

結核菌ノ生物學的研究 其二

培養法ヲ異ニスル結核菌體ノ化學的藥品ニ對スル性狀 其一

大阪市立刀根山療養所

(所長有馬博士) 醫學士 辻 川 健 次

緒 言

結核菌ハ何處ヨリ來リテ人體ニ寄生スルニ至リタルヤ、ソノ以前如何ノ生活狀態ヲ持シ竝ニ生活條件ヲ必要トシタルヤ、人體ヲ放レ若クハ吾人ノ今日見テ彼等ノ生活ニ適當ナリト考フル培養法ヲ變更スルトキ如何ノ適變ヲナスヤ、其際ニ於ケル彼レノ化學的構造ニ如何ノ變調ヲ來スヤ等ハ今猶悉ク未決ノ問題タリ。偶々有馬、青山、太繩氏等⁽¹⁾ハ「サポニン」ヲ加ヘタル培養基内ニ結核菌ヲ培養シテ蠟質ニ乏シキ結核菌ヲ得、矢部氏竝ニ其共著者等⁽²⁾ハ全ク抗酸性ヲ有セザルモノヲスラ得タリ。川村氏⁽³⁾亦卵黃ヲ炭酸曹達ニテ處理シタル培養基ヲ用ヒテ一種特異ノ培養菌ヲ得タリ。蓋シ結核菌ハ其生活條件ノ異ナルニ從テ亦能ク比較的速ニ適應變化スルモノ、如シ、余ハ此等ノ適變ニ際シテ結核菌ノ現ハス化學的性狀ノ多クノ點ヲ知ラント欲シテ一實驗ヲナシ茲ニ其第一報ヲナスモノナリ。

材料及ビ實驗方法

牛型結核菌(牛阪大株)人型結核菌(フランクフルト株)人型結核菌刀根二五號株ノ芳我氏無蛋白培養基上一ヶ月培養、二五號株ヲ三%「サポニン」加無蛋白培養基ニ一ヶ月培養セルモノ(「サ」菌……「サポニン」加培養基上ノ第一代ナリ)及ビ「グリセリン」加肉汁培養「アルカリ」ニテ處置シ「クロロフォルム」ヲ以テ脱脂シタルモノヲ同一「オブエクト」硝子上ニ同様ニウスク塗抹シ、各種周知ノ染色法ヲ行ヒ其染色狀態ヲ比較セリ。

成績

一、二五號菌ト「サ」菌トノ菌長ノ相違。

チールネールゼン氏法染色ヲ施シ「ミクロメーター」ヲ以テ各二百個ノ菌長ヲ測定ス、二五號菌、最長三・二μ、最短〇・三二μ、平均一・一八四μ、「サ」菌最長六・〇八μ、最短〇・九六μ、平均二・三八四μ、種々ノ長サノ菌ノ存在ス

「サ」	25	長μ
0	10	0.32
0	7	0.64
1	32	0.96
10	24	1.28
25	28	1.60
45	25	1.92
38	7	2.24
25	5	2.56
16	1	2.88
19	4	3.20
6	0	3.52
3	0	3.84
6	0	4.16
2	0	4.48
1	0	4.80
1	0	5.12
1	0	5.44
0	0	5.76
1	0	6.08

ル割合次ノ如シ。

即チ二五號菌ハイーストウッド氏

(4)ガ馬血清上ニ培養セル結核菌ニ

ツキ測定セル平均菌長ニ相當セル

長サヲ有スルニ、「サ」菌ハ約ソノ二倍ノ長サヲ有セリ。

二、菌ノ太サハ「ミクロメーター」ニハ尺度大ニ過ギ測定正確ナラザル故之レヲ行ハズ。目測上「サ」菌二五號菌ソノ他ノ菌ノ間ニ大差ナキモノ、如シ。

三、コッホ氏染色原法。

染色液ヲ攝氏四十度ニ加温シ三分間染色ス牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌ハ弱ク染色シ「サ」菌ハ可ナリヨク染色ス脱脂菌ハ最モ染色悪シ(脱脂菌ハ脱脂シ食鹽水ニ浮遊トナシテ後可ナリ長ク時日ヲ經過セルモノヲ用ヒタリ)。

