

結核菌分離ノ一新法竝ニ之ニ依ル 培養基ノ研究(第二回報告)

市立函館療養所(所長齋藤與一郎)

伊 藤 晃 彦

目 次

第 I 章 緒 言	第 IV 章 鹽酸 Pepsin 法ニ依ル培養基ノ研究
第 II 章 鹽酸 Pepsin 液ニ關スル實驗補遺	第 I 節 文獻竝ニ主要培養基ノ分類
第 I 節 處置時間ノ短縮	第 II 節 第 I・第 II 兩系統ノ比較
第 II 節 Pepsin ノ濃度	第 III 節 基汁ノ比較
第 III 節 Pepton ノ添加	第 IV 節 培養基ニ加フベキ色素ニ就テ
第 III 章 鹽酸 Pepsin 法ト硫酸法トノ比較	第 V 節 小 括
第 I 節 試驗材料及方法	第 V 章 總括竝ニ結論
第 II 節 比較成績	文 獻
第 III 節 糞便(普通便)ニ於ケル比較	

第 I 章 緒 言

余⁽¹⁾ハ曩ニ「結核菌分離ノ一新法竝ニ一 新培養基ニ就テ」ト題シテ鹽酸 Pepsin 法ヲ記述シタリ。鹽酸 Pepsin 法トハ 0.5% 局方鹽酸水ニ 1:3000 割ニ、Pepsin (parke-Davis) ヲ溶解シ、此液ニ培養材料ヲ投ジテ 37°.20 時間作用セシメ、後遠心沈澱ヲ行ヒテ其沈渣ヲ白金耳ヲ以テ培養基上ニ塗布スル方法ナリ。右ノ處置ニ依リテ、喀痰内雜菌ハ容易ニ死滅スルモ、唯 1 種之ニ對シテ抵抗強キ球菌[?]ヲ見ルコト稀ナラズ、余ハ此菌ヲ川畑菌ト稱シ、之ガ發生ヲ防止セン爲培養基ニ Gentiana-violett ヲ加入セリ。以上ノ方法ヲ鹽酸 Pepsin 第 1 法トナス。鹽酸 Pepsin 液ニ 1:5000 ノ割ニ Krystallviolett ヲ加ヘタル液(鹽酸 Pepsin-Violett 液)ヲ以テ喀痰ヲ處置スレバ、川畑菌ハ確實ニ死滅スルモ、同時ニ結核菌モ亦多少ノ惡影響ヲ蒙ル傾向アリ。

此方法ヲ鹽酸 Pepsin 第 2 法トナス。培養基トシテハ、余ハ乳清ヲ基汁トスル鶏卵培養基ヲ用ヒ、頗ル好結果ヲ得タリ。其後余ハ鹽酸 Pepsin 法ノ操作ニ改良ノ餘地無キヤ否ヤニ就テ實驗ヲ反復シ、其結果上述ノ如キ最初規定ノ諸條件ヲ最モ適當ト認ムルヲ得、之ヲ以テ硫酸法トノ比較ヲ行ヒタリ。而シテ硫酸法ニ比シテ敢テ遜色無キノミナラズ、之ヲ凌駕スル點アルヲ確認シ得タリ。次デ鹽酸 Pepsin 法ヲ以テ各種培養基ノ比較ヲ行ヒテ前記乳清培養基ノ價值ヲ檢討シ、結局此者以上鹽酸 Pepsin 法ニ適合スル培養基アルヲ認メタリ。依テ茲ニ標題ヲ改メ、鹽酸 Pepsin 法ノ第 2 回報告トシテ以上ノ一般ヲ詳述スベシ。大方ノ教示ヲ得レバ幸甚ナリ。

第 II 章 鹽酸 Pepsin 液ニ關スル實驗補遺

第 1 回報告ノ後、鹽酸 Pepsin 法ニ於ケル處置

時間其他ニ就テ補遺的實驗ヲ行ヒタルニ、以下

順次記載スルガ如ク、最初ニ規定セル諸條件ヲ 最モ適當ト見做スベキ結果ヲ得タリ。

第 I 節 處置時間ノ短縮

鹽酸 Pepsin 法ハ既記ノ如キ鹽酸 Pepsin 液ヲ以テ、培養材料ヲ 37°;20 時間處置スルモノト規定セリ。即チ材料ノ處置ニ著シク長時間ヲ要ス。何等カノ方法ニ依リテ此時間ヲ短縮シ得ザルヤ否ヤ。

喀痰處置ノ時間ヲ短縮シ、併セテ結核菌ニ對スル酸ノ影響ヲ時間的ニ輕減セシメント欲シ、依テ 3—10%鹽酸水(局方)ニ種々ノ割合ニ Pepsin ヲ溶解シ、其各液 10.0 珎ニ煮卵白 1.0 瓦ヲ加ヘ、37°ニ置キテ時間的ニ其消化狀態ヲ觀察シタリ。

第 I 項 濃厚鹽酸水ニ就テ

第 I 表

時 間	鹽酸%				5				3				0.5			
	Pepsin 濃度 1:				10	30	300	3000	10	30	300	3000	10	30	300	3000
30 分	—	±	—	—	+	±	±	—	+	+	±	—	±			
1 時	±	±	—	—	+	±	±	—	+	+	±	—	+			
2 „	+	+	±	—	+	+	+	—	+	+	±	—	+			+
3 „	+	+	±	—	+	+	+	—	+	+	+	±	+			+
4 „	+	+	±	—	+	+	+	—	+	+	+	±	+			+
5 „	+	+	±	—	+	+	+	±	+	+	+	+	+			+
20 „	+	+	±	—	+	+	+	±	+	+	+	+	+			+

註。符號ハ消化ノ程度ヲ示ス。卍ヲ完全消化トス。

此註ハ以下類型ノ表ニ共通ス。

其成績ハ第 I 表ニ示セルガ如ク、是等濃厚鹽酸水ニ於テハ、Pepsin 濃度ヲ種々ニ變ズルモ其消化作用ヲ短時間ニ完了セシムルコト能ハズ。即チ鹽酸 Pepsin 法ニ濃厚鹽酸水ヲ用フルコト能ハザルヲ知レリ。

第 II 項 處置ノ溫度ニ就テ

日本藥局方ニ依レバ、Pepsin ノ檢定ニハ 50°ノ水浴ヲ用ヒザルベカラズ。此規定ニ從ヒテ余ノ常用スル parke-Davis 社製顆粒狀 Pepsin ノ消化力ヲ檢スルニ、之ヲ 0.5%鹽酸水(局方)ニ 1:3000 ニ溶解セル液ハ、2 時間ニシテ篩過煮卵白ヲ殆ド全ク溶解ス。即同社ガ標榜スル同 Pepsin ノ消化力 1:3000 ハ略々之ヲ承認シ得ベ

シ。

然ルニ今 Pepsin ノ濃度ヲ 1:300 トスレバ、卵白ノ消化ハ 1 時間ニシテ完成ス。而モ所謂川畑菌ハ 50°.1 時間ニテ全ク死滅スルモノナリ。故ニ此條件ニ於テ喀痰ヲ處置スレバ、處置時間モ短ク且川畑菌モ制シ得テ頗ル好都合ナルベシ。依テ之ヲ數例ノ喀痰ニ就テ檢シタルニ、喀痰内結核菌ハ全然發育セザルカ又ハ遲延微弱ノ發育ヲ示スニ過ギザリキ。處置時間ヲ 30 分トスルモ尙且略々同様ノ結果ヲ示セリ。即チ鹽酸 Pepsin 法ヲ行フニ 50°水浴ヲ以テスルコト能ハザルヲ認メタリ。

