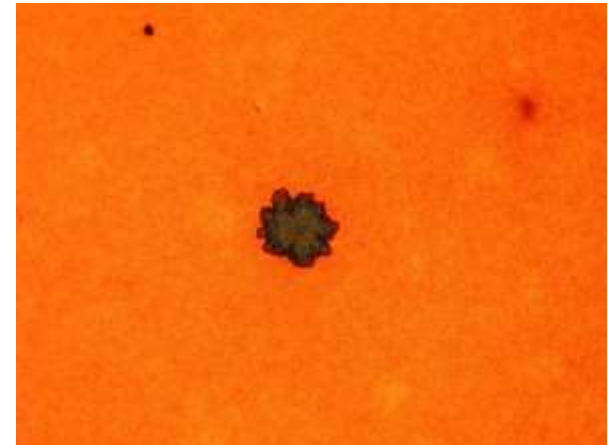
真菌用

サブロー寒天培地

实体顯微鏡



実体顕微鏡で観察すると・・・

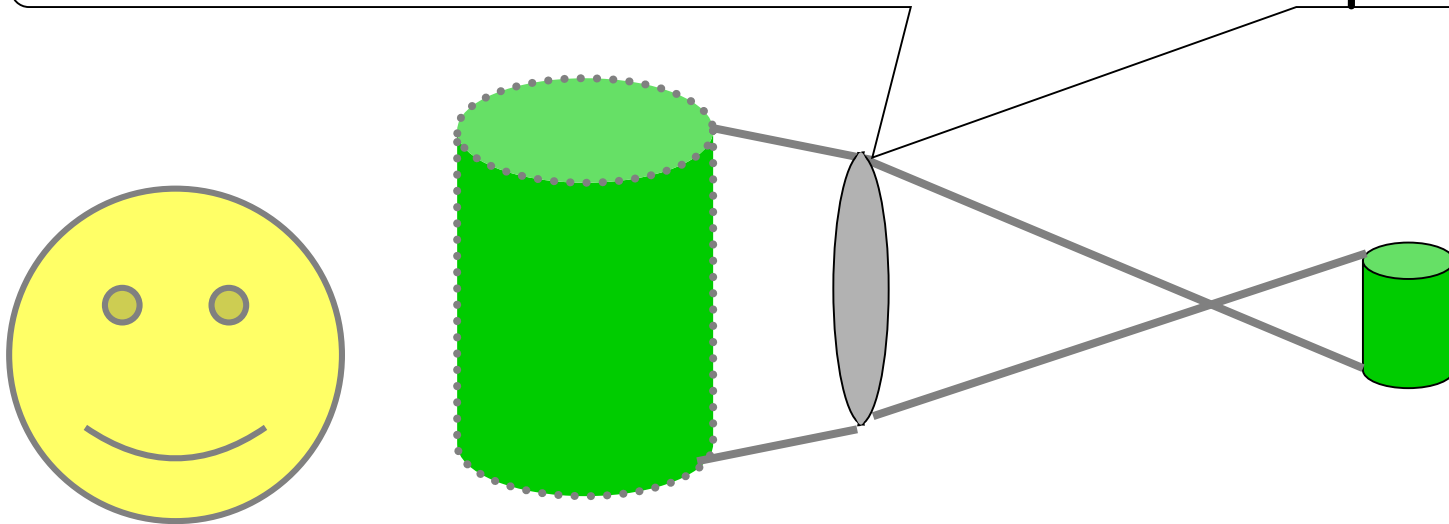


解像力

2つの点を2点を区別できる最短の距離

* 人間の眼では約0.1mm

凸レンズの利用: 数倍から20倍程度までup



➡ これを組み合わせせて様々な顕微鏡を開発

光学顕微鏡

染色して観察

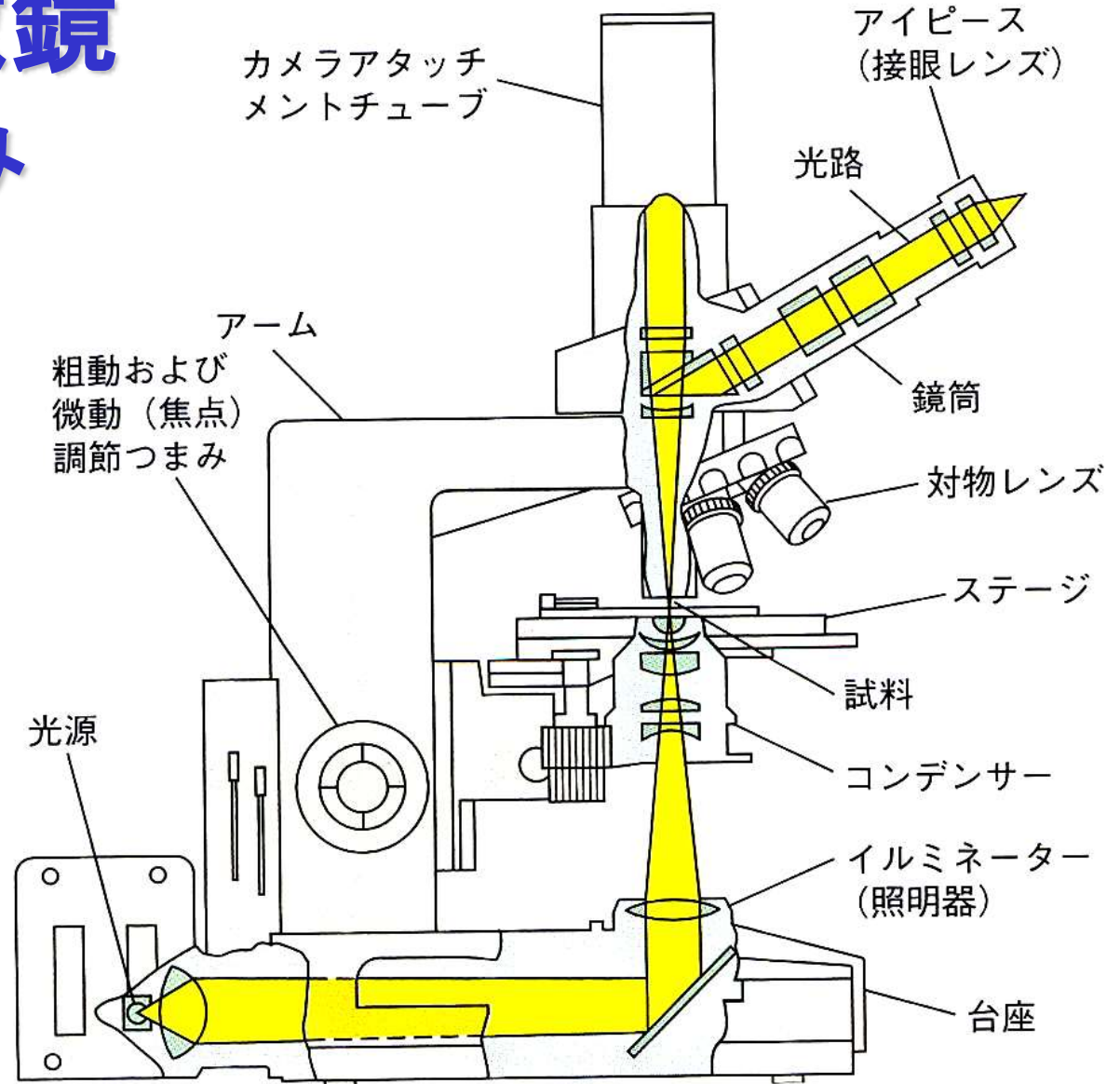
細菌は無色である

⇒細菌を固定(火炎固定)したのち染色する

光学顯微鏡



光学顕微鏡 のしくみ



ブラック微生物学(丸善株式会社)から引用

細菌の観察

光学顕微鏡

光学顕微鏡の総倍率

= 接眼レンズの倍率 × 対物レンズの倍率

細菌の観察

光学顕微鏡

構造

①接眼レンズ

②対物レンズ

細菌の観察では**油浸系**を用いる

*油浸オイル: 空気に置き換わって、光の屈折を防ぐ

細菌の観察

光学顕微鏡

③コンデンサー(集光器)

試料を通過させる光を集める

④その他

ステージ、粗動ネジ、微動ネジ、光源、といった部分からなる。

光学顕微鏡

染色して観察

細菌は無色である



細菌を固定(火炎固定)したのち染色する

染色の種類

①単染色

フクシン・メチレンブルー・ギムザなど

②グラム染色

細胞壁構造の違いによって2種に分類

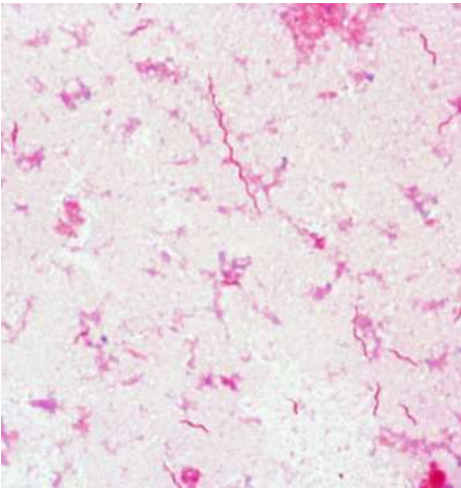
③特殊染色

細菌の染まりにくい器官や部位を染色する方法

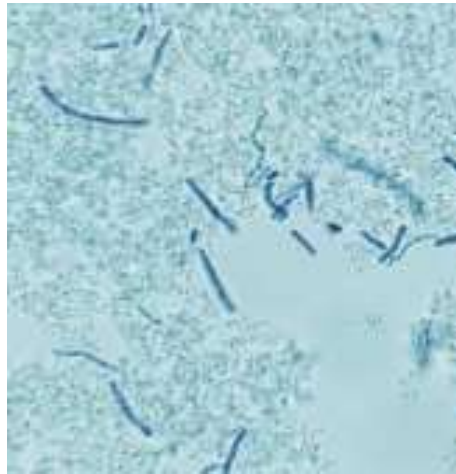
(鞭毛染色・芽胞染色・抗酸性菌染色など)