同染色液ニテ十五分間加温染色スルニ、

牛阪大株、フランクフルト、株二五號菌共ニ最多數濃染シ、「サ」菌ハ最モ良ク濃染セリ、是等ノ内淡ク染色セル菌ハ多クハ數個ノ濃染セル顆粒ヲ有ス。

四、コッホ、エーヤリヒ氏法。

五十度二分間染色、八%硝酸(HNO_3)トシテ(三秒、六〇%酒精一分)

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌ハスベテ紫色ニ染ミ濃染セル顆粒ヲ有ス。タダ「サ」菌ニハ淡紫色ニ染メル菌少數存ス。脱脂菌ハ原染色ニハ染マズ、後染色ニ淡ク染色ス。以下述ブル總テノ染色法ニ於テ皆然リ、今後特ニ記載セズ。

五、チール。チールゼン氏液染色一〇%亞硫酸曹達還元。「メチーレン」青後染色(コーンリヒ氏法變法)。

一〇%亞硫酸曹達十分。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌、「サ」菌共ニ少數ノ後染色ニ染メル菌アリ。チール、チールゼン氏液ノ對稱後染色ニハスベテ稀薄「メチーレン」青液(一%石炭酸水一〇〇・〇㍈、酒精飽和「メチーレン」青一・〇㍈)ヲ以テ染色セリ、後染色ヲ行ハザレバ完全ニ脱色セル菌ヲ見出スコト困難ニシテ又若シ後染色ガ濃キニ失スルトキハ赤染シ居リシ菌ヲモ青染シテ大ナル誤リヲ來スベシ。種々ノ脱色操作ニヨリテ脱色スルニ脱色ニ抗シ濃染セル菌ト全然無色ト見ラル、迄ニ脱色セル菌トノ間ニ漸進的移行アルヲ知ルベク、如何ナル點ヲ以テ脱色非脱色ノ判定ヲナスベキヤ決定シ難シ。余ハ稀薄「メチーレン」青液ヲ以テ數分間染色シ場合ニヨリテハ一%鹽化水素水及ビ酒精ヲ以テ脱色シ極メテ淡ク青染スルヲ度トシ此ノ際ニ於ケル赤染菌ヲ抗脱色菌、青染菌ヲ脱色菌ト看做セリ。

亞硫酸曹達一〇% 三十分ニテハ、

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌、「サ」菌共ニ稍々多數ノ青染菌ヲ見ル、但シ「サ」菌ニ於テ其數最モ多キガ如シ。

今「サ」菌ト二五號菌トニ就テ數的ニ比較セル所ヲ示セバ。

「サ」菌	青	三九%	平均菌長	二・二三 μ 。
赤		六一%	平均菌長	二・三五 μ 。
二五號菌	青	二六%	平均菌長	一・二六 μ 。
赤		七四%	平均菌長	一・二七 μ 。

上記實驗ニ見ル如ク一〇%亞硫酸曹達還元法ヲ行ヘバ、十分ニシテ培養結核菌ノ一小部ハ脱色ス。三十分ニシテハ三〇%内外ノ脱色菌ヲ見ルベシ。綿引、矢崎兩氏⁽⁵⁾ニヨルバチールチールゼン氏液ニテ二分間冷染セル結核培養喀痰塗抹標本中ノ結核菌ハ一〇%亞硫酸曹達(五〇%ニテモ)ノ三十分ノ作用ニヨリテハ脱色セラル、コトナシト云フモ、余ノ方法ニテハ上記ノ如ク著明ノ脱色ヲ見ル。

六、チールチールゼン氏染色法、「メチレン」青後染色。

一%鹽化水素水一分間、七〇%酒精一分間牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌「サ」菌スベテ赤染ス但シ「サ」菌ニハ極メテ淡染セル菌混在ス。

一%鹽化水素水十分間、酒精一分間。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌共ニ極メテ少數ノ青染菌アリ。「サ」菌ニハ半數ニ近ク青染菌アリ。

一%鹽化水素水三十分間、酒精一分間。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌共ニ少數ノ青染菌アリ。