第 II 節 Pepsin ノ濃度

鹽酸 Pepsin 法ニ於テ Pepsin ノ濃度ヲ 1:3000 ト定メタルハ、parke-Davis 社ノ標榜ニ從ヘル

モノニシテ、此消化力ハ略々承認シ得ルコト前節ニ述ベタルガ如シ。

今 0.5%鹽酸水ニ 1:300—3000 ノ割ニ Pepsin
ヲ加ヘタル液ヲ以テ 37° 20 時間節過煮卵白ヲ

第 II 表

Pepsin 濃度	卵白消化
1:300	卍
1:600	卍
1:1200	卍
1:2400	卍
1:3000	卍

處置スルニ、
第 II 表ニ見ルガ
如ク、何レモ全
ク溶解セラル。
喀痰ノ消化 (崩
壊) モ略々同様
ナリ。依テ 0.5

第 III 表

Nr.	Gaffky	Pepsin 1:300		Pepsin 1:3000	
		消化	成績	消化	成績
1	VII	卍	9×3	卍	9×3
2	VII	„	12×3	„	8×3
3	VII	„	川畑×3	„	川畑×3
4	IV	„	14×3	„	12×3
5	IX	„	川畑×3.9×3	„	7×3.川畑×3
6	VII	„	9×1.11×2	„	9×3
7	IV	„	14×3.川畑×1	„	14×3

註. 1. 成績欄數字ハ(發育迄ノ日數)×(培養基
數)ヲ示ス。例ヘバ 14×3. 川畑×1トアル
ハ培養基3本トモ 14 日(培養當日ヨニ起算)
ニシテ發育ヲ見、中1本ハ同時ニ川畑菌ノタ
メニ汚染セラレシヲ意味ス。
2. 培養基ハ各3本宛用フ。

以上ノ註ハ以下類型ノ表ニ共通ス。

%鹽酸水ニ 1:300 ノ割ニ Pepsin ヲ溶解シ、此
液ヲ以テ喀痰ヨリ結核菌ノ分離ヲ行ヒ、之ヲ
Pepsin 1:3000 ノモノ、成績ト比較シタリ。其
結果ハ第 III 表ニ示セルガ如ク、後者ニ於テ發育
迅速ナルコト明カナリ。加之 1:300 ノ場合ニハ
培養基ノ表面著シク凸凹不平トナルコトアリ、
其理由明カナラザルモ、此場合ニハ菌發育殊ニ
遅延ス。

此ノ如ク Pepsin 濃度ノ厚薄ニ依リテ菌發育ニ
著明ノ差アル以上、其濃度ハ可及的薄キヲ可ト
スベシ、即チ最初規定セル Pepsin 濃度ハ最モ
適當ナルモノト信ゼラル。

第 III 節 Pepton ノ添加

余ハ前回報告鹽酸 Pepsin-violett 液ノ條下ニ於
テ、violett ノ濃度ヲ 1:10000 トシ、更ニ之ニ
石炭酸其他ヲ添加シタル實驗ヲ述ベタリ。其後
Pepton (照内) ノ添加 (0.2—1%) ガ著シク色素
ノ殺菌力ヲ増強セシムルヲ知り、之ニ就テ種々

實驗スル所アリタリ。然レドモ此者ノ添加ハ
Pepsin ノ消化力ヲ障碍スルコト著シク、又分
離實驗ニ於テモ雜菌混入多ク、使用シ得ル方法
ニ非ザルヲ確カメタリ。

第 III 章 鹽酸 Pepsin 法ト硫酸法トノ比較

喀痰其他ノ材料ヨリ結核菌ヲ分離スルニ當リ、
鹽酸 Pepsin 法ハ甚ダ良好ナル成績ヲ示シ、余
ヲシテ從來ノ諸法ヲ凌駕スルヲ信ゼシメタリ。
然ルニ目下一般ニ結核菌分離ノ最良方法ト認メ

ラル、ハ、住吉氏⁽²⁾ニ依リテ創始セラレタル硫
酸法ナルヲ以テ、余ハ先ヅ此方法ト鹽酸 Pepsin
法トヲ比較シタリ。茲ニ其成績ヲ述ブベシ。

第 I 節 試驗材料及方法

供試材料ハ當所患者ヨリ得タル新鮮ナル喀痰其
他ナリ。之ガ採取ニ當リテハ必ずシモ無菌的ニ
行ハズ、喀痰ハ單ニ滅菌 Schale ニ喀出セシメ、
糞便・喀出血液等ハ患者常用ノ容器ヨリ採レル
コトアリ、之ハ培養試驗ヲ可及的簡易ナラシム

ル意ニ出デタルモノナリ。

硫酸法ハ Hohn 氏⁽³⁾ニ從ヒ、喀痰其他ハ 10 %
硫酸水、室溫 20 分、糞便ノミハ 12 %硫酸水、
室溫 30 分放置シ、其間屢々振盪シタル上、
3000 回廻轉遠心沈澱器ヲ以テ約 10 分間沈澱

シ、沈渣ハ中和、洗滌ヲ行ハズ、白金耳ヲ以テ塗布、培養ス。尙硫酸ハ Merck 社製品ヲ用ヒタリ。

培養基ハ Hohn 氏培養基及余ノ乳清培養基ヲ用ヒ、材料1箇ニ就テ各3本宛ヲ使用セリ。

前者ノ製法⁽⁴⁾ハ次ノ如シ。

Liebig's Extract (以下 Liebig ト略稱ス)ヲ1

%ノ割ニ水道水ニ溶解シ補性ヲ行ハズ、1% Pepton (照内)。5% Glycerin (price)ヲ加フ。此基汁1ニ對シ3ノ割合ニ鶏卵(全卵)ヲ加ヘ血清凝固器ニテ滅菌ス。而シテ凝結水トシテ前記 Bouillon ヨリ Pepton ヲ除ケルモノヲ適宜添加シタリ。

鹽酸 Pepsin 法ハ第1法ヲ用ヒタリ。

第 II 節 比較成績

兩法ノ比較成績ハ其詳細ヲ第 IV 表ニ、其總括ヲ第 X・第 VI 兩表ニ示セリ。

以上3表ヲ觀ルニ、50 例中硫酸法陽性 45 例、鹽酸 Pepsin 法同 47 例ナリ。鹽酸 Pepsin 法陰性3例中2例(第 IV 表第 XIX 例粘血便・第 XXII 例血尿)ハ硫酸法陰性ト一致シ、他1例(第

IV 表第 XII 例)ハ喀出血液ニテ雜菌ニ被ハレタルモノナリ。硫酸法陰性ハ、前記2例ノ他ニ尙3例(第 IV 表第 XXXVI 例喀痰・第 XXXVIII 例同・第 XXXXI 例粘血便)ヲ算セリ。其中第 XXXXI 例ハ雜菌ニ被ハレタルモノナレドモ、第 XXXVI 例・第 XXXVIII 例ハ遂ニ無菌ニ終レリ。殊ニ第

第 IV 表

Nr.	材料及性質	Gaffky	硫 酸 法		鹽 酸 Pepsin 法	
			乳 清	Hohn	乳 清	Hohn
1	痰、膿 性	VIII	12×3	12×3.雜×2	12×3	11×3
2	”、膿 粘	V	11×3	11×3.雜×1	12×3	川畑×3
3	尿	VI	18×3	14×2.雜×3	18×3	13×3
4	膿(Gaze附着)	—	17×2.21×1	17×2.21×1	15×3	15×1.雜2
5	尿	—	17×3	17×3.雜×3	17×3	17×3.雜3
6	”	III	12×3	12×3.雜×1	13×3	13×2.雜×1
7	痰、粘 膿	IV	13×3	13×3.雜×1	17×2.無×1	17×3.雜×1
8	”、膿 性	IV	10×3	10×3.雜×1	10×2.28×1	10×3.雜×1
9	”、粘 膿	IV	9×2.16×1	9×3	9×1.15×2	9×2.11×1
10	”、粘液性	II	9×3	8×3	8×3	8×3
11	喀 血	—	18×3	18×3	雜×3	雜×3
12	痰、粘 膿	III	14×3	14×2.雜×1	13×3	13×3.川畑×3
13	”、膿 性	X	17×2.無×1	8×3.雜×1	11×2.無1	7×3
14	”、 ”	VIII	11×3	11×3	11×3	11×3
15	”、 ”	VII	16×3	16×3	16×3	16×3.雜×1
16	”、 ”	VI	11×3	11×3	17×2.無×1	17×1.無×2
17	”、 ”	IX	8×3	8×3	7×3	7×3
18	粘 血 便	IV	—	—	—	—
19	痰、粘液性	—	17×1.21×2	14×2.雜×1	17×1.19×1.20×1	17×2.21×1
20	”、膿 粘	VII	12×2.無×1	12×3	16×2.無×1	14×3.雜×2
21	血 尿	—	—	—	—	—
22	痰、膿 粘	IV	13×3	雜×3	13×3	15×1.19×1.雜×2
23	”、 ”	VIII	13×3	雜×3	8×3	8×3
24	”、 ”	IV	12×3	12×3	12×2.雜×1	川畑×3