単染色

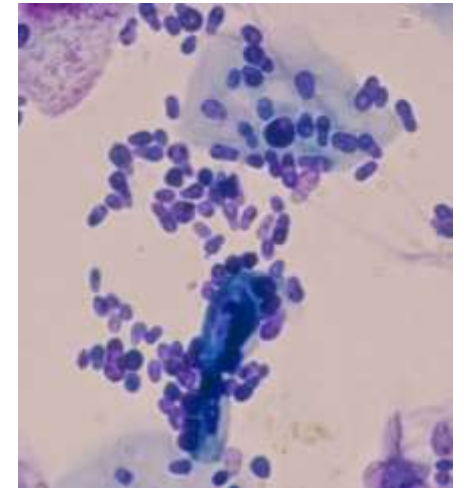
細胞形態・細胞配列・大きさの観察



フクシン



メチレンブルー

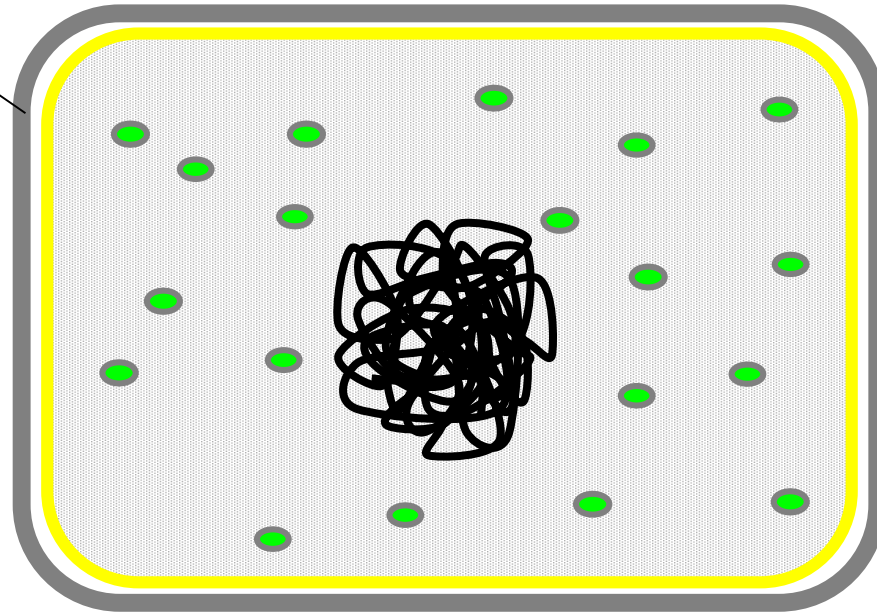


ギムザ

グラム染色

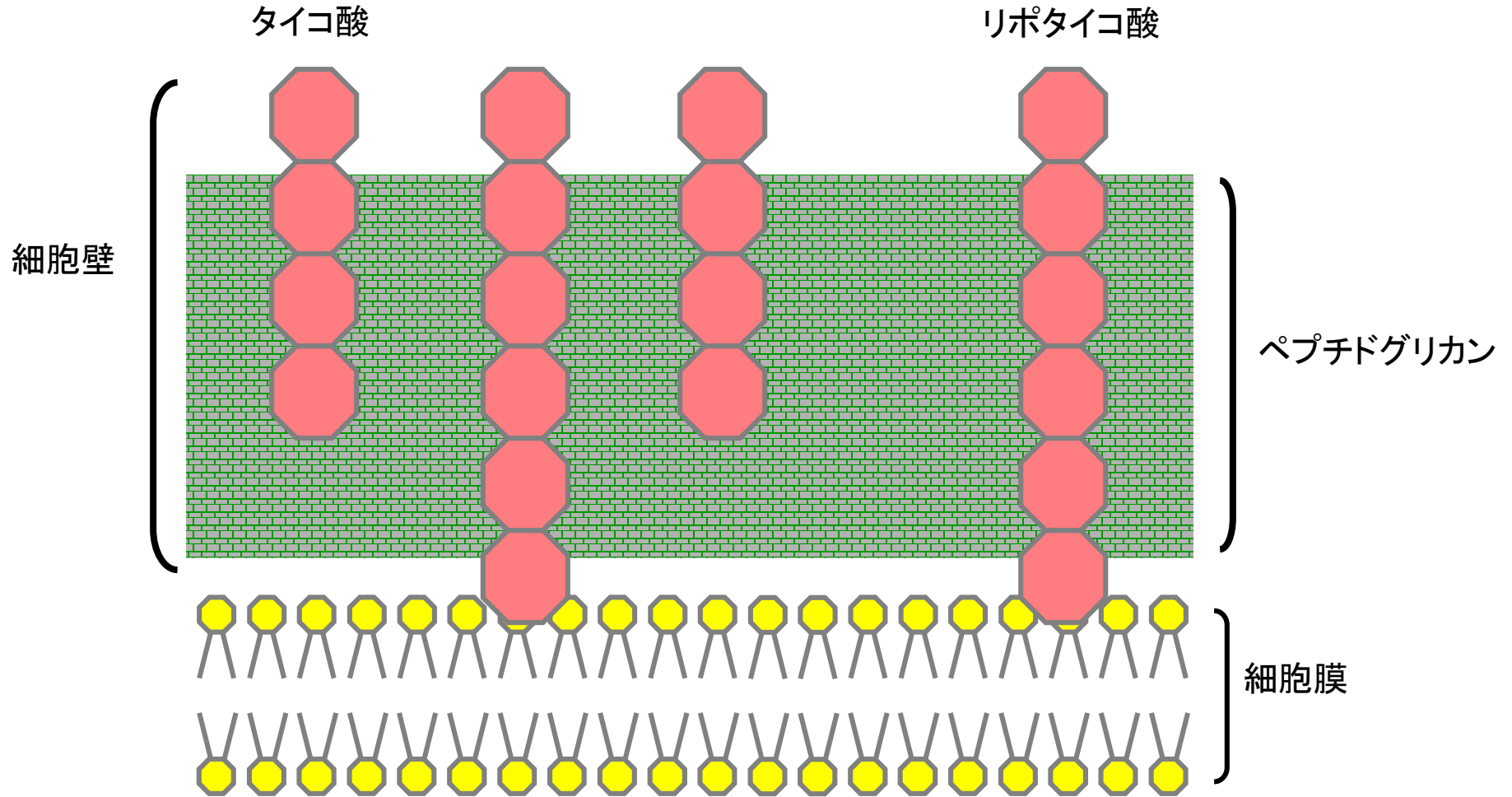
細胞形態・細胞配列・大きさの観察に加え、
グラム染色性の判定

細胞壁



細胞壁の構造

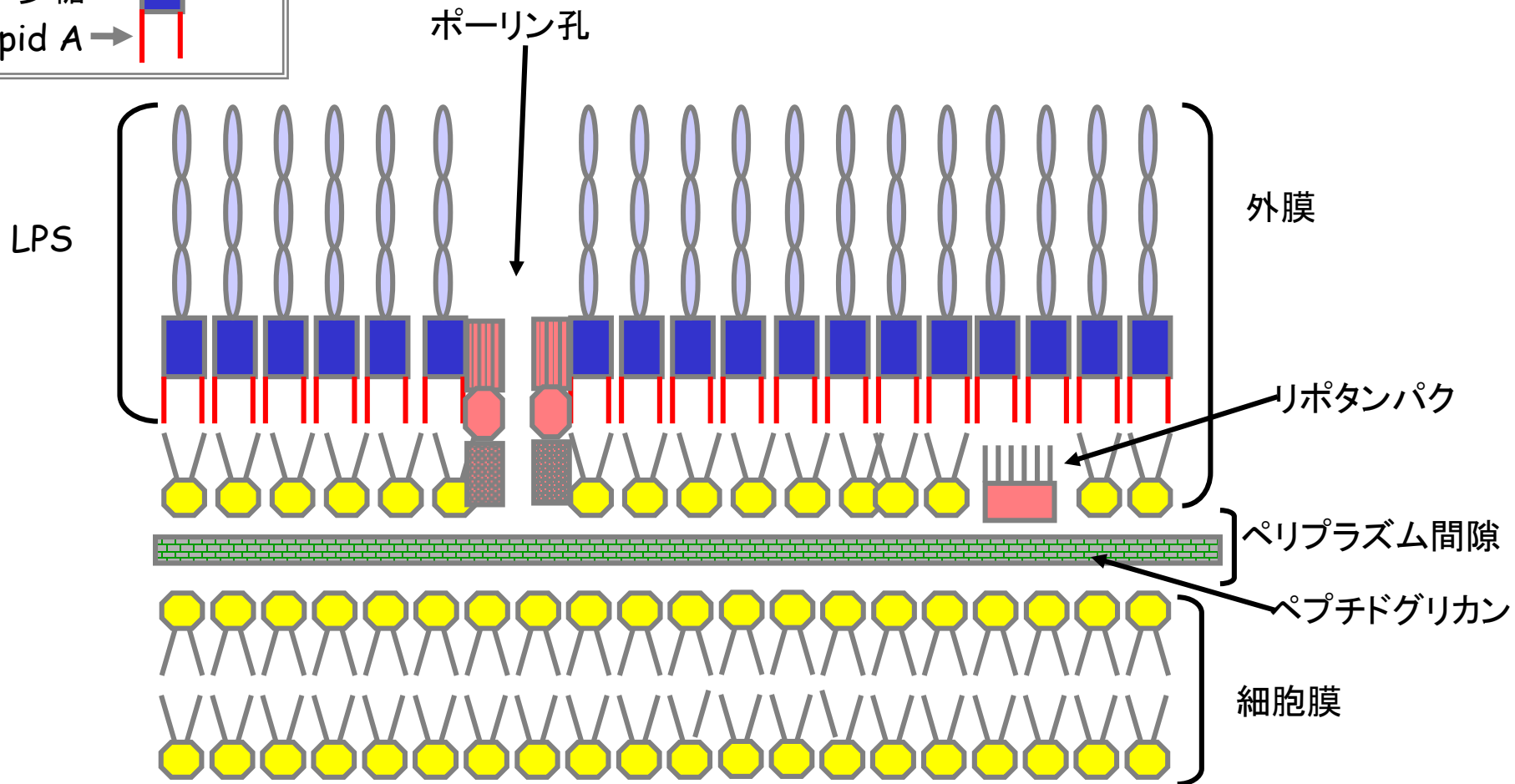
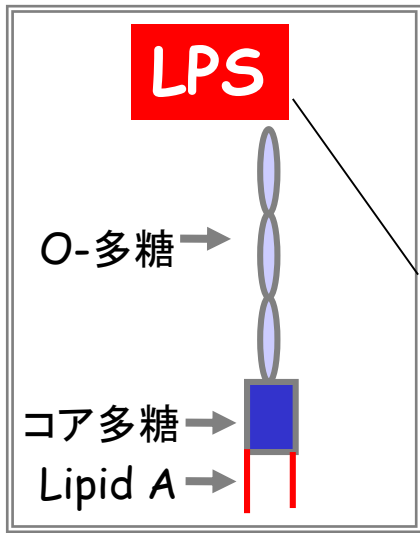
—グラム陽性菌(gram-positive bacteria)—