「サ」菌 青染菌六〇% 平均菌長二・三二四^μ。

赤染菌四〇% 同 一・七五^μ。

一%鹽化水素水六十分間、酒精一分間ニテ二五號菌ハ

青染菌四一% 平均菌長一・五〇^μ。

赤染菌五九% 同 一・二二八^μ。

三%鹽化水素水六十分間、酒精一分間。

各菌共甚シク脱色シ濃染赤色菌甚ダ少シ、然シテ「サ」菌ニ於テモ猶ホ極少數ノ淡赤染菌ヲ見ル。

即チ「サ」菌ハ他ノ培養菌ニ比シテ抗酸性著シク減弱セリ。今其度ヲ同一狀態ニ迄脱色セシムルニ要スル時間ニヨリテ見ルニ「サ」菌一ニ對シ二五號菌 $\frac{1}{2}$ トナル、即チ「サ」菌ノ抗酸性ハ「サ」ボニン⁽⁶⁾加無蛋白培養基ニ一代培養スルコトニ

ヨリ迄乃至 $\frac{1}{6}$ ノ間ニ迄減弱セルモノト見ルコトヲ得ベシ。

「サ」菌及ビ二五號菌共ニ其ノ抗酸性ノ少キ菌ノ平均菌長ハ抗酸性大ナル菌ノ平均菌長ニ比シテ明ニ大ナリ。然シテ抗酸性弱キ「サ」菌ノ菌長ハ之ヲ二五號菌ノ菌長ニ比シテ著シク大ナリ。即チ菌長ト抗酸性トノ間ニ一定ノ平行的關係アルモノ、如シ。

五項記載ノ如ク抗還元性ト菌長トノ間ニハ關係ナキモノ、如ク、從テ抗還元性ト抗酸性トハ全然同一ナル理由ニ因スルモノニ非ザルベシ。

七、帖佐氏法。

脱色兼後染色 二〇秒間乃至三〇分間

各株皆赤染ス。

八、グラム氏法「サフラニン」水後染色。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌、「サ」菌共ニ紫色ニ染ム、其ノ内ノ少數ハ濃染顆粒ヲ有ス。

九、ムッフ氏法「サフラニン」水後染色。

「八」ニ似タリ、濃染顆粒ヲ有スルモノ多シ。

十、ワイス、ムッフ氏法。

各株間差違ナシ。

十一、「カルボールフクシン」ヲ以テ行ヘルムッフ氏法。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌ニハ顆粒狀ニ染メルモノ多ク、「サ」菌ハ平等ニ染色セルモノ多シ。

十二、ガージス氏法。

各株間差違ナシ。

十三、テレマン氏法「メチーレン」青後染色。

「アルカリ」酒精 五秒間。

牛阪大株、二五號菌、「サ」菌ハ赤色、フランクフルト株ハ赤色ニシテ紫調ヲ帶ブルモノ多シ。

「アルカリ」酒精 二十分間。

牛阪大株ハ淡赤、淡青、淡紫ニ染メル菌混在ス。フランクフルト株淡赤菌少數、淡青シ紫色顆粒ヲ有スル菌多シ。二五號菌、赤染菌及ビ青染シ紫顆粒ヲ有スル菌共ニ多數存シ。「サ」菌二五號菌ト同様ニシテ赤染菌之レヨリ稍々多シ。

「アルカリ」酒精五十分間。

牛阪大株、淡赤菌少々、青色菌多數。

フランクフルト株、淡赤菌極メテ少ク青染菌甚ダ多シ。

二五號菌同前。

「サ」菌 赤染菌稍々多シ。

即チ「サ」菌ハ同株ノ無蛋白培養菌ニ比シテ、「アルカリ」ノ脱色ニ對スル抵抗強シ、コノ點ヨリ推シテ結核菌ノ抗酸性ト抗「アルカリ」性トハ全ク同一ナル條件ニ因セルモノト考フルコトヲ得ズ。