25	”、粘膿	—	11×3	11×2. 雜×2	11×3	川畑×3
26	”、膿性	VII	11×3	11×3	10×3. 雜×1	雜×3
27	”、膿粘	”	9×3	9×2. 雜×1	9×3	9×3
28	”、 ”	”	12×3	13×3	12×3	川畑×3
29	”、 ”	”	9×3	9×2. 雜×1	9×3	雜×3
30	”、 ”	”	10×2. 11×1	10×1. 12×2	11×3	11×3
31	”、 ”	VI	9×3	9×3	9×3. 川畑×3	9×3. 川畑×3
32	”、 ”	VIII	10×3	9×3	9×3	9×2. 雜×1
33	”、粘液性	II	10×3	10×3	13×3	13×1. 雜×2
34	”、膿粘	VI	8×3	8×2. 雜×1	10×3	10×2. 雜×1
35	”、膿性	VIII	20×3	19×3. 雜×1	19×3	18×2. 雜×1
36	”、 ”	”	—	—	9×3	9×3
37	”、粘膿	II	14×3	14×3	18×2. 雜×1	18×2. 雜×3
38	”、粘液性	—	—	—	18×3	雜×3
39	”、膿粘	VII	17×3	16×1. 17×. 雜×1	15×3	川畑×3
40	”、粘膿	VI	10×3	10×2. 雜×1	10×3	10×2. 雜×1
41	粘血便	—	雜×3	雜×3	18×3	15×3. 雜×2
42	尿	”	20×3	17×3	20×3	16×1. 雜×2
43	痰、粘膿	IV	12×1. 13×2	11×3	11×3	11×3
44	膿(Gaze附著)		27×2. 雜×1	27×2. 雜×1	26×1. 雜×2	雜×3
45	痰、膿粘	VII	10×3	10×3	8×3	8×3
46	尿	II	12×3	12×3	12×3	12×2. 雜×3
47	痰、膿性	VIII	10×3	10×3	8×3. 雜×3	雜×3
48	喀血		21×1. 24×1. 無×1	21×2. 雜×1	20×3	20×3
49	痰、膿粘	VII	6×3	6×3	7×3	7×3
50	”、 ”	IV	12×3	12×3	12×2. 雜1	川畑×3

註。「雜」及「川畑」ハ川畑菌又ハ其他ノ雜菌ニ依ル汚染ヲ意味ス。「無」ハ無菌ニ終リシモノ、又一トアルハ3本トモ陰性ナリシヲ示ス。

第 V 表

例數	培養基及其數	硫 酸 法				鹽 酸 Pepsin 法			
		雜 菌	無 菌	陽性例數	平均日數	雜 菌	無 菌	陽性例數	平均日數
50	乳 清 (150)	4	3	45	12.8	15	4	47	12.9
	Hohn (,)	34	0	43	12.4	63	2	47	12.3

註。1. 「雜菌」トアルハ川畑菌及其他ノ雜菌發生培養基數ヲ示ス。
 2. 「無菌」トアルハ無菌ニ終リル培養基數ヲ示ス。但シ3本トモ無菌ニ終リシ陰性例ヲ含マズ。
 3. 「平均日數」トハ各培養基上最モ早キ發育日數ヲ合計シ、之ヲ陽性例數ヲ以テ除シタルモノナリ。

註3ハ以下類型ノ表ニ共通ス。

XXXVIII 例ハ疾病初期ノ粘液痰ニシテ檢鏡亦陰性、唯鹽酸 Pepsin 法ノミ陽性ナリキ。概シテ硫酸法ニ於ケル喀痰溶解ハ、其粘液性ノ場合ニ不良ナリ。之ヲ以テ觀レバ、培養ノ確實性ハ鹽酸 Pepsin 法ヲ以テ勝レルモノト云ハザルベカラズ。

菌發育ノ平均日數ヲ見ルニ、同種培養基ニ於テ殆ド全ク相一致セリ(第V表)。然レドモ仔細ニ之ヲ檢スレバ、膿ヲ除ケル諸材料ニ於テハ硫酸法ニ依ルモノ發育幾分早キヲ認ム(第VI表)。而シテ菌ノ發育狀態ハ、鹽酸 Pepsin 法ニ於テハ最初ヨリ苔狀ニ發育シ來ルモノ多キニ反シ硫

第 VI 表

林 料	例 數	硫 酸 法		鹽酸 Pepsin 法	
		陽性例數	平均日數	陽性例數	平均日數
喀 痰	38	36	11.1	38	12.0
尿	6	5	14.4	5	15.8
膿	2	2	22.0	2	20.5
喀 血	2	2	19.5	1	20.0
粘血便	2	0		1	18.0

酸法ニ於テハ菌多數ノ場合ニモ點狀ニ發育シ來ルヲ常トセリ。

雜菌ノ發生ハ鹽酸 Pepsin 法ニ於テ多ク、Hohn 氏培養基ハ爲ニ其全面ヲ被ハレ、時ニ崩壞ヲ見ルコトアリ、尤モ本培養基ハ硫酸法ニ於テモ不純ニ陥ルコト少カラズ、第 IV 表第 XXIII 例・第 XXIV 例ノ如キハ全面雜菌ノ侵ス所トナリシモノナリ(一般ニ余ノ場合ニ雜菌發生多數ナルハ材料採取ノ方法ニモ關係スルモノナルベシ)。之ヲ要スルニ、鹽酸 Pepsin 法ハ硫酸法ニ比シテ大ナル遜色無キノミナラズ、寧ロ之ヲ凌駕シ得ルコト明カナリ。

第 III 節 糞便(普通便ニ於ケル比較)

余⁶⁾ハ曾テ 44 例ノ患者糞便ニ就テ、鹽酸 Pepsin 法ヲ以テ結核菌分離ヲ行ヒ、内 13 例ニ陽性ヲ得タリ。此陽性例ハ必ズシモ腸結核ノ合併ヲ考フベキ者ノミナラズ、消化可良、硬度尋常ナル普通便ヲモ含メリ。即チ肺結核患者ハ、日常其糞便内ニ相當生活力アル結核菌ヲ排出スルモノナリ。

然レドモ此培養陽性率ハ檢鏡陽性率ニ比シテ甚ダ低度ニシテ、檢鏡強陽性ニモ培養陰性ナルコト少カラザリキ。依テ硫酸法ニ依ル培養成績ヲ知ラント欲シ、茲ニ再ビ糞便ヲ材料トシテ兩法ヲ併試比較シタリ。

試験ノ方法ハ鹽酸 Pepsin 液及硫酸(12%)ヲ各 10 坵宛滅菌試験管ニ盛り、糞便塊ノ中央部ヨリ約 15 白金耳ヲ取りテ加ヘ、ヨク管壁ニ磨

細シテ乳劑トナシ、各規定時間處置ス。別ニ檢鏡對照用トシテ 20% Antiformin 液ニ前同量ノ糞便ヲ混加シ、37° 20 時間放置セリ。

培養基ハ前節ニ於ケルト同様ナリ。

其成績ハ第 VII 表一示セリ。即チ 7 例中鹽酸 Pepsin 法陽性 2 例ニ對シ、硫酸法ハ 5 例ニ達シ且發育迅速ナリ。

以上ノ結果ヨリ觀レバ糞便培養ニハ硫酸法適當ナリ。尤モ膿様粘血便ニ至リテハ之ヲ喀痰同様ニ見做シテ不可ナキコト、前節ニ記シタルガ如シ。

而シテ又表ニ見ルガ如ク、硫酸法ニ於テモ雜菌發生多數ナルヲ以テ、Hohn 氏培養基ヲ以テシテハ分離殆ド不可能ナリ。

第 VII 表

Nr.	性 狀	Gaffky			第 I 法		第 II 法		硫 酸 法	
		第 I 法	第 II 法	Anti 法	乳 清	Hohn	乳 清	Hohn	乳 清	Hohn
1	血性軟便	III	III	III	—	雜×1.無×2	—	無×2.雜×1	23×3	雜×3
2	軟 便	—	I	—	—	雜×3	40×1.雜×2	—	25×3	雜×3
3	普通便	II	II		雜×3	雜×3	—	—	28×1.雜×2	雜×3
4	„	I	I	1	雜×3	雜×3	—	—	雜×3	雜×3
5	„	„	„	„	—	—	—	雜×3	20×2.雜×1	雜×3
6	„	„	„	„	雜×3	雜×3	—	雜×3	雜×3	雜×3
7	„	—	II	II	29×2.雜×2	雜×3	32×2.無×1	雜×1.無×2	23×2.雜×1	19×1.雜×2