細胞壁の構造

—グラム陰性菌(gram-negative bacteria)—

(リポポリサッカライド
:内毒素)



グラム染色

【手順】

①塗抹

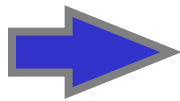
②乾燥

③固定

④染色

⑤乾燥

⑥鏡検



1. ゲンチアナ紫(1分)

2. ルゴール氏液(1分)

3. 無水エタノール(30～40秒)

4. 水洗

5. パイフェル氏液(2～3分)

6. 水洗

グラム染色

グラム陽性菌：紫色

ゲンチアナ紫

アルコール
→水洗

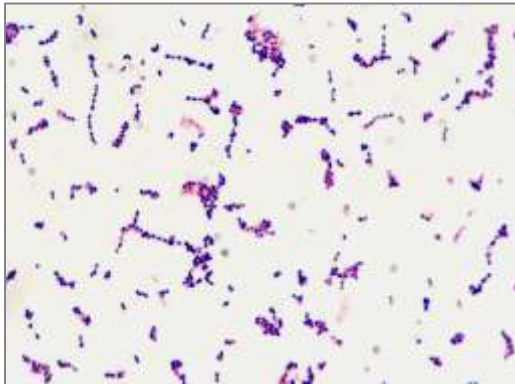
ピフェル氏液

細胞壁も
染まる

変化なし

赤色素より紫色
素のほうが濃い
→最終的に紫に
見える

細胞内に紫
色素が入る



Streptococcus mutans

グラム陰性菌→赤(ピンク)色

ゲンチアナ紫

アルコール
→水洗

ピフェル氏液

細胞壁も
染まる

アルコール
で細胞壁が
穴ぼこに

水洗で紫色素
は流される

ピンクに染
色される

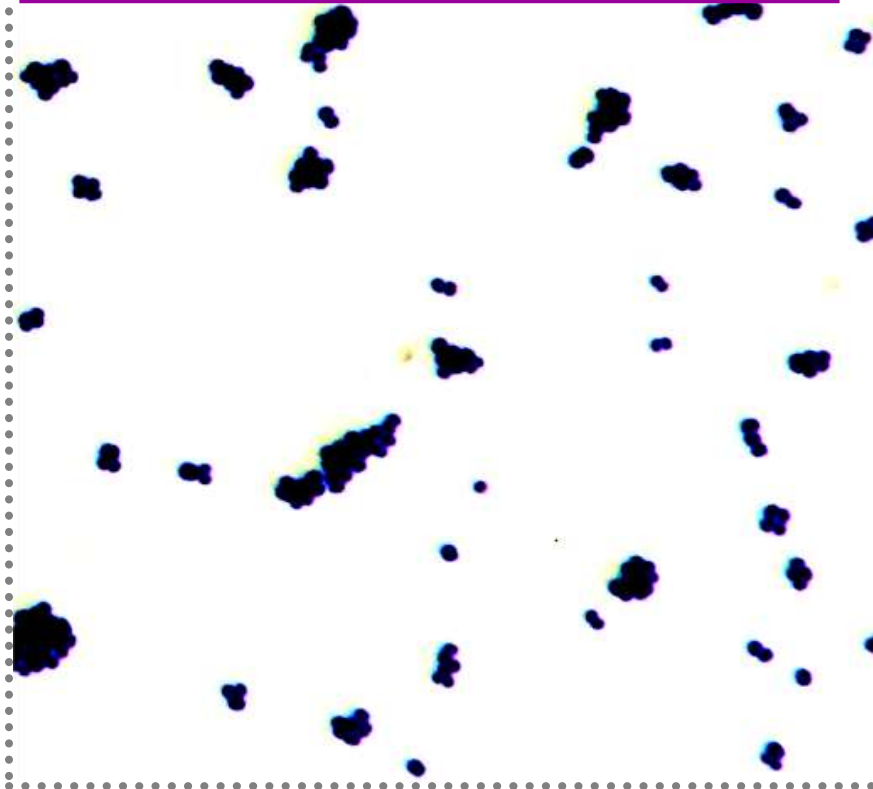
細胞内に紫
色素が入る



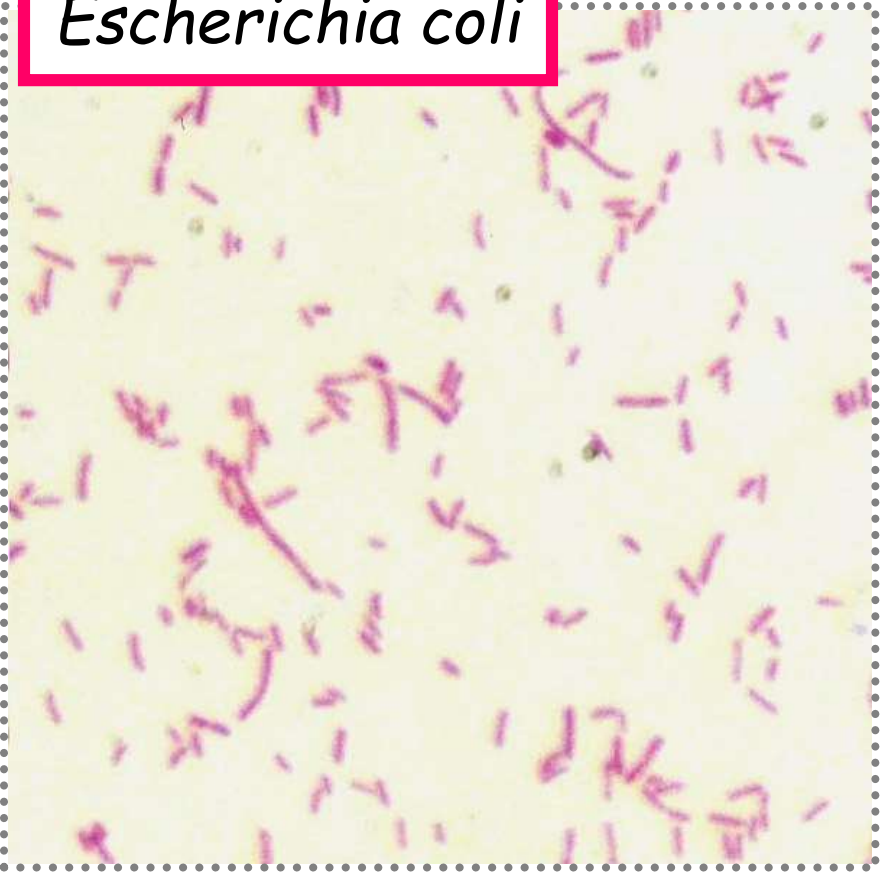
Capnocytophaga ochracea

グラム陽性菌とグラム陰性菌

Staphylococcus aureus



Escherichia coli



その他の光学顕微鏡

①位相差顕微鏡

屈折率の小さな差を増大・強調させる

特殊なコンデンサーを用いる

染色せず、**生きた細胞の観察が可能**

⇒ **運動性の観察**

⇒ **動画**

その他の光学顕微鏡

②暗視野顕微鏡

バックを暗くし、試料から光を屈折させる

特殊なコンデンサーを用いる

染色しない、**生きた細胞の観察が可能**

⇒**運動性**の観察

細菌の観察

電子顕微鏡

光線の代わりに電子線を用いる

1nm以下の解像度をもつ

細菌の観察

