

結核

第七卷 第七號

昭和四年七月二十四日發行

原 著

咯痰中ニ於ケル結核菌ノ二三分離培養法ノ比較實驗、 竝ニ私案培養基ニ就テ

神戸市立屯田療養所(所長前田博士)

小林 諒 雄

目次

- 第一章 緒言
- 第二章 實驗準備及方法
 - 第一節 實驗準備
 - 第一項 培養基
 - 第二項 分離用藥液
 - 第三項 可檢咯痰
- 第二節 實驗方法
 - 第一項 「アンチホルミン」法
 - 第二項 ペトロフ氏法

第一章 緒言

原 著 小林ニ於ケル結核菌ノ二三分離培養法ノ比較實驗、竝ニ私案培養基ニ就テ

- 第三項 住吉氏法
- 第四項 ホーン氏法
- 第三章 實驗成績及考察
- 第四章 ホーン氏法ト私案培養基ヲ以テセル分離培養法トノ比較實驗
 - 第一節 私案培養基ノ製法
 - 第二節 實驗方法
 - 第三節 實驗成績
- 第五章 結論
- 主要文獻

啞痰中ニ於ケル結核菌ノ分離培養ニ關シテハ從來頗ル難事トセラレシガ、一九〇九年 Dienes 氏「アンチホルミン」法ヲ發表シテ一新機軸ヲ出シ、次デ培養基ノ幾多改良ニ依リテ「グリセリン」加卵黃寒天ヲ用フルニ至リテ著シク容易トナレリ。

其後一九一五年 S. A. Petroff 氏ハ特殊ノ培養基ヲ用ヒ、苛性曹達液ヲ以テ啞痰ヲ處置スル一新法ヲ報告シ、多數ノ學者之ヲ追試推奨セリ。

更ニ一九二四年住吉氏ハ啞痰ヲ硫酸ニテ處置シ、培養基トシテハ「グリセリン」加馬鈴薯ヲ使用シテ良好ナル成績ヲ擧ゲタリ。

最近一九二六年 Hohn 氏ハ住吉氏法ヲ改良シタル頗ル簡便ナル方法ヲ報告シ、Sommerschein, Clairmont, Schrader, Seelenann u. Klingmüller, Werner Engel, Hauptmann u. Bartscher, 出井、大石及ビ清水、松澤氏等之ヲ追試シ共ニ好成績ヲ得タリト推奨セリ。

茲ニ於テ余ハ前記各種分離培養法ニ就テ是ガ優劣ヲ比較實驗シ、其操作最モ簡單ニシテ然モ成績確實ナルヲ選ビ、更ニ之ニ私案培養基ヲ應用シテ其缺點ヲ補ヒ一層優秀ナル成績ヲ收ムルコトヲ得タルヲ以テ、是ヲ實地應用上ニ資セント欲シ報告スル所以ナリ。

第二章 實驗準備及方法

第一節 實驗準備

第一項 培養基

一、「グリセリン」加卵黃寒天。

先ヅ法ノ如ク四%「グリセリン」加肉汁寒天 (P. H. 6.8) ヲ製シ、滅菌試驗管ニ分注シ、攝氏一〇〇度ニテ三十分間蒸氣滅菌ス。

別ニ新鮮ナル鶏卵ヲ選ビ水道水ヲ以テ卵殼ヲ洗滌シ、次デ千倍昇汞水中ニ十分間、七〇%酒精中ニ二十分間浸漬シタル

後、無菌的ニ卵殻ヲ割リテ卵黃ノミヲ滅菌容器ニ採取シ滅菌硝子棒ヲ以テ攪拌ス。是ヲ前述ノ試験管ニ分チタル「グリセリン」加肉汁寒天ノ適當ナル溫度ニ冷ユルヲ待チテ、約其五分一宛注加シ輕ク振盪混和シ、斜面ニ凝固セシメ、一晝夜孵卵器内ニ藏メ純良ナルモノノミヲ使用ス。

二、ベトロフ氏培養基。

矢部氏ニ倣ヒテ製セリ。

先ヅ滅菌セル肉碎切器ヲ以テ細切セル新鮮ナル牛肉五〇〇瓦ヲ滅菌「コルベン」ニ容レ、一五%「グリセリン」水五〇〇瓦ヲ加ヘ、直ニ攝氏五八度ノ重盪煎上ニテ時々振盪シツ、二乃至三時間加温シタル後滅菌「ガーゼ」ヲ以テ搾汁ス。