註。1. 「第 I 法」、「第 II 法」トアルハ夫々鹽酸 Pepsin 第 I、第 II 法ノ略、又「Anti 法」トアルハ Anti-formin 法ノ略。

2. Gaffky ハ各方法ヲ以テ處置セル後ノ同號數ヲ示ス。

第 IV 章 鹽酸 pepsin 法ニ依ル培養基ノ研究

第 I 節 文獻竝ニ主要培養基ノ分類

從來結核菌培養基トシテ記述セラレタルモノハ其數少カラザレドモ、近來迄一般ニ用ヒラレタルハ Petroff 氏⁽⁶⁾ノ培養基ナルベク、其追試者 Keilty⁽⁷⁾⁽⁸⁾, Stewart⁽⁹⁾, Sweany-Evanoff⁽¹⁰⁾、矢部⁽¹¹⁾、川並⁽¹²⁾、野竿⁽¹³⁾ノ諸氏何レモ之ヲ推獎セリ。然ルニ住吉氏⁽²⁾ハ此培養基ニ雜菌發生稀ナラザルヲ難ジテ Glycerin-Kartoffel ヲ用ヒ、更ニ 1926 年 Hohn 氏⁽³⁾⁽⁴⁾ハ住吉氏法ノ追試ニ際シテ Lubenau 氏培養基ヲ改良シテ使用シ、爾來多數ノ復試者皆之ニ倣ヘリ。後氏⁽¹⁴⁾ハ更ニ所謂 Z 培養基ヲ作り、之ニ依リテ菌ノ發育日數ヲ短縮シ得ベシト稱セリ、相前後シテ Petragrani 氏⁽¹⁵⁾, Sweany-Evanoff 兩氏⁽¹⁶⁾ Löwenstein 氏⁽¹⁷⁾等ノ考案相繼ギ、本邦ニ於テモ小林氏⁽¹⁸⁾、熊谷氏⁽¹⁹⁾等ハ、其結核菌分離作業ニ當リテ何レモ新ナル培養基ヲ作りテ使用セリ。而シテ是等培養基ノ優劣ニ就テハ既ニ幾多ノ比較報告アリ、即チ Blumenberg 氏⁽²⁰⁾ハ Lubenau, Lewinthal, Petroff, Petragrani 諸氏ノ培養基中、Petragrani 氏法ヲ最モ優良ト認メ、Van Riensdijk 氏⁽²¹⁾ハ Calmette, Dorset, Lubenau-Hohn 諸氏法ヲ比較シテ後者ヲ推シ、Bang-Dscheng Li 氏等⁽²²⁾ハ Luben-

au-Hohn, Petragrani 氏等ノ培養基ヲ推獎シ、Sweany-Evanoff 氏法ハ遙カニ之ニ劣ルモノトナセリ。又 Pollak 氏⁽²³⁾ハ Löwenstein 氏培養基ヲ追試賞讚セリ。

本邦ニ於ケル報告ヲ見ルニ、佐藤氏⁽²⁴⁾ハ多數培養基ヲ比較シタル結果、Petragrani 氏培養基ノ Hohn 氏法ニ勝ルヲ見、住吉氏⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾モ前者ノ可ナルヲ認メテ硫酸法ニハ之ヲ用フベシト云ヘリ。張氏⁽²⁷⁾、弓削氏⁽²⁸⁾等ハ Hohn 氏培養基ヲ推獎シ、又織島氏⁽²⁹⁾、菅居氏⁽³⁰⁾、植田他⁽³¹⁾等ハ何レモ Petragrani 氏法又ハ Löwenstein 氏法ノ卓絶ヲ認メタリ。

余ハ 1928 年暮以來、牛乳、乳清、馬鈴薯汁(齋藤氏⁽³²⁾)、枝豆浸出液、玉蜀黍浸出液、鱈魚卵浸出液等ヲ以テ、Petroff 氏培養基ニ於ケル肉水ニ置換シ、或ハ又之ヲ以テ Glycerin 寒天ヲ作りテ結核菌ノ培養ヲ行ヒ、結局乳清ノ最モ簡易適當ナルヲ認メ、依テ乳清鶏卵培養基ヲ製シテ使用シタリ。當時之ヲ Petroff 氏培養基ト比較シタルニ、菌發育ノ確實、迅速、旺盛何レノ點ニ於テモ優越セルヲ認メ、第 I 回報告ニ其處方ヲ記載シタリ。然レドモ廣ク各種培養基トノ比較ヲ行ハザリシヲ以テ、此度更メテ乳清培養

第 VII 表

培養基	系統	基 汁	基汁鶏卵混合比	添加物	色 素	發 表
Petroff	I	肉冷浸液	1:2		Gentianaviolett (1:10000)	1915
小 林	I	合成液	„		„	1929
乳清(著者)	I	乳 清	„		„	„
Petragrani	II	牛 乳	基汁 150, 全卵 45, 卵黃 1ヶ	澱粉、馬鈴薯、Pepton	Malachitgrün (約1:1500)	„
Löwenstein	II	合成液	„	澱 粉	Congorot oder Malachitgrün (約 1:3000)	1930
熊谷(鈴木)	II	銀杏浸出液	基汁 100, 全卵 45, 卵黃 1ヶ		Gentianaviolett (約 1:10000—5000)	1932
Hohn	III	Glycerin-Bouillon	1:3	Pepton		1926

基ヲ上述諸培養基ト比較シ、以テ鹽酸 Pepsin 法ニ最モ適當ナル者ヲ得シコトヲ企テ、茲ニ分離用培養基ニ就テ聊カ基礎的系統的的研究ヲ行ヒタリ。以下其成績ヲ記述スベシ。

今、以上ノ培養基ヲ通覽スルニ、是等ハ何レモ鶏卵ヲ主成分トシ、各異リタル基汁 (Stammlösung) ニ鶏卵ヲ種々ノ比ニ加ヘ、更ニ Pepton,

Glycerin, 色素等ヲ加ヘタルモノナリ。是等ノ關係ヲ一括シテ示セバ第 VIII 表ノ如シ。

此表ニ依ルニ、是等培養基ハ從來主トシテ Petroff 氏ニ從ヒテ作ラレ、近來ニ至リテ Pet-ragnani 氏ニ倣フ傾向ヲ示セリ。余ハ便宜上前者ヲ第 I 系統、後者ヲ第 II 系統ト分類シ、而シテ Hohn 氏培養基ヲ第 III 系統トナセリ。

第 II 節 第 I、第 II 兩系統ノ比較

第 I 系統ニ於テハ單ニ基汁ニ鶏卵ヲ加フルニ過ギザルモ、第 II 系統ニ於テハ基汁ニ澱粉等ヲ添加シタル上、4 個ノ全卵及 1 個ノ卵黄ヲ混和スル點ヲ特長トス。

余ガ以上ノ兩系統ヲ分テルハ、此基汁ト鶏卵トノ混合方法ノ差ニ基ヅケルモノナリ。依テ此點ヲ比較セントシ、乳清ヲ基汁トシテ夫々各系統ノ製法ニ則ル次ノ培養基ヲ作レリ。

培養基 I

乳清 (pH. 6.3)	100.0
全卵	200.0
Glycerin (price)	9.0
1% Gentiana-violett 水溶液	3.0

同 II

乳清 (pH. 6.3)	150.0
可溶性澱粉 (Merck)	6.0
全卵	4 個
卵黄	1 個
Glycerin (price)	12.0
2% Malachitgrün 水溶液	5.0
(製法ハ植田他 2 氏 ⁽³⁷⁾ ニ據ル)	