電子顕微鏡

①透過型電子顕微鏡

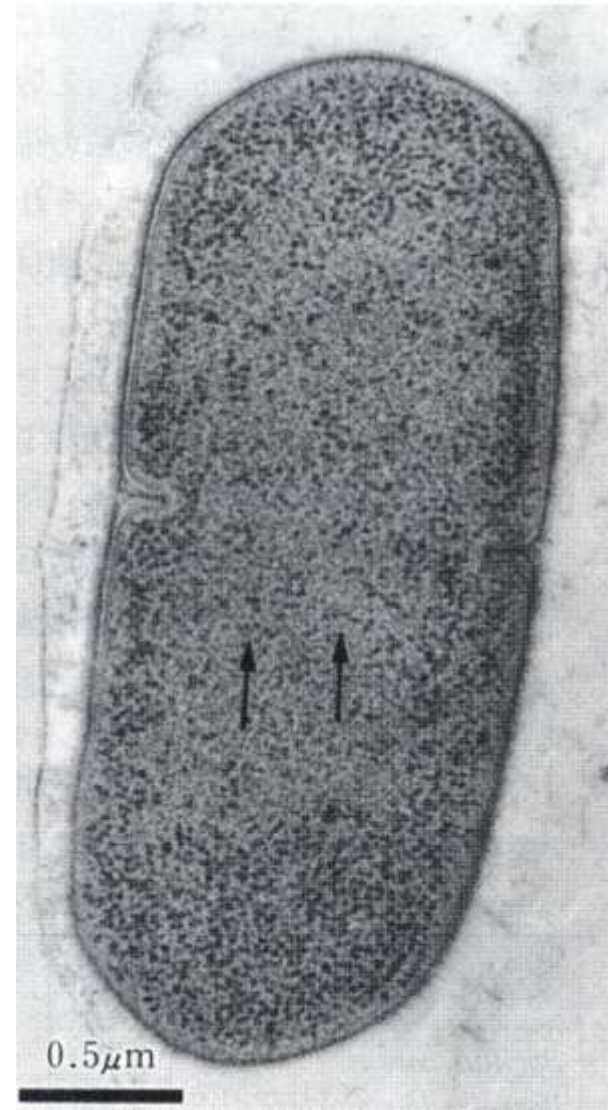
(TEM: transmission electron microscopy)

試料の超薄切片が必要

試料に電子線を通過させる

微生物**内部構造**の像を結ぶ

電子顕微鏡像 (TEM)



戸田新細菌学(南山堂)から引用

細菌の観察

電子顕微鏡

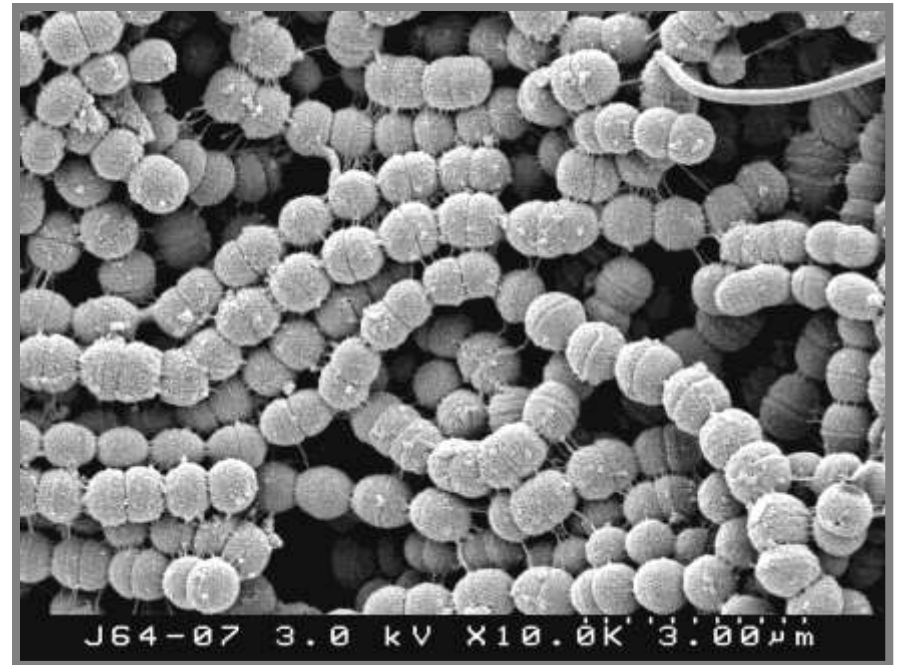
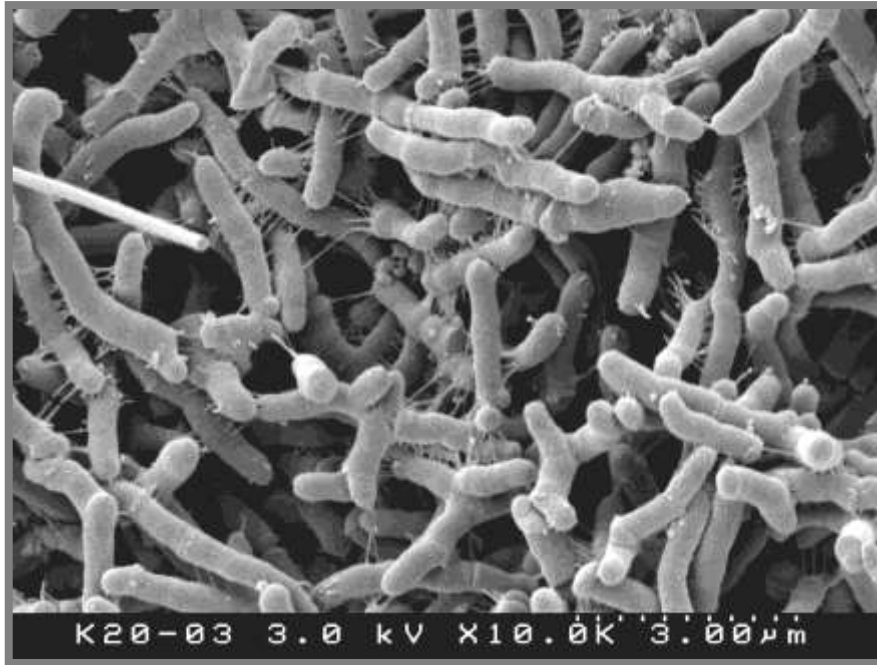
②走査型電子顕微鏡

(SEM: scanning electron microscopy)

電子線が試料の表層を**スキャン**する

表面構造を立体的に観察できる

電子顯微鏡像 (SEM)



分類学の父 リンネ

18世紀 C. Linnaeus

学名…二名法:ラテン語で表示



例:ヒト→*Homo sapiens*

ゾウ→*Elephas maxumus*

サクラ→*Prunus lannesiana*

二名法

Escherichia



属 (genus)

coli



種 (species)

ATCC8739



株 (strain)

ATCC : American Type Culture Collection

和名 : 大腸菌

- ・属名は大文字で始め、種名は小文字で始める。
- ・イタリック体で表記。

主な細菌の分類

グラム陽性球菌: ブドウ球菌、レンサ球菌

グラム陽性桿菌: 放線菌, コリネバクテリウム
乳酸桿菌、芽胞形成菌

グラム陰性球菌: ナイセリア

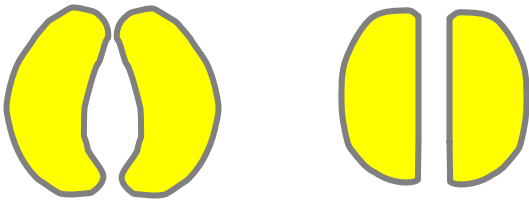
グラム陰性桿菌: 多くの腸内細菌
多くの歯周病原性菌

グラム陽性球菌

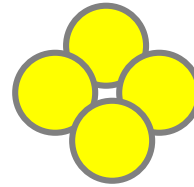
- 1) ブドウ球菌 (*Staphylococcus*)
- 2) レンサ球菌 (*Streptococcus*)
- 3) その他