他方ニ於テハ新鮮ナル鶏卵ヲ七〇%、酒精中ニ十五分間浸シテ卵殻ヲ消毒シタル後、無菌的ニ卵殻ヲ割リテ其内容ヲ滅菌容器ニ採リ卵白及ビ卵黃ヲ攪拌混和シ、前述ノ肉汁一ニ對シ二ノ比例ニ混合ス。

次ニ此混合液一〇〇瓦ニ對シ一瓦ノ割合ニ左ノ色素液ヲ加フ。

「ゲンチアナビオレット」 〇・五瓦

九五%「アルコール」 五〇瓦

右色素液ハ徐々ニ少量宛攪拌シツ、加フ。然ラザレバ凝固セル蛋白質ト共ニ沈降スル量多キヲ以テナリ。然レドモ尙ホ多少ハ片々トナリテ沈降スルヲ以テ是ヲ滅菌「ガーゼ」ニ濾過ス。

斯クシテ得タル色素混和液ヲ滅菌試験管ニ分配シ、血清斜面凝固器ニテ三日間次ノ如ク間歇滅菌ス。

第一日 攝氏八五度 四十分間

第二日 攝氏七五度 四十分間

第三日 攝氏七五度 四十分間

右ハ原法ニ據レバ加熱滅菌時間ハ三日間トモ各三十分間ト規定シオレドモ、第一日攝氏八五度三十分間ニテハ培養基ノ凝固不充分ニシテ、又第二日、第三日攝氏七五度各三十分ニテハ往々滅菌不完全ナルコトアルヲ以テ、余ハ三日間トモ各四十分間宛規定ノ溫度ニ加熱スルコト、セリ。

原 著 小林||略談中ニ於ケル結核菌ノ二三分離培養法ノ比較實驗、竝ニ私案培養基ニ就テ

斯クシテ後二十四時間孵卵器内ニ納メ、不純性ノモノヲ除去シテ使用ス。

三、「グリセリン」加馬鈴薯。

先ヅ馬鈴薯ノ外皮ヲ剥ギ萌芽ヲ注意シテ深く切除シタルモノヲ三十分間千倍昇汞水ニ浸漬ス。然ル後水道水ニテ洗滌シ次デ型ノ如ク切り、一箇宛滅菌試験管ニ入レ、〇・一%苛性曹達ヲ加ヘ綿栓シテ攝氏一〇〇度ニテ三十分間蒸氣滅菌シタル後試験管内ノ液ヲ捨テ、性ヲ檢シ、中性又ハ弱酸性ナラバ是ニ五%「グリセリン」水ヲ注加ス。此際「グリセリン」水ハ馬鈴薯ノ下部ヲ僅ニ浸スヲ以テ程度トス。是ヲ二回ニ互リ攝氏一〇〇度ニテ三十分乃至六十分間宛蒸氣滅菌ス。然ル後二十四時間孵卵器内ニ藏メ純良ナルモノノミヲ使用ス。

馬鈴薯ハ黃白色ノモノ佳良ナリト云フ。

四、ホーン氏培養基。

本培養基ハ Hohn ガ Lubenau ノ卵黃培養基ヲ改良シタルモノナリ。

其製法ハ次ノ如シ。

「リービッヒ」肉越幾斯 一・〇

「ペプトン」(「ウイッテ」) 一・〇

食 鹽 〇・五

「グリセリン」(「メルク」) 三・〇

蒸餾水 一〇〇・〇

右加温溶解シ P. H. 6.2 ニ修正シ、攝氏一〇〇度ニテ三十分間蒸氣滅菌ス。

別ニ新鮮ナル鶏卵ヲ選ビ水道水ヲ以テ卵殻ヲ洗滌シ二十分間七〇%「アルコール」中ニ浸漬消毒シ、無菌ノ操作ノ下ニ卵殻ヲ割リテ其内容ヲ滅菌容器ニ採取シ、卵白ト卵黃ヲヨク攪拌混和シ、右溶液一ニ對シ二ノ割合ニ加ヘ充分攪拌混合シタル後滅菌「ガーゼ」ニテ濾過シ、是ヲ滅菌試験管ニ分注シ、血清斜面凝固器ニテ次ノ如ク三日間歇滅菌ス。