材料處置ノ方法ハ鹽酸 Pepsin 第 I 法ヲ用ヒ、10 例ノ喀痰ニ就テ兩培養基ヲ比較シ、第 IX 表其 1 ノ成績ヲ得タリ。

即チ菌發育ノ迅速、雜菌ノ抑制ノ何レニ於テモ、培養基 I ニ於テ成績可良ナルヲ見ル。

次ニ培養基 I、II ニ於ケル色素ヲ交換シタル培養基ヲ作り、前同様 10 例ノ喀痰ニ就テ比較シタルニ、第 IX 表其 2 ニ示セルガ如ク、川畑抑制ノ點ヲ除キテハ第 I 系統ニ從ヘル方成績優良

第 IX 表 其 1

Nr.	Gaffky	培養基 I	培養基 II
1	VII	13×3	15×3
2	IV	9×2.川畑×2.雜×1	川畑×3
3	IV	10×3.川畑×3	川畑×3
4	IV	10×3	10×2.雜×1
5	VIII	11×2.雜×1	雜×3
6	IV	9×3	9×3
7	III	雜×3	雜×3
8	VI	10×3	10×3
9	—	—	—
10	—	—	26×1.無×2

第 IX 表 其 2

Nr.	Gaffky	I 系 + II 系色素	II 系 + I 系色素
1	VII	11×3	11×3
2	VII	11×2.雜×1	11×3
3	II	12×3	12×3
4	I	14×2.雜×1	14×3
5	V	13×3	13×3
6	IV	川畑×3	川畑×3
7	VII	11×3	12×3
8	VI	川畑×3	9×2.川畑×3
9	VI	10×3	11×3
10	VI	10×3	12×3

ナリ。即チ同表其 1 ノ成績ハ單ニ色素ノ差異ノミニ基ヅクモノニ非ザルヲ知レリ。之ヲ以テ觀レバ、基汁ト鶏卵トノ混合方法ニ於テハ、第 II 系統ニ勝ル所無シ。然リトスレバ、複雑ナル前者ヨリ簡單ナル後者ヲ以テ實際的方法ト云ハザルベカラズ。

第 I、第 III 兩系統ノ比較ニ就テハ既ニ小林氏⁽³⁸⁾ノ實驗アリ、且余ノ經驗ニ從スルモ第 I 系統ニ

比シテ利益アルヲ認メザリキ。尤モ Hohn 氏ノ如ク Liebig ヲ基汁トスル場合ニハ、恐ラク第Ⅲ系系ニ從フヲ可ト信ズベキ理由アルモ、此點ハ他ノ機會ニ論ズベク、茲ニハ其比較實驗ヲ

省略セリ。

即チ基汁ト鶏卵トノ混合方法ハ、基汁トシテ肉汁ヲ用ヒザル限り、第Ⅰ系統ニ從フベキモノト信ズ。

第Ⅲ節 基汁ノ比較

結核菌培養基ニ於ケル基汁ノ意義ハ、單ニ主成分鶏卵ノ稀釋液タルニ止マラザルハ明カナリ。何トナレバ、Petroff 氏培養基ニ於テ其基汁肉水ニ代フルニ水道水ヲ以テスレバ、菌發育ハ極メテ遲延微弱トナレバナリ。又、福富氏⁽³⁴⁾ハ馬肥草葉浸出液ヲ肉水ニ代用シテ各種病原菌ヲ培養シ得タルモ、結核菌ノミハ發育不良ナリシト云ヘリ。余⁽³⁵⁾モ曾テ所謂味噌液ヲ以テ各種細菌培養シ、其發育ノ肉水ニ劣ラザルヲ認メタルモ、之ヲ基汁トスル鶏卵培養基ニ於テハ、結核菌ノ發育ハ殆ド之ヲ見ルコト能ハザリキ。

即チ基汁ノ結核菌發育ニ對スル意義亦重大ナリト云フベシ。

而シテ前節ニ述ベタルガ如ク、第Ⅰ、第Ⅱ兩系統ニ於テハ基汁ト鶏卵トノ混合方法ニ格別ノ差異無キヲ以テ、兩系統所屬培養基ノ優劣ハ其基汁ノ優劣ニ係ルモノト考ヘテ可ナリ。依テ余ハ是等基汁ノ比較ヲ企テ、次ニ列舉スル數種ノ基汁ヲ採リテ各別ニ培養基ヲ作り、同一材料ヨリ分離培養ヲ行ヒタリ。

基汁次記ノ如シ。

1. 乳清(著者) pH. 6.3

余ガ初メ乳清ヲ選ビタルハ、牛乳其物ヲ用フル時ハ培養基面ニ脂肪ヲ浮游セシムル不利アルニ依レリ。

2. 自然酸性 Liebig-Bouillon (Hohn 氏)

pH 5.8

3. Löwenstein 氏合成液 (Löwenstein 氏)

pH 5.6

合成液ノ代表トシテ選定セリ。小林氏合成液⁽¹⁸⁾ハ其組成更ニ簡單ナリ。張氏⁽²⁷⁾モ合成液培養基ヲ作りタルモ之ハ成績不良ナリシト云フ。

4. 銀杏浸出液(熊谷氏) pH 6.1

特殊ノ基汁トシテ選定ス。其製法ハ原著者ニ從ヘルモ、銀杏ハ肉挽キヲ以テ細挫浸出スレバ泥狀トナリテ使用ニ堪エズ、余ハ小刀ヲ以テ細切シタル上浸出セリ。

5. 玉蜀黍浸出液(著者) pH 4.3

之モ特殊ノモノトシテ選定セリ。

食用玉蜀黍ヲ剥皮シ、大根卸シヲ以テ播潰シテ泥狀トナシ、之ニ 10 倍量ノ水ヲ加ヘテ 100^o.1 時間浸出シタル上、布ヲ以テ濾過スレバ乳樣液ヲ得。余ハ 1928 年其此液ガ結核菌培養基原料トシテ頗ル好適ナルヲ發見シタリ。

茲ニ用ヒタルハ、乾燥玉蜀黍實ヲ粉末トナシテ貯藏セルヲ加熱浸出シタル液ニシテ、前者ニ比シテ稍々高キ酸性ヲ示セリ。

培養基ノ組成及滅菌ハ次ノ如ク一定セリ。

1. 組成

基 汁	100.0
全 卵	200.0
Glyzerin (price)	9.0
1% Gentiana-violett 水溶液	3.0

2. 滅 菌

第Ⅰ日 .85^o.50 分

第Ⅱ日 80^o.40 分

第Ⅲ日 80^o.40 分(凝結水加入)

從來滅菌ノ溫度及時間ハ著者ニ依リテ異ナレドモ、75-85^o.40-60 分ヲ普通トス。

石川氏⁽³⁶⁾ハ 90^o.60 分ヲ用ヒタリ。事實低溫少時間ノ滅菌ニテハ、凝固不十分ニシテ材料塗抹ニ當リテ不便少カラズ。余ハ彼此斟酌シテ上述ノ形式ニ依リタリ。

而シテ凝結水ノ添加ハ Hohn 氏⁽⁴⁾ノ主張ニ從ヘルモノニシテ、之ハ何レノ培養基ニ於テモ必要ナル操作ナリト信ズ。凝結水トシテハ 3%

Glyzerin-Liebig-Bouillon ヲ用ヒタリ。
 尙基汁ノ水素 Ion 濃度ハ各基汁其儘トシテ一定ニセザリシモ、玉蜀黍浸出液ノミハ pH 6.3 ニ修正セリ。
 出來セル培養基ノ性ハ Hohn 氏⁽⁴⁾ニ從ヒテ測レリ。即チ生理的食鹽水 1.50 坵ニ培養基(凝回前) 2 滴ヲ加ヘテ振盪シ、之ニ就テ Comparator (安藤、中村兩氏)ヲ以テ測定ス。之ハ pH 6.0-6.8 ナリキ。
 試験ハ 10 例ノ喀痰ヲ用ヒ、鹽酸 Pepsin 第 I 法ヲ以テ處置シ、各培養基各 3 本宛(第 X 表 III、IV、VII ノ各例ハ 2 本宛)ニ可及的等量ヲ塗布シ培養セリ。其成績ハ第 X 表ニ示セルガ如シ。
 今此表ニ依リテ、各培養基ニ於テ最モ早く菌發育ヲ認メ得タル日數ヲ合計スレバ、乳清 123 日(10 例)、Bouillon 155 日(10 例)、Löwenstein 氏液 112 日(10 例)、玉蜀黍浸出液 105 日(9 例)、銀杏浸液 112 日(6 例)トナリ、平均夫々 12, 3, 15.5, 11.2, 11.7, 12, 4 日トナル。即チ發育迅速ナルハ Löwenstein 氏液ヲ第一トシ、玉蜀黍液及乳清之ニ亞ギ、Bouillon 最モ