球菌の種類

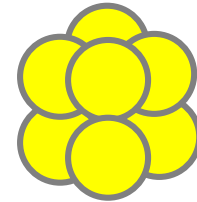
双球菌



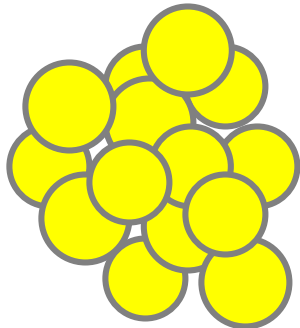
四連球菌



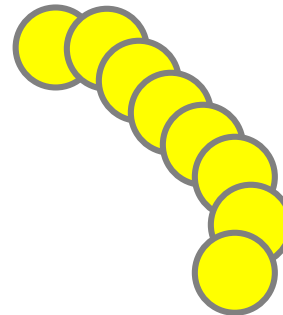
八連球菌



ブドウ球菌

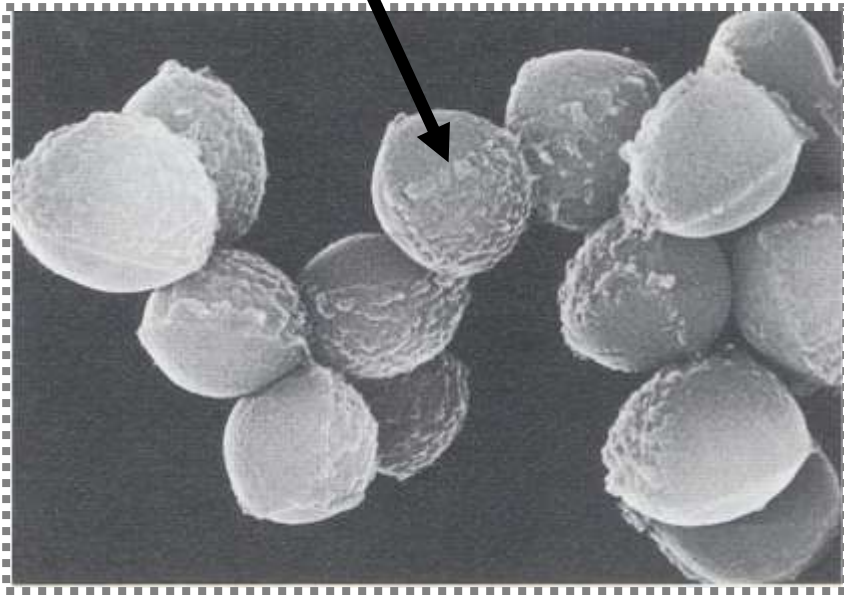


レンサ球菌

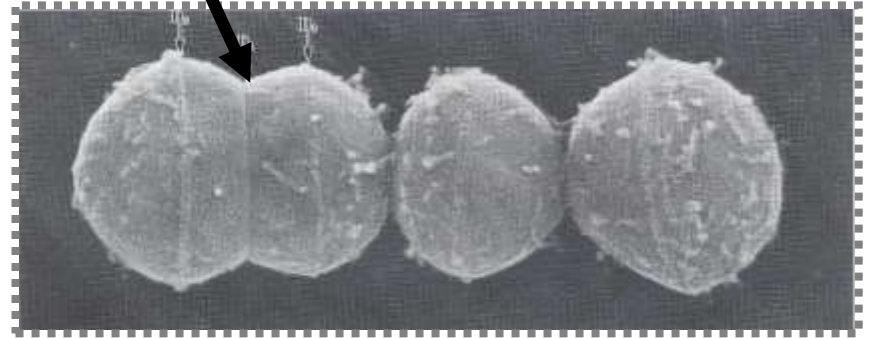


球菌の分裂様式

隔壁



隔壁



レンサ球菌

(*Streptococcus*: ストレプトコッカス)

ブドウ球菌

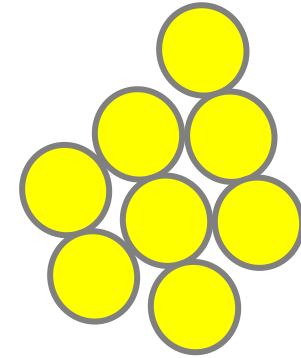
(*Staphylococcus*: スタフィロコッカス)

1) ブドウ球菌

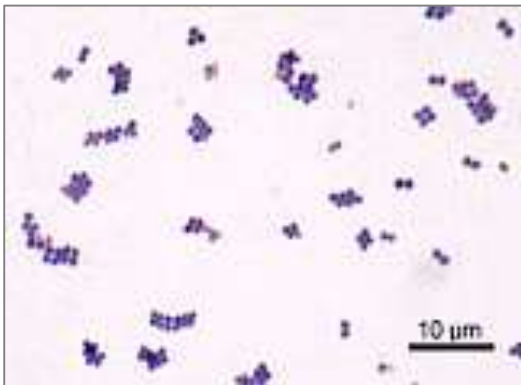
Staphylococcus: スタフィロコッカス属

特徴

- ・通性嫌気性菌



- ・高濃度の塩存在下でも生存可能
→ 選択培地はマンニット食塩培地



グラム染色像



1) ブドウ球菌

Staphylococcus: スタフィロコッカス属

種類

・表皮ブドウ球菌

(*S. epidermidis*: スタフィロコッカス エピテルミデイス)

表皮に常在

・黄色ブドウ球菌

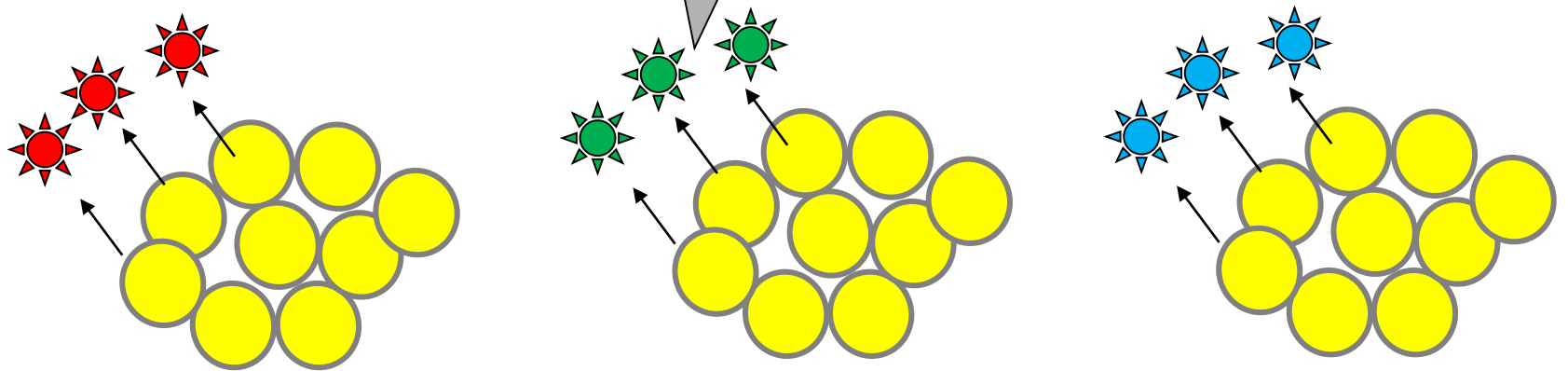
(*S. aureus*: スタフィロコッカス アウレウス)

鼻腔に常在



黄色ブドウ球菌の感染症

株によって
様々な種類の
毒素を出す



黄色ブドウ球菌の感染症

①化膿

とびひ(伝染性膿痂疹)

癬(おでき)

癰(せつの集合体)

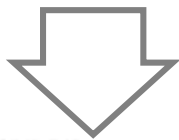


黄色ブドウ球菌の感染症

②食中毒：耐熱性のエンテロトキシン

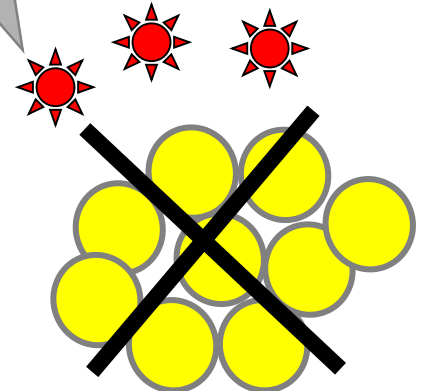


傷口のある手で作
ったおにぎり



時間がたって
菌が繁殖
↓
エンテロトキシン
産生

100℃30分の加熱
で失活しない
→食中毒をおこす



菌は死滅

黄色ブドウ球菌の感染症

③ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (Staphylococcal scaled skin syndrome)

表皮剥脱毒素をもつ*S.a*による
新生児ではリッター病という

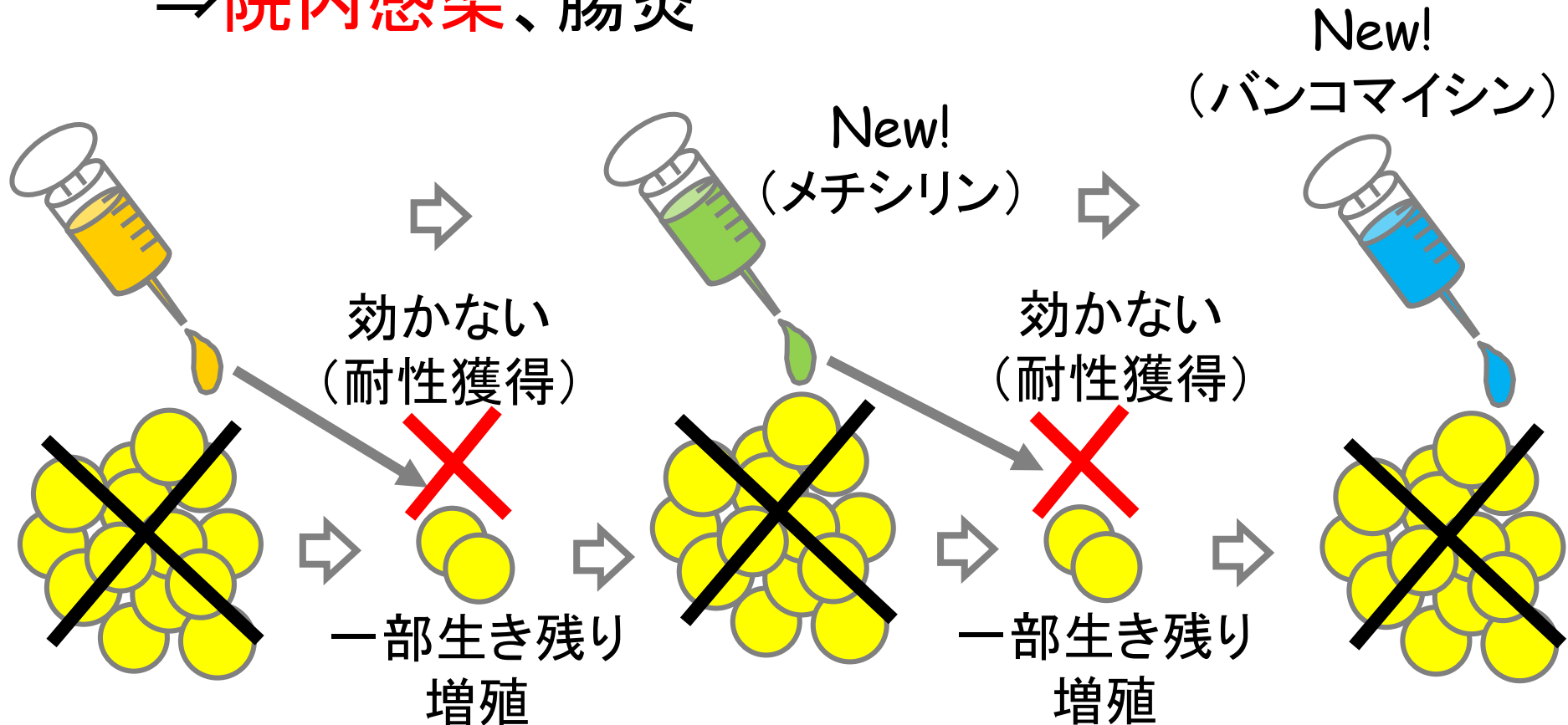


黄色ブドウ球菌の感染症

④MRSA:メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)