第一日 攝氏八五度 四十分間

第二日 攝氏七五度 四十分間

第三日 攝氏七五度 四十分間

右ハホーン氏ニ依レバ加熱時間ハ三日間トモ各三十分間ト規定シオレドモ、余ハペトロフ氏培養基ニ就テ述ベタル如キ理由ノ下ニ三日間トモ各四十分間加熱スルコト、セリ。

斯クシテ得タル培養基ハ二十四時間孵卵器内ニ納メテ後はヲ使用ス。

第二項 分離用藥液

一、「アンチホルミン」。

一五%溶液トナシ、ウーレンフート氏法ニ使用ス。

二、苛性曹達溶液及鹽酸水。

兩液トモ四%溶液トナシ、ペトロフ氏法ニ使用ス。

三、硫酸水。

一五%溶液及ビ一〇%溶液トナシ、前者ハ住吉氏法ニ後者ハホーン氏法ニ用フ。

四、滅菌生理的食鹽水。

「アンチホルミン」及ビ住吉氏法ニ於ケル硫酸洗滌用トシテ使用ス。

第三項 可檢喀痰

神戸市立屯田療養所入所中ノ肺結核患者喀痰ニツキ顯微鏡検査上結核菌陽性ナルモノヲ選ビ、實驗當日咯出セシメタル新鮮ニシテ且ツ粘液少キモノヲ使用セリ。

第二節 實驗方法

第一項 ウーレンフート氏「アンチホルミン」法

原 著 小林ハ喀痰中ニ於ケル結核菌ノ二三分離培養法ノ比較實驗、竝ニ私案培養基ニ就テ

新鮮ナル喀痰約二坵ヲ「メートルグラス」ニ採リ蒸餾水ヲ加ヘテ八・五坵トシ、更ニ一・五坵ノ純「アンチホルミン」ヲ加ヘ之ヲ滅菌試験管ニ移シ強ク振盪シテ喀痰ヲ溶解セシメ、一時間後滅菌沈澱管ニ移シ、電氣遠心器（一分間三千回轉）ニ裝ヒテ二十分間遠心分離シ、上清液ヲ棄テ滅菌生理的食鹽水ヲ注ギテ攪拌洗滌シ、再ビ二十分間遠心分離ス。斯ク食鹽水ヲ以テ洗滌スル事二回ニシテ最後ニ得タル沈渣ヲ數白金耳宛四%「グリセリン」加卵黃寒天ニ塗布シ、綿栓ヲ封蠟シタル後孵卵器内ニ藏ム。

第二項 ペトロフ氏法

新鮮ナル喀痰約五坵ヲ滅菌試験管ニ採リ四%苛性曹達液ヲ約其四倍量ノ比ニ加ヘ、激シク振盪シテ平等ニ溶解セシメタル後三十七度ノ孵卵器内ニ三十分間靜置シ、更ニ一回振盪シタル後再ビ孵卵器内ニ收メ、最初ヨリ一時間ニシテ滅菌沈澱管ニ移シ十五分間遠心分離（一分間二千回轉）シ、上清液ヲ捨テ沈渣ニ四%鹽酸水數滴ヲ加ヘ攪拌混和シ、「ラクムス」試験紙ヲ以テ酸性トナリタルコトヲ確メタル後、滅菌「ビペット」ニテ既述セルペトロフ氏培養基ニ三乃至四滴宛塗布ス。然ル後綿栓ヲ封蠟シテ孵卵器内ニ藏ム。

第三項 住吉氏法

新鮮ナル喀痰約二坵ヲ滅菌試験管ニ採リ之ニ一五%硫酸水一〇坵ヲ加ヘ、直ニ強ク振盪シテ平等ナル乳劑トナシ、三十分間靜置シタル後滅菌沈澱管ニ移シ二十分間遠心分離（一分間三千回轉）シ、上清液ヲ捨テ沈渣ヲ滅菌生理的食鹽水ニテ洗滌、遠心分離スルコトヲ二回反復シ、最後ニ得タル沈渣ヲ數白金耳宛「グリセリン」加馬鈴薯ニ塗布シ、綿栓ヲ封蠟シテ孵卵器内ニ貯フ。

第四項 ホーン氏法

新鮮ナル喀痰約二坵ヲ滅菌試験管ニ採リ之ニ一〇%硫酸水一〇坵ヲ加ヘ、強ク振盪シテ平等ナル乳劑トナスコト住吉法ノ如シ。是ヲ二十分間靜置シタル後滅菌沈澱管ニ移シ、遠心分離（一分間三千回轉）スル事僅ニ五分間ニシテ其沈渣ヲ洗滌スルコトナク直ニ數白金耳宛前述セルホーン氏培養基ニ塗布ス。然ル後綿栓ヲ封蠟シテ孵卵器内ニ納ム。