劣レリ。
 菌發育ノ狀態ハ多クハ苔狀ヲ示セルモ、其著明ナルハ Löwenstein 氏液、乳清、玉蜀黍液ノ順序ニシテ、銀杏液及 Bouillon ハ是等ニ劣リ點狀發育ヲ示セルコト少カラズ、殊ニ Bouillon ニ於テハ辛ウジテ發育セルガ如キ場合アルヲ見タリ。
 無菌ニ終レルモノハ乳清、Bouillon、玉蜀黍液各 1 本、銀杏液 2 本ニシテ Löwenstein 氏液ニハ之無シ。
 即チ Löwenstein 氏液ハ菌發育ノ確實、迅速、旺盛ノ 3 點ニ於テ最モ卓越シ、乳清モ之ニ及バザルヲ知りタリ。之ニ亞グルハ玉蜀黍液ニシテ、熊谷氏ニ依リテ推獎セラレタル銀杏浸出液ハ、此試験ニ於テハサシテ優良ナラザル結果ヲ示セリ。Liebig-Bouillon ニ至リテハ最モ劣リ、殆ド使用ノ價值無キモノ、如シ。
 之ヲ要スルニ、鹽酸 Pepsin 法ニ最モ適當セル培養基汁ハ Löwenstein 氏液ナリト云フベク、余ハ今後乳清ヲ廢シテ此液ヲ採用セントスル者ナリ。

第 X 表

Nr.	Gaffky	乳 清	Bouillon	Löwensteins Stannulösung	銀 杏 液	玉 蜀 黍 液
1	IV	15×3	17×1.8×2	14×3	15×2.雜×1	14×2.16×1
2	VII	9×1.11×2	10×2.13×1	8×3	10×2.11×1	8×3
3	VII	14×2	18×1.20×1	12×1.14×1	13×2	13×2
4	VI	9×2	13×2	8×1.9×1	9×1.13×1	9×2
5	VII	17×3	19×3	16×1.17×2	19×1.25×2	15×3
6	IV	9×3	15×2.雜×1	9×3	9×3	9×3
7	III	14×2	18×1.20×1	14×2	雜×2	14×2
8	III	14×3	16×3.雜×1	13×3.雜×3	15×3.雜×1	13×1.14×1.16×1.雜×3
9	VIII	10×3	11×2.12×1	9×3	10×2.14×1	10×3
10	VIII	12×2.無×1	18×1.20×1.無×1	9×2.10×1	12×1.無×2	雜×2.無×1

註。第 3、4、7 ノ各例ニ於テハ培養基各 2 本宛用フ。

第 IV 節 培養基ニ加フベキ色素ニ就テ

結核菌培養基ニ色素ヲ加ヘ以テ雜菌發生ヲ防止セントスルハ、Petroff 氏以來一般ニ行ハル、所ナリ。住吉氏⁽²⁾ハ硫酸法ハ雜菌ノ滅殺十分ナルヲ以テ、培養基ニ色素ヲ加フル要ヲ見ズト稱

セルモ、清水、松澤兩氏⁽³⁷⁾、Corper-Uyei 兩氏⁽³⁸⁾等ノ如ク其追試ニ當リテ色素加培養基ヲ用ヒシモノ少カラズ、殊ニ近來硫酸法ニ於テモ、硫酸ノ濃度ヲ低下シテ結核菌ニ對スル影響ヲ輕減

セントスル傾向アリ、爲ニ生ゼントスル雜菌ハ之ヲ培養基中ノ色素ヲ以テ抑止スルノ策ヲ取ル事多シ。(細川氏³⁰)

鹽酸 Pepsin 法ニ於テハ川畑菌ヲ殺菌シ得ザルヲ以テ、色素ニ依リテ其發育ヲ制止スルハ必要缺ク可カラザル事ニ屬ス。

Petroff 氏⁶ノ舉ゲタル色素ハ、Gentiana-violet 外、Krystall-violet, Methyl-violet, Fuchsin 等ナルモ多クノ著者ハ Gentiana-violet ヲ用フ。鹽酸 Pepsin 法ニ於テ Krystall-violet 加培養基ヲ用フル時ハ、菌ノ發育遲延シ且僅微トナル恐レアリ、余ハ專ラ Gentiana-violet ヲ用ヒ來レリ。

然ルニ Petragani 氏¹⁵ハ色素トシテ Malachitgrün ヲ用ヒ、Löwenstein 氏¹⁷モ此色素カ又ハ Congorot ヲ使用セリ。Russew 氏⁴⁰、Busson 氏⁴¹等ハ Congorot ニ贊セルモ Pollak 氏²³ハ Malachitgrün ヲ可トシ、本邦ニ於ケル追試者モ亦飯淵氏⁴²ノ外ハ Malachitgrün ヲ用ヒタリ。又原田氏⁴³ハ此色素ヲ Dorset 氏培養基ニ加ヘテ好結果ヲ得タリト云ヘリ。

而シテ Walters-Dehmel 兩氏⁴⁴ニ依レバ、Malachitgrün 單ニ雜菌防止ノ效アルニ止ラズ、此色素ノ存在ハ容易ニ結核菌菌型ヲ判別セシメ得ルモノナリト云フ。

此ノ如ク現今結核菌培養基ニ用ヒラル、色素ハ、Gentiana-violet 及 malachitgrün ヲ主トス。即チ Petroff 氏以來ノ第 I 系統培養基ハ總テ前者ヲ用ヒ、Petragani 氏以來ノ第 II 系統ニ於テハ大部分後者ヲ用ヒタリ。

茲ニ余ノ興味ヲ引ケルハ戸田氏⁴⁵ノ記載ナリ。即チ氏ハ種々ナル色素ノ抗酸性菌發育ニ及ボス影響ヲ檢スルニ際シ、酸性色素ニ屬スル Naphthalin, gelb ガ結核菌殊ニ人型菌ニ對シテ毒性僅少ナルヲ認メ、此色素ハ結核菌分離培養基ニ利用シ得ベシト稱セリ。余ハ此記述ニ基ヅキ、此色素ヲ鹽酸 Pepsin 液ニ加ヘテ川畑菌ノ滅殺ヲ圖リシコトアルモ、此液中ニ於テハ色素ノ殺菌ト Pepsin ノ消化力トハ相互ニ滅殺サレ、目

的ヲ達セザリキ。唯之ヲ培養基ニ加ヘテ果シテ氏ノ云フガ如キ效果ヲ見ルヤ否ヤニ就テハ、未ダ實驗ノ暇ナクシテ今日ニ及ベリ。

茲ニ於テ今回、Gentiana-violet, Malachitgrün, Naphthalin-gelb ノ 3 色素ニ就テ其優劣ヲ比較シタリ。其成績以下ニ述ブルガ如シ。

第 1 項 水溶液ト酒精溶液トノ比較

Petroff 氏⁶ハ Gentiana-violet ヲ 1:10000 ノ割ニ其培養基ニ加フルニ當リ、其 1% 酒精溶液 1.0 珎ヲ培養基 100.0 珎ニ加フル方法ヲ採レリ。此方法ハ今日尙一般ニ踏襲セラル。之ニ反シ余ハ同氏ニ倣ヘル余ノ培養基ニ於テ、色素原液ヲ水溶液トナシテ用ヒタリ。