⇒院内感染、腸炎



黄色ブドウ球菌の感染症

⑤毒素性ショック症候群

(TSS:toxin shock syndorome)

・**TSST-1**(toxin shock syndorome toxin-1)をもつ*S.a*による

・**発熱**、**発疹**、**血圧降下**、**多臓器不全**、**ショック症状**

毒素性ショック症候群 (TSS)



警告

使用上の警告

タンポンの使用により、体質・体調等によっては、トキシックショック症候群(Toxic Shock Syndrome : TSS)が発症する可能性があります。

症状: 突然の高熱、発疹・発赤、倦怠感、嘔吐、下痢、粘膜充血、血圧低下など
もし、上記のような症状が発生した場合、直ちにタンポンの使用を中止し取り出し、この説明書を持って産婦人科など専門医を受診してください。その際、月経中であることを医師にお伝えください。

また、使用に際して不安がある方は、ご使用前に産婦人科などの専門医に相談してください。

TSSの発症の可能性を軽減する為、次のことを守ってください。

- ・タンポンは連続使用せず、ナプキンと交互に使用してください。
- ・1回のタンポンの使用は8時間を超えないでください。
- ・8時間を超えるような就寝の場合には使用しないでください。

TSSとは: 黄色ブドウ球菌の産生する毒素が原因で起こる急性疾患です。黄色ブドウ球菌は鼻腔・皮膚・頭髮・脇の下・陰毛・膣などにも存在し、タンポンの使用の有無に関係なく、切り傷や火傷などによっても発症する可能性があります。ごくまれに、死に至る重篤な症状を引き起こす可能性もあります。

使用に際しては、手指が清潔でなかったり、長時間使用や、取り出し忘れなどにより、黄色ブドウ球菌が増殖し、毒素を産生しやすくなるといわれています。この文書に従って使用することで、TSS発症の可能性を軽減できると考えられます。

TSS Q&A

TSSについてのご注意

タンポンは、説明書どおり正しくご使用いただければ、生理をより快適に過ごすことができます。しかし、ごくまれにトキシックショック症候群 (TSS: Toxic Shock Syndrome) という疾病にかかるという報告があります。

Q1 トキシックショック症候群 (TSS) とは何のことですか？

TSSとは、黄色ブドウ球菌の産生する毒素が原因で起こる急性疾患のことです。TSSの初期症状としては、突然の高熱を伴って発疹・発赤、倦怠感、嘔吐、下痢、粘膜充血などがあります。このような症状があらわれた場合には、直ちに医療機関で治療を受けないと血圧低下などのショック症状に至ることがあります。

Q2 タンポンを使用することで、どうしてTSSを発症することがあるのですか？

使用に際して手指を清潔にしなかったり、長時間使用したり、取り出し忘れなどにより黄色ブドウ球菌が増殖し、毒素を産生しやすくなるといわれています。商品に添付されている説明書に従って使用することで、TSS発症の可能性は軽減することができます。

Q3 TSSと思われる症状が発症した場合にはどうすればいいですか？

直ちに産婦人科などの専門医にご相談ください。ごくまれに、重篤な症状を引き起こす可能性もあります。タンポンを取り除き、商品に添付されている説明書をもって、診療を受けてください。症状を早期に発見し、適切な治療を受けることが大切です。

症状の名称	症状
トキシックショック症候群 (TSS)	突然の高熱、発疹・発赤、倦怠感、嘔吐、下痢、粘膜充血、血圧低下などの症状があらわれます。

*** もっと詳しくお知りになりたい方は ***

<http://www.sofy.jp/products/tampon/index.html>

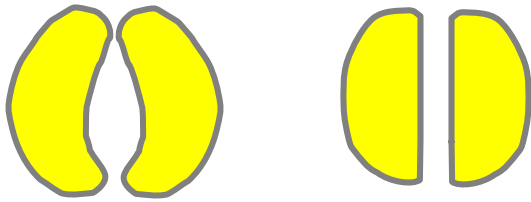


グラム陽性球菌

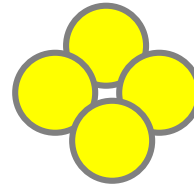
- 1) ブドウ球菌 (*Staphylococcus*)
- 2) レンサ球菌 (*Streptococcus*)
- 3) その他

球菌の種類

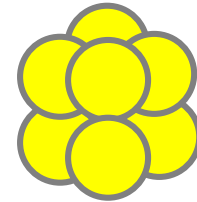
双球菌



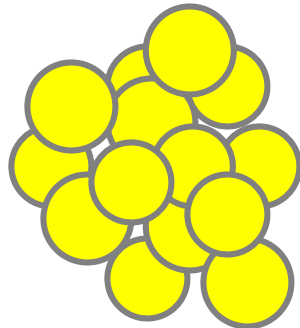
四連球菌



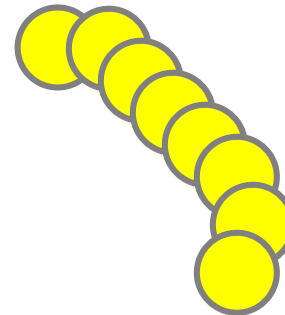
八連球菌



ブドウ球菌

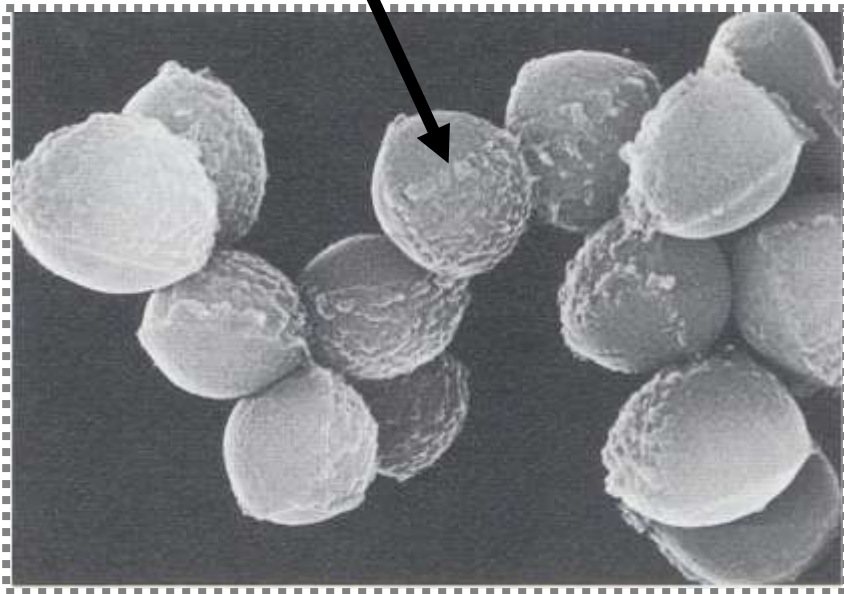


レンサ球菌

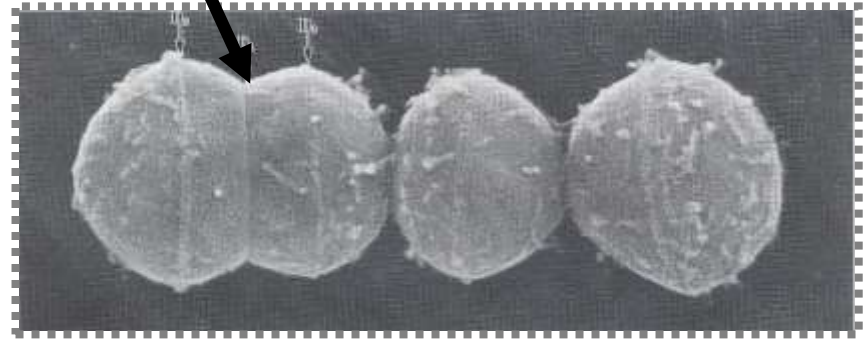


球菌の分裂様式

隔壁



隔壁



レンサ球菌

(*Streptococcus*: ストレプトコッカス)

ブドウ球菌

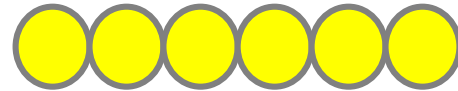
(*Staphylococcus*: スタフィロコッカス)

2) レンサ球菌

Streptococcus: ストレプトコッカス属

特徴

- ・通性嫌気性菌
 - ・高濃度の色素存在下でも生存可能
- 選択培地は **MS (ミティス サリバリウス) 寒天培地**



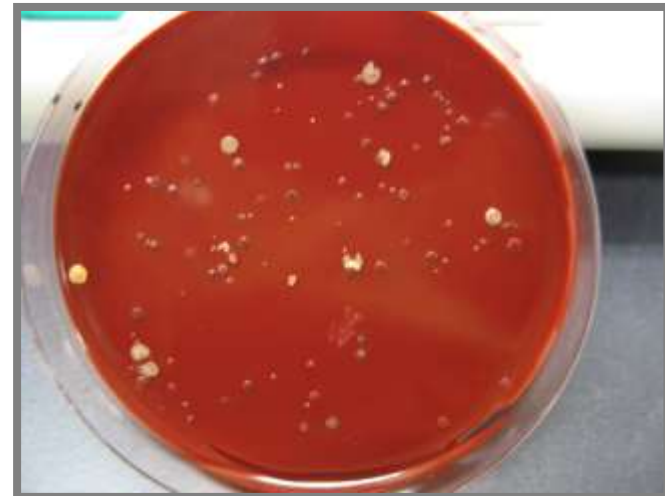
グラム染色像



レンサ球菌の分類

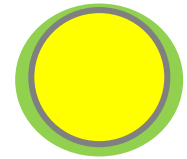
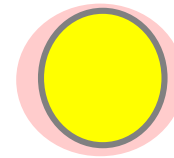
(1) ランスフィールドの分類
血清型による分類