第三章 實驗成績及考察

喀痰ヨリ結核菌ヲ分離培養スルニ當リ其喀痰ノ種類ヲ異ニスルニ從テ同一方法ヲ以テスルモ結核菌ノ發育上著シキ差違アルコトハ周知ノ事實ナリ。從テ茲ニ各異ル分離培養法ヲ比較實驗スル爲メニハ敍上ノ各法ヲ夫々同一ノ喀痰ニ就テ並試シ、以テ其結果ヲ比較考察スルヲ要ス。

依テ余ハ十例ノ喀痰ヲ選ビテ其各々ニ就テ諸法ヲ並試シ次表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第一表

喀痰 番號	ガフキ 表	分離培養法種別	聚落發見迄ノ日數	聚落數	發育狀態	結 果	
						+	雜
1	VI 號	「アンチホルミン」法	二十三日乃至二十五日	數箇	五週旺盛	+	+
		ペトロフ氏法	十一日乃至十五日	無數	五週旺盛	+	+
		住吉氏法	十四日乃至十七日	多數	五週旺盛	+	+
2	VII 號	「アンチホルミン」法	十一日乃至十五日	無數	四週旺盛	+	+
		ペトロフ氏法	十八日乃至二十二日	無數	五週旺盛	+	+
		住吉氏法	十三日乃至二十日	多數	四週旺盛	+	+
3	III 號	「アンチホルミン」法	二十一日乃至二十五日	多數	五週旺盛	+	+
		ペトロフ氏法	十二日乃至十八日	無數	五週旺盛	+	+
		住吉氏法	十六日乃至十八日	無數	五週旺盛	+	+
		「アンチホルミン」法	十九日	多數	五週旺盛	+	+
		「アンチホルミン」法	十二日乃至十五日	無數	四週旺盛	+	+
		「アンチホルミン」法	十九日	多數	五週旺盛	+	+

原 著 小林ニ喀痰中ニ於ケル結核菌ノ二三分離培養法ノ比較實驗、並ニ私家培養基ニ就テ

8		7			6			5			4	
V 號		IV 號			VII 號			IV 號			V 號	
「アンチホルミン」法	ホーン氏法	住吉氏法	ペトロフ氏法	「アンチホルミン」法	ホーン氏法	住吉氏法	ペトロフ氏法	「アンチホルミン」法	ホーン氏法	住吉氏法	ペトロフ氏法	
十九日	十一日乃至十八日	十八日乃至二十日	十七日乃至十八日	十八日乃至十九日	十二日乃至十六日	十六日乃至十八日	十二日乃至十八日	二十一日乃至二十五日	十一日乃至十五日	十四日乃至十八日	十一日乃至十六日	二十三日乃至二十六日
多數	無數	多數	無數	數箇	無數	無數	無數	多數	無數	多數	無數	多數
五週旺盛	四週旺盛	五週旺盛	五週旺盛	五週旺盛	四週旺盛	五週旺盛	五週旺盛	五週旺盛	四週旺盛	五週旺盛	五週旺盛	五週旺盛
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
雜	+	+	+	雜	雜	+	+	雜	+	雜	雜	雜
雜	雜	雜	+	雜	雜	+	+	雜	雜	雜	雜	雜
雜	雜	雜	雜	雜	雜	+	+	雜	雜	雜	雜	雜

タリ。尙ホ聚落數ヲ觀ルニ亦同氏法最モ豊富ナルヲ識レリ。

更ニ其成績ノ結果ヲ檢シ、雜菌ヲ生ジタルモノ陰性ニ終リタルモノヲ通算スルニ、住吉氏法最モ少ク、ペトロフ氏法及

ホーン氏法之ニ次ギ、「アンチホルミン」法最モ多數ヲ示セリ。

要之ホーン氏法ハ他法ニ比シ多クノ點ニ於テ最モ勝レルヲ認ム。

第四章 ホーン氏法ト私案培養基ヲ以テセル分離培養法トノ比較實驗

前章ノ實驗ニ於テ各種分離培養法中ホーン氏法最モ勝レルヲ知レリ。然レドモ尙ホ其培養基ノ製法ニ就テ、主要材料タル「リービッヒ」肉越幾斯ハ一度密閉セル被蓋ヲ開ク時ハ夏期ニ於テハ往々殘部ニ微ヲ生ジテ再ビ使用ニ堪エザルコトアリ。且ツ取扱上ニ於テモ亦不便ナル點ナシトセズ。尙ホ該法ハ他法ニ比シ雜菌ノ發生比較的尠カラズ。依テ余ハ是等ノ諸缺點ヲ改良シテ一層優秀ナル成績ヲ舉ゲント企圖シ、所謂余ノ培養基ヲ考案セリ。