依テ茲ニ先ヅ兩種原液ヲ比較スルコト次ノ如シ。

培養基ハ次ノモノヲ用フ。(以下之ヲ基礎培養基ト呼ブ)

Löwenstein 氏液	100.0
全 卵	200.0
Glyzerin (price)	9.0

之ニ Gentiana-violet (Grübler) ノ 1% 水溶液及酒精溶液ヲ各別ニ 3.0 珎加フ。此時前者ハ帶紅紫色ヲ呈スルニ反シ、後者ハ寧ろ帶紫紅色ヲ呈セリ。凝固ハ兩者トモ差ナク、85°.50 分ニテ十分ナリ。

次ニ菌發育ニ對スル影響及雜菌制止能力ヲ 10 例ノ含菌喀痰ニ就テ檢スルニ、第 XI 表ニ示セルガ如ク、水溶液培養基ニ於ケル平均發育日數

第 XI 表

Nr.	Gaffky	水 溶 液	酒 精 溶 液
1	VII	13×1.15×1.無×1	11×1.15×1.無 XI
2	VII	9×3	10×2.無×1
3	VIII	11×3	10×2.11×2
4	IV	10×1.16×2	10×1.12×2
5	III	11×3	川畑×3
6	VIII	9×1.10×2	8×1.9×1.雜×1
7	IV	11×2.14×1	8×1.11×2
8	III	11×1.14×1.17×1	14×1.17×2.川畑×3
9	X	9×1.12×1.15×1	9×3
10	VIII	9×1.13×2	9×1.川畑×1.無×1

10.3 日 (10 例) = 對シ、酒精溶液 9.9 日 (9 例) ニシテ後者僅ニ早キモ、川畑菌ニ對スル制止力ハ水溶液強ク、從ツテ培養ノ確實性ハ水溶液ニ於テ勝レリ。

即チ培養基ニ加フル色素ハ、其原液ヲ水溶液トナスベキモノナリ。

第 II 項 Malachitgrün 及 Naphthalin-gelb ノ有效濃度

結核菌培養基ニ加ヘラル、Malachitgrün ノ濃度ハ著者ニ依リテ異ナリ、前記原田氏ハ 1:1250-1700 ノ割ニ、Petraghani 氏ハ約 1-1500 ノ割ニ、Löwenstein 氏ハ約 1:3000 ノ割ニ用ヒタリ。住吉氏⁽²⁶⁾ハ硫酸水ノ濃度ニ從ヒテ、色素濃度ヲ約 1:580-1160 トナスヲ可ト信ジタリ。

而シテ鹽酸 Pepsin 法ニ於テハ、1:3000 ノ濃度ニテハ川畑菌ヲ制止シ得ザルコト、本章第 II 節ノ實驗ニ依リテ明カナリ。

又 Napethalin-gelb ノ濃度ニ就テハ、戸田氏⁽⁴⁵⁾ハ其 1% 水溶液ヲ遞増的ニ寒天培養基 100.0 珎ニ加フルニ、8.0 珎 (1:1250) ニ於テモ結核菌ハヨク發育シ、雜菌ハ強ク其發育ヲ阻止セラル、ヲ見タリト云ヘリ。

一般ニ色素ノ菌發育阻止乃至消毒作用ガ其 Medium ニ依リテ大差ヲ示スハ周知ノ事實ニシテ、蛋白質ノ存在ニ於テハ其作用ノ減弱ヲ見ル

コト多シ。(之ニ就テハ最近西山氏⁽⁴⁶⁾ノ實驗及文獻記載アリ) 現ニ Gentiana-violett ニ就テ余ノ檢セシ所ニ依レバ、Glyzerin 寒天ニ於テハ 1:100000 ノ濃度ニテ全ク川畑菌ヲ發育セシメザルモ、鶏卵培養基ニ於テハ 1:10000 ニ於テ尙且之ヲ完全ニ阻止スルコト能ハズ。

故ニ Malachitgrün 及 Naphthalin-gelb ヲ余ノ分離用培養基ニ加フルニ當リテハ、豫メ其幾何濃度ニ於テ彼ノ川畑菌ヲ阻止シ得ルヤヲ檢セサルベカラズ。依テ豫備試驗トシテ、兩色素ノ川畑菌ニ對スル有效濃度ヲ次ノ如クシテ檢セリ。

1. 培養基

- I. 基礎培養基 (第 I 項所載) pH 6.7
 - II. Löwenstein 氏液 1000.0
 - Pepton (照内) 10.0
 - Glyzerin (price) 30.0
 - 寒 天 20.0
- pH 6.7

2. 色素加入方法

Naphthalin-gelb (Merck) ハ 3.3% 及 2% 水溶液ヲ原液トシ、Malachitgrün (Grübler) ハ 1% 水溶液ヲ原液トナス。

之ヲ培養基ニ加フルニハ、例ヘバ Naphthalin-gelb 1:300 ノ場合ニハ、培養基 90.0 珎ニ 3.3

第 XII 表

色 素		Naphthalin-gelb			對 照	Malachit grün		
		1:300	1:500	1:1000		1:1000	1:1500	1:2000
無處置菌液	I	++ ⁽²⁴⁾	++ ⁽²⁴⁾	++ ⁽²⁴⁾	++ ⁽²⁴⁾	—	—	—
	II	”	”	”	”	”	”	”
處置菌液	I	+ ⁽²⁴⁾ .++ ⁽⁴⁸⁾	+ ⁽²⁴⁾ .++ ⁽⁴⁸⁾	+ ⁽²⁴⁾ .++ ⁽⁴⁸⁾	+ ⁽²⁴⁾ .++ ⁽⁴⁸⁾	”	”	”
	II	”	”	”	”	”	”	”
友田喀痰	I	+ ⁽⁴⁸⁾	+ ⁽⁴⁸⁾	+ ⁽⁴⁸⁾	++ ⁽²⁴⁾	”	”	”
	II	++ ⁽²⁴⁾	++ ⁽²⁴⁾	++ ⁽²⁴⁾	”	”	”	”
川島喀痰	I	”	”	”	”	”	”	”
	II	”	”	”	”	”	”	”

註。括弧内ノ數字ハ培養時間ヲ示ス。—ハ 1 週間ヲ通ジテ發育セザリシヲ示ス。

%原液 10.0 兪ヲ加入シ、其他モ總テ之ニ做ヘリ。

3. 試験材料及方法

川畑菌(友田株)ノ普通寒天新鮮 20 時間培養ヨリ、1.0 兪ニ 5.0 兪ノ菌ヲ含ム食鹽水浮游液ヲ作ル。此菌液 1.0 兪ヲ鹽酸 Pepsin 液 10.0 兪ニ加ヘ 37° 20 時間處置シタルモノヲ處置菌液トナシ、菌液 1.0 兪ヲ食鹽水 10.0 兪ニ加ヘタルモノヲ無處置菌液トナス。

別ニ確實ニ川畑菌ヲ含ム 2 例ノ喀痰ヲ鹽酸 Pepsin 液ヲ以テ處置シ、是等 4 種ヲ可檢材料トナセリ。

上述各培養基ニ右可檢材料 2 白金耳宛塗布シ、總テ封臘シタル上孵卵器ニ納メ、1 週間ニ互リテ川畑菌ノ發育ヲ檢ス。

試験ノ結果ハ第 XII 表ニ示シタリ。即チ Naphthalin-gelb ハ Medium ノ寒天タルト鶏卵タルトヲ問ハズ、1:300 ノ濃度ニ於テ尙川畑菌ヲ抑止スルコト能ハザルニ反シ、Malachitgrün ハ 1:2000 ニシテヨク該菌防止ノ效ヲ奏セリ。此實驗ニ依リテ、Naphthalin-gelb ハ鹽酸 Pepsin 法培養基ニハ使用シ得ザルモノト認メタリ。