(2) 溶血性による分類
血液寒天培地上で観察



1) ランスフィールドの分類

- **血清型** (表層構造) による分類



- A～V群 (I, Jは除く) に分類

- 化膿レンサ球菌は
A群レンサ球菌である

A群 - *Streptococcus pyogenes* (化膿レンサ球菌)
B群 - *Streptococcus agalactiae*
C群 - *Streptococcus equisimilis*、*Streptococcus equi*、*Streptococcus zooepidemicus*、*Streptococcus dysgalactiae*
D群 - *Enterococcus faecalis*、*Enterococcus faecium*、*Enterococcus durans* 及び *Streptococcus bovis*
E群 - *Enterococci* (エンテロコッカス属)
F、G及びL群 - *Streptococcus anginosus*
H群 - *Streptococcus sanguis*
K群 - *Streptococcus salivarius*
L群 - *Streptococcus dysgalactiae*
M及びO群 - *Streptococcus mitior*
N群 - *Lactococcus lactis*
R及びS群 - *Streptococcus suis*

ヒトに関連するレンサ球菌の分類

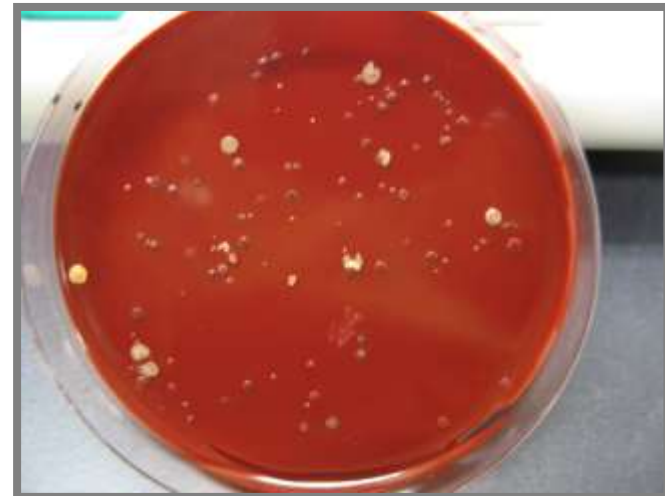
レンサ球菌の分類

(1) ランスフィールドの分類

血清型による分類

(2) 溶血性による分類

血液寒天培地上で観察

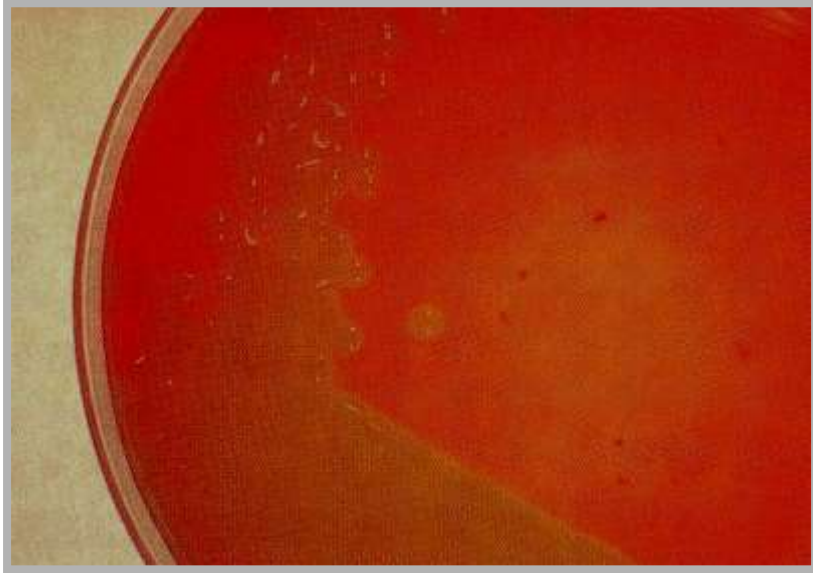


レンサ球菌の溶血性による分類



α溶血 β溶血 γ溶血

溶血環



α 溶血：不完全溶血

コロニー周囲に緑色の溶血環(緑色環)が見られる



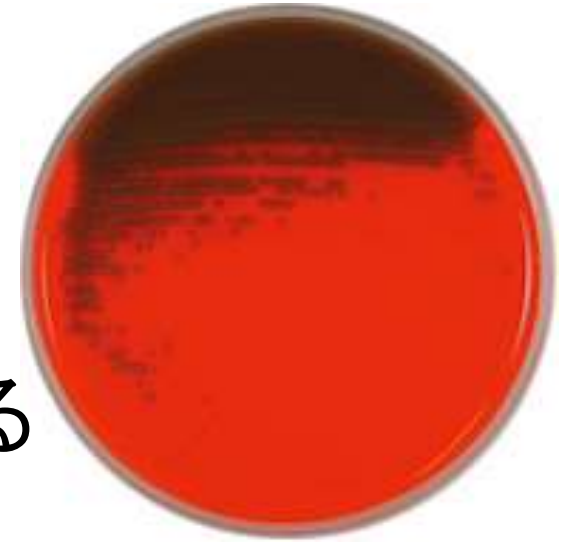
β 溶血：完全溶血

コロニー周囲の色が完全に抜けて見える

レンサ球菌の溶血性による分類

1) α 溶血：不完全溶血

- ・ **緑色環**の形成
- ・ 多くの**口腔レンサ球菌**が含まれる

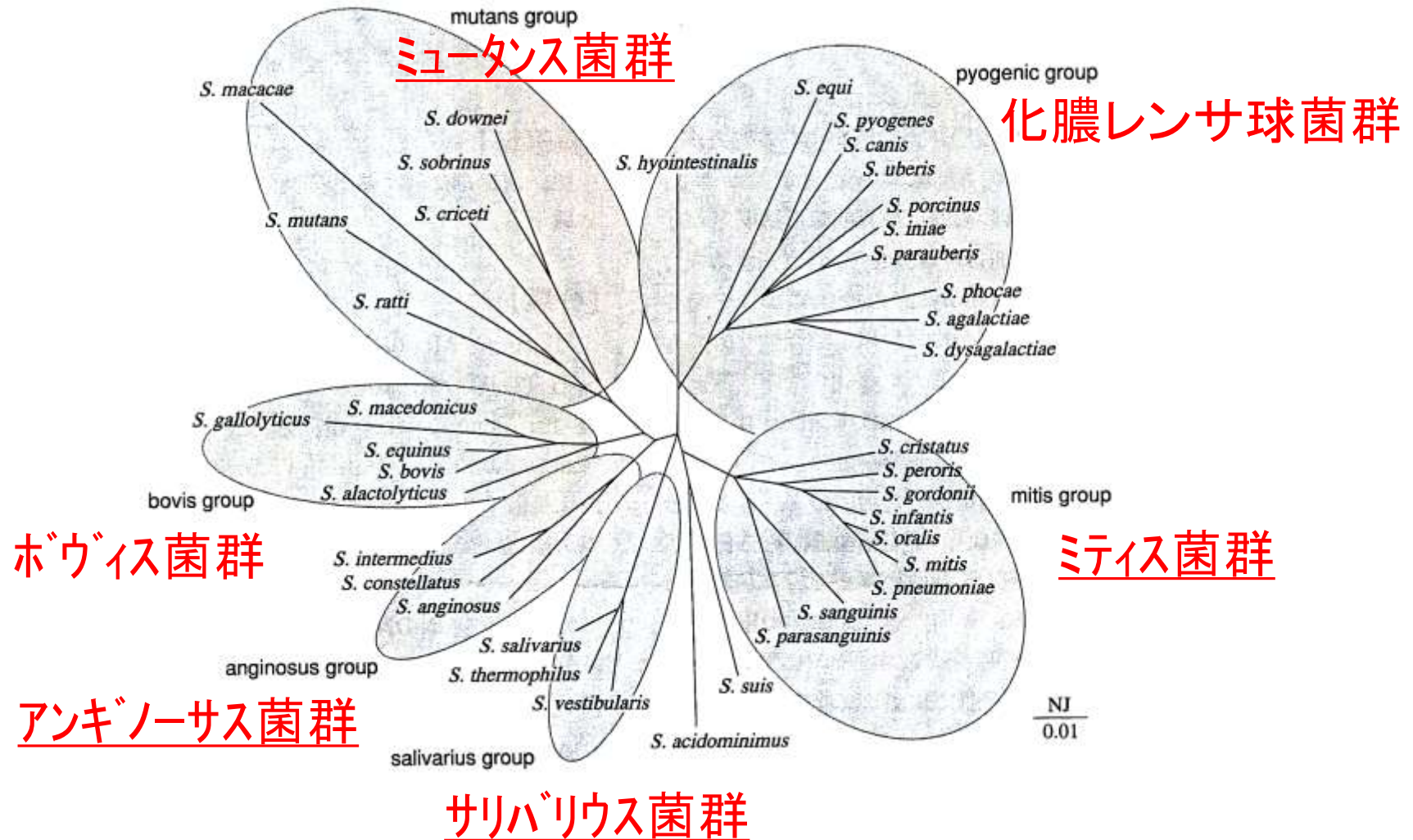


2) β 溶血：完全溶血

- ・ 化膿レンサ球菌が含まれる

3) γ 型：溶血しない

レンサ球菌の16S rRNA 遺伝子 による分類



2) レンサ球菌

Streptococcus: ストレプトコッカス属

種類

- ① 口腔レンサ球菌
- ② 化膿レンサ球菌
- ③ 肺炎レンサ球菌

①口腔レンサ球菌

Oral streptococci

mitis (ミティス) グループ

S. mitis (ミティス)

S. oralis (オラリス)

S. gordonii (ゴードニー)

S. sanguinis (サンギニス)

anginosus (アンギノーサス) グループ

S. anginosus (アンギノーサス)

S. constellatus (コンステラタス)

S. intermedius (インターメディウス)

salivarius (サリバリウス) グループ

S. salivarius (サリバリウス)

mutans (ミュータンス) グループ

S. mutans (ミュータンス)

S. sobrinus (ソブリナス)

2) レンサ球菌

Streptococcus: ストレプトコッカス属

種類

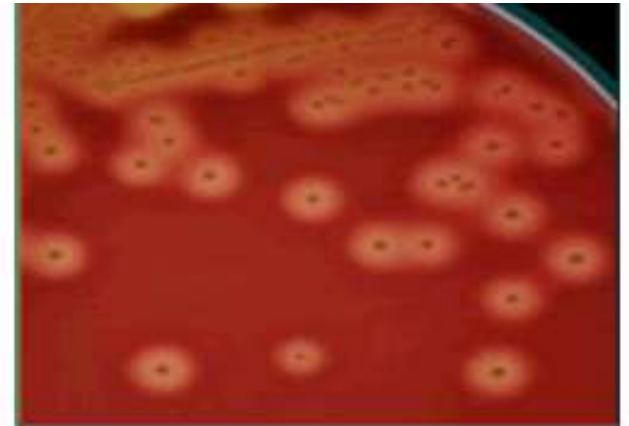
- ① 口腔レンサ球菌
- ② 化膿レンサ球菌
- ③ 肺炎レンサ球菌

②化膿レンサ球菌

Streptococcus pyogenes

ストレプトコッカス ピオゲネス

- **A群溶血性レンサ球菌**ともいう
- 溶血素(ストレプトリジン)を産生→β溶血を示す