十四、スペングラ―氏「ヒュッレ」法及「ビクリン」法。

共ニ各株間ニ差違ヲ認メズ、「ヒュッレ」法。

ニ於テ牛阪大株ト人型菌株トノ間ニ太サノ上ニ大ナル差違ヲ認メズ。

十五、ヘルマン氏法 一〇%硝酸十秒間、「サフラニン」水後染色。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌共ニ顆粒ヲ有スル紫色菌トシテ染ミ、

「サ」菌モ亦同様ナルモ少數ノ赤染菌ヲ見ル。

十六、クローンベルゲル氏法 「メチーレン」青後染色、一五%硝酸五秒間、沃度丁幾三分間。

牛阪大株、フランクフルト株、二五號菌ハ濃赤色或ハ濃紫色顆粒ヲ有スル淡赤色菌。

「サ」菌ニハ其他極少數ノ青染菌アリ。

十七、フオンテス氏法。

紫顆粒ヲ有スル赤色菌及紫色菌混在ス各株間大差ナシ。

十八、クノル氏法。

紫顆粒ヲ有スル赤色菌トシテ染色スルコト各株同様ナルモ、「サ」菌ノ赤色濃度他ノ三株ヨリモ強キガ如シ。

十九、赤「インキ」染色法（福岡醫科大學發行呼吸器疾患記載）。

ガージス氏法ト異ナラズ。

二十、紫色「スタンブインク」染色法（同前）。

「メチールビオレット」或ハ「ゲンチアナビオレット」石炭酸水染色ノ代用ト認ムベキモノナリ。

以上十九種ノ染色法ヲ擧ゲタレドモ、之ヲ分類スレバ、コッフ氏染色原法ヲ除キテ。

抗酸性（コッフ、エーヤリヒ氏法、チールチールゼン氏法、帖佐氏法、スペングラー氏法、ヘルマン氏法、クロインベル

ゲル氏法）。

抗「アルカリ」性（ガージス氏法、テレマン氏法）

抗還元劑性（コインリヒ氏法）。

グラム陽性（グラム氏法、ムッフ氏法、ワイス、ムッフ氏法、クノル氏法、フオンテス氏法）。

ノ四種ニ大別スベク各染色法ニ就テ行ハザリシト雖、脱色劑ヲ充分長ク作用セシムル時ハ同株ナル「サ」菌ト二五號菌トノ間ニ之レニ抵抗スル程度ニ前實驗同様ノ相違アルヲ見出シ得ベシ。

結 論

結核菌個體ノ抗脱色劑性ハ同一培養ニ於テモ各個一様ナラズ。

結核菌個體ノ抗酸性強キ者ハ其ノ菌長一般ニ抗酸性弱キモノニ比シテ小ナリ。
還元劑脱色ニ抗スル性質ト菌長トノ間ニハ右ノ如キ關係ヲ認メズ。

抗「アルカリ」性、抗還元性及ビ抗酸性ハ全然同一ナル條件ニ由來スルモノニ非ズ。

無蛋白培養基培養ノ結核菌ニ對シテハ一〇%亞硫酸「ナトリウム」ノ脱色作用ハ一%鹽化水素水兼酒精(後者ノ作用時間ヲ一分間トス)ノ脱色作用ニ比シテ強シ、前者ハ十分間ノ作用ニヨリ既ニ著明ニ一部ノ菌ノ脱色ヲ來ス。

無蛋白培養基ニ二%「サポニン」ヲ加ヘテ培養セル結核菌ハ之レヲ加ヘザルモノニ比シテ、ソノ抗酸性ハ $\frac{1}{2}$ 乃至 $\frac{1}{10}$ ノ間ニ迄減弱シ、抗還元性ハ少シク減ジ、抗「アルカリ」性ハ反ツテ少シク増強ス。而シテ其ノ菌長ハ著シク増大ス。

文獻

- 1) 有馬, 青山, 太繩, 大阪醫學會雜誌. 一八卷. 一一號. 2) 矢部, 結核. 二卷. 二號. 3) 矢部, 柴田, 熊谷, 小林, 結核. 二卷. 六卷. 4) 川村, 第一回日本結核病學會總會演說. 5) Eastwood, Second Interim. Report. Royal Commis. on Tb. Append. Vol. 4. 6) 綿引, 矢崎, 東京醫學新誌. 二二〇七號.