第 III 項 Gentiana-violett 加及 Malachitgrün 加培養基ノ比較 Malachitgrün ヲ鶏卵培養基ニ加ヘタル場合、

其結核菌ニ對スル影響ハ如何。之ヲ前項實驗 2 例ノ喀痰ニ就テ見ルニ、1:1000 ノ濃度ニテハ結核菌ノ發育稍々不良ナルモ、1:2000 ニテハ頗ル可良ナリ。即チ余ノ培養基ニ此色素ヲ加フルニハ、1:2000 ノ濃度ヲ最モ適當トス。

依テ 1:2000 Malachitgrün 加培養基ヲ、從來用ヒ來レル 1:10000 Gentiana-violett 加培養基ト比較シタリ。

即チ鹽酸 Pepsin 第 I 法處置ノ喀痰ヲ、次ノ各培養基ニ塗布培養セリ。

- I. 基礎培養基 100.0
1% Gentiana-violett 水溶液 1.0
- II. 基礎培養基 100.0
5% Malachitgrün 水溶液 1.0
- III. 基礎培養基(對照)

其成績ハ第 XIII 表ニ見ルガ如ク、培養基 II ニ於テハ發育迄ノ平均日數幾分少ナキモ、川畑菌ノ發生ハ培養基 I ヲ多シ。對照 III ニ至リテハ雜菌發生多數ナルノミナラズ、發育日數ニ於テモ寧ロ前兩者ニ劣レルガ如シ。

之ヲ以テ觀レバ、Gentiana-violett, Malachitgrün ノ何レニモ一長一短アリ、俄ニ其優劣ヲ斷ジ難シ。後者ノ缺點ハ川畑菌ニ對スル制止能力ノ劣勢ナルニアルモ、之トテ時ニ該菌ノ侵襲ヲ免ガレ得ザル程度ニシテ、爲ニ結核菌分離ニ支障ヲ來サバルヲ以テ、寧ロ前者ヨリ有利ナルベ

第 XII 表

Nr.	Gaffky	鹽酸 Pepsin 第 I 法			鹽酸 Pepsin 第 II 法		
		培養基 I	培養基 II	培養基 III	培養基 I	培養基 II	培養基 III
1	VIII	8×3	8×3	8×1. 雜×1. 無×1			
2	IV	8×3	8×3	雜×3	10×1. 12×2	9×1. 10×2	10×3. 雜×1
3	X	12×3	10×1. 11×2	10×1. 12×1. 雜×1			
4	II	25×2	13×2	—			
5	VI	15×1. 無×1	15×1. 無×1	15×1. 18×1	17×1. 19×1	17×2	17×2
6	VII	8×3	8×3	8×2. 雜×1	8×3	8×3	8×1. 雜×2
7	VII	16×3	16×3	17×2. 雜×1			
8	X	5×3	6×3	川畑×3			
9	IV	8×3	9×3. 川畑×3	川畑×3			
10	IV	11×3	10×3. 川畑×3	川畑×3			

註。第 4 例ハ各培養基 2 本ヲ用フ。

シ。余ハ Walters-Dehmel 兩氏⁽⁴⁴⁾ノ提唱ヲモ
顧慮シ、余ノ培養基ニ加フベキ色素トシテ、更
メテ Malachitgrün ヲ採用セント欲ス。
尙此試験ニ於テ少數例ニ鹽酸 Pepsin 第Ⅱ法ヲ

併用シタリ。此場合ハ明カニ培養基第Ⅱニ於テ
成績可ナルヲ認メタルモ、依然第Ⅰ法ヲ凌グコ
ト能ハザリキ。

第Ⅴ節 小 括

本章記載ノ諸實驗ニ依リ、鹽酸 Pepsin 法ニ於
ケル培養基ハ、下記ノ如ク作製スルヲ最モ適當
ト認ム。

1. 組 成

Löwensteinsche Stammlösung	100.0
鶏卵(全卵)	200.0
Glycerin(price)	9.0
5% Malachitgrün 水溶液	3.0

2. 滅 菌

第Ⅰ日	85°, 50 分
第Ⅱ日	80°, 40 分
第Ⅲ日	80°, 40 分(凝結水加入)

Löwenstein 氏基汁ハ大體同氏ノ處方⁽⁴⁷⁾ニ從フ、
即チ次ノ如シ。

第Ⅰ 磷酸加里(Merck)	1.0
枸橼酸曹達(〃)	1.0
硫酸 Magnesium(〃)	1.0
Asparagin(〃)	3.0
水道水	1000.0

尤モ此處方ハ世外迂人氏⁽⁴¹⁾ノ云フガ如ク、全然
改良ノ餘地無キモノニハ非ザルベク、現一
Löwenstein 氏⁽⁴⁸⁾自身ノ最近記載シタル所ニ見
ルモ、相當ノ變改ヲ加ヘタルモノ、如シ。

此點ハ今後ノ研究ニ待タントス。

又右基汁ハ稍々高度ノ酸性ヲ示スヲ以テ、pH
6.3 前後ニ修正スルヲ可ト信ズ。注加スベキ凝
結水ハ滅菌 3% Glycerin-Bouillon 又ハ同 3%
Glycerin-Löwenstein-Lösung ヲ用フ。

第Ⅴ章 總括竝ニ結論

以上數章ニ互リテ記述セル所ヲ總括シ且結論ス
ルコト次ノ如シ。

1. 鹽酸 Pepsin 法ニ於ケル各種條件ニ改良ノ
餘地無キヤ否ヤニ關シ、2、3ノ補遺的實驗ヲ
行ヒタリ。其主ナル目的ハ同法ニ於ケル材料處
置時間ノ短縮ヲ圖ルニアリタルモ、之ヲ達シ得
タル方法即チ 50° 水溶法ニ於テハ、結核菌ノ發
育不能ナルカ又ハ極メテ不良ナリ。又此實驗ニ
於テ、Pepsin 濃度ハ可及的低キヲ可トスル事
實ヲ明カニシタリ。

之ニ依リテ鹽酸 Pepsin 法ニ於ケル諸條件ハ、
第Ⅰ回報告所載ノモノ即チ下記ヲ最モ適當ト認
ム。

parke-Davis 社製顆粒狀 Pepsin ヲ 1:3000ノ
割ニ、0.5% 局方鹽酸水ニ溶解ス。此液ヲ培養
材料ノ約 10 倍ニ加ヘ、37°.20 時間(一夜)處置
ス。

2. 鹽酸 Pepsin 法ヲ硫酸法ニ比較シタル成績
ハ、菌發育ノ迅速ナル點ニ於テ後者勝レ、其確
實、旺盛ナル點ニ於テ前者勝レタリ。即チ鹽酸
Pepsin 法ハ硫酸法ニ比シテ大ナル遜色無ク、
加之明カニ之ヲ凌駕シ得ル點アリ、從ツテ有力
ナル結核菌一新分離法タルヲ確信ス。

3. 鹽酸 Pepsin 法ヲ以テ結核菌培養基ノ基礎
的系統的的研究ヲ行ヒタリ。

即チ培養基製造ニ於テ行ハル、Petroff 氏法(第
Ⅰ系統)ト Petraghani 氏法(第Ⅱ系統)トヲ比
較シ、前者即チ基汁ト鶏卵トノ混合ヲ 1:2ノ比
ニスル方法ヲ有利ト認メタリ。

次ニ各種基汁ヲ比較シテ Löwenstein 氏基汁
ノ最モ優秀ナルヲ認メ、更ニ色素ヲ比較シテ
Malachitgrün ヲ最モ適當ト認メタリ。

此實驗ニ依リテ、鹽酸 Pepsin 法ニ最モ適セル
一新培養基ヲ選定シ得タリ。

稿ヲ終ルニ當リ、終始本研究ノ指導ト本稿ノ校閱トヲ賜ハリタル東京帝國大學教授高木逸麿博士、特別ノ厚意ヲ寄セ給ヘル北海道帝國大學教授井上善十郎博士、屢々激勵ヲ賜ハリタル大阪笠原研究所里見三男博士、文獻借覽ノ便ヲ賜ハリタル市立函館病院醫長阿部龍夫博士、常時鞭

撻ヲ賜ハリタル當所齋藤所長