第一節 私案培養基ノ製法

本培養基ノ製法ハ次ノ如シ。

「アスバラギン」

〇・四

第一磷酸加里

一・〇

「グリセリン」(「メルク」)

六・〇

蒸餾水

一〇〇・〇

右加溫溶解シPH. 6.2ニ修正シ、攝氏一〇〇度ニテ二十分間蒸氣滅菌ス。

別ニ新鮮ナル鶏卵ヲ選ビテ卵殼ヲ水道水ニテ洗滌シ、七〇%「アルコール」中ニ二十分間浸シテ消毒シタル後、無菌的ニ卵殼ヲ割リテ其内容ヲ滅菌容器ニ採リ、充分攪拌シテ卵白ト卵黃ヲ混和ス。而シテ右溶液一ニ對シ鶏卵二ノ比ニ混合ス。次ニ此混合液一〇〇坵ニ對シ一坵ノ割合ニ一%「ゲンチアナバイオレット」酒精溶液(九五%酒精ヲ用フ)ヲ加フ。此際該色素液ハ少量宛徐々ニ攪拌シツ、混和ス。然ル後色素液ト共ニ凝固沈降セル蛋白質ヲ滅菌「ガーゼ」ヲ以テ濾過ス。

フ氏法、ホーン氏法、「アンチホルミン」法ノ順序ナリ。然レドモホーン氏法ニ余ノ培養基ヲ應用スル時ハ其雜菌發生數ヲ約四分一(一二・三)ニ減少シ得タリ。

五、培養基ノ製法ニ關シテハ四種ノ中ホーン氏法最モ簡便ナレドモ余ノ培養基ハ尙ホ一層操作簡易ナリ。

要之其操作簡單、菌ノ發育迅速旺盛、其成績確實良好ナルハホーン氏法ナリ。而シテ同氏法ニ更ニ私案培養基ヲ應用スル時ハ其短所缺點ヲ補ヒ得テ一層優秀ナル成績ヲ擧ゲ得ルニシ。

脱稿ニ臨ミ當所長前田博士ノ御校閲ニ對シ深謝ス。

文獻

- 1) **S. A. Petroff**, Journal of Experiment. med. XXI, No. 1, 1915. 2) **Sunmyoshi**, Zeitschr. f. Tubercul. Bd. 39-40, 1924. 3) **Löwenstein**, W. kl. W. Nr. 10, 1924. 4) **Mark Schuttner**, W. kl. W. Nr. 38, 1925. 5) **Hohn**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I, Bd. 98, 1926. 6) **Werner Mueller**, Zeitschr. f. Tubercul. Bd. 44, H. 4, 1926. 7) **R. Keller**, Zeitschr. f. Tubercul. Bd. 44, H. 5, 1926. 8) **Fr. Schmidt** u. **A. Sylla**, Zeitschr. f. Tubercul. Bd. 45, H. 5, 1926. 9) **E. Hennann**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I, 102, S. 169, 1927. 10) **Werner Engel**, Dtsch. med. Wochenschr. S. 1601, 1927. 11) **Sonnenschein**, Münch. med. Wochenschr. Jg. 74, Nr. 36, S. 1540-1541, 1927. 12) **Sonnenschein**, Beitr. z. klin. d. Tubercul. Bd. 67, H. 4, S. 451-463, 1927. 13) **Gairmont, P.**, Centralbl. f. Chir. Jg. 54, Nr. 50, S. 3167-3168, 1927. 14) **M. Seelenmann** u. **H. Klingmüller**, Centralbl. f. Bakt. Bd. 104, H. 8/8. 15) **Hauptmann** u. **Burscher**, W. kl. W. Nr. 2, 1928. 16) **H. C. Sweeney** and **Max Evanoth**, The Amer. Rev. of Tubercul. Vol. XVII, No. 1, 1928. 17) **G. Schrader**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I, Bd. 102, 1927. 18) **野筆**, 日本微生物學會雜誌. 第十八卷. 第三號. 19) **住吉**, 結核. 第三卷. 第一號. 20) **南崎**, 細菌學雜誌. 217 號. 21) **川並**, 日本內科學會雜誌. 第十卷. 第十二號. 22) **矢部**, 醫學時報. 第 1484 號. 23) **松下**, 結核病論. 24) **福原**, 傳染病及血清學各論. 25) **清水, 松澤**, 治療及處方. 第八卷. 第九十一號. 26) **出井, 大石**, 軍醫團雜誌. 第 177 號. 27) **勝**, 東京醫學新誌. 第 2609 號.