- 化膿性疾患(扁桃炎、とびひなど)を起こす
- **溶連菌感染症**を起こす



溶連菌感染症

- ・小児期に好発

- ・発熱、咽頭炎、
皮膚発疹、イチゴ舌



- ・発熱毒をもつ *S. pyogenes* による疾患

- ・猩紅熱(しょうこうねつ)とも呼ばれる

劇症型A群レンサ球菌感染症

- ・ヒト食いバクテリアと呼ばれる
- ・壊死性筋膜炎、急性ショック症状を起こす



「人食いバクテリア」患者増 発症数十時間で死の危険も

平成29年12月25日

筋肉の組織を壊死(えし)させることから「人食いバクテリア」とも呼ばれる劇症型溶血性レンサ球菌感染症の患者が増えている。国立感染症研究所によると、今年患者数は1999年の調査開始以来、初めて500人を超えた。発症すると数時間で重症化して死に至ることもあり、注意が必要だ。

感染研によると、今年患者数は10日までに525人。2013年は203人だったが、年々増加している。(中略)

原因となるのは、主にA群溶血性レンサ球菌。子どもを中心に咽頭(いんとう)炎を起こすことで知られているが、一部が劇症型になる。(後略)

2) レンサ球菌

Streptococcus: ストレプトコッカス属

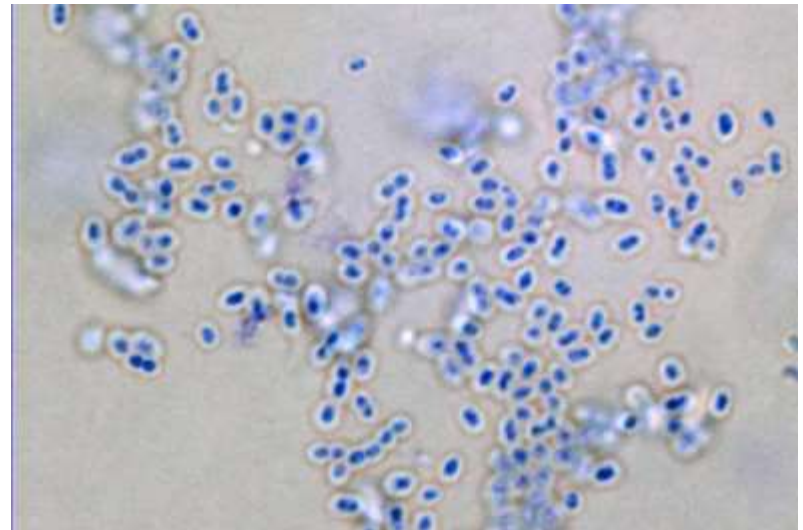
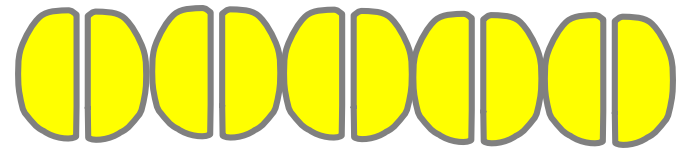
種類

- ① 口腔レンサ球菌
- ② 化膿レンサ球菌
- ③ 肺炎レンサ球菌

③肺炎レンサ球菌

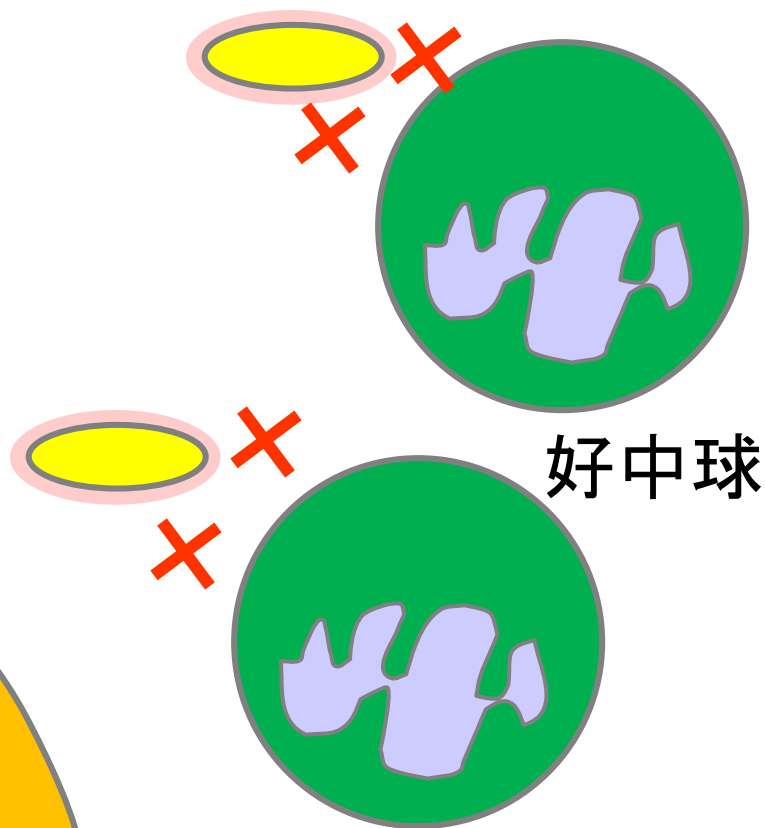
Streptococcus pneumoniae (ストレプトコッカス ニューモニエ)

- 肺炎をおこす
- 莢膜をもつ



莢膜

莢膜があると
貪食できない



③肺炎レンサ球菌

なぜ肺炎予防は大切なのでしょうか？



肺炎は日本人の死因の第3位¹⁾



肺炎による死亡者の約95%は65歳以上¹⁾



肺炎は発症後に急に悪化することもある²⁾



1) 厚生労働省、人口動態統計(確定数)2012年

2) 厚生労働科学研究費補助金、新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析、その診断・治療に関する研究(H22-新興-一般-013)報告書

2014年7月作成
PMV14PH023-0716

高齢者を対象にした肺炎球菌ワクチンの接種費用の一部を公費で負担する定期接種を開始!

肺炎球菌とは

肺炎球菌は主に気道の分泌物に含まれる細菌で、唾液などを通じて飛沫感染し、気管支炎や肺炎、敗血症などの重い合併症を引き起こすことがあります。

肺炎はわが国の死亡原因の第3位となっています。また、日常的に生じる成人の肺炎のうち1/4~1/3は肺炎球菌が原因と考えられています。

平成26年10月1日から定期接種になりました

平成26年10月1日から平成31年3月31日までの間に、主に65歳以上で裏面の生年月日に該当する方は、肺炎球菌ワクチンの定期接種を1回受けることができます。定期接種の対象となる方は毎年異なるため、この機会を逃さないようにご注意ください。くわしくは裏面をご覧ください。



詳細については、お住まいの市区町村にお問い合わせください。

医療機関名

グラム陽性球菌

- 1) ブドウ球菌 (*Staphylococcus*)
- 2) レンサ球菌 (*Streptococcus*)
- 3) その他

3)その他のグラム陽性球菌

① *Peptococcus* (ペプトコッカス属)

② *Peptostreptococcus* (ペプトストレプトコッカス属)

- 偏性嫌気性菌
- 口腔膿瘍から分離されることがある
- 病原性は低い



3)その他のグラム陽性球菌

③ *Enterococcus* (エンテロコッカス属)

- ・腸管内に常在
- ・バンコマイシン耐性エンテロコッカスの出現
(VRE : Vancomycin-resistant *Enterococcus*)



ビオフェルミン公式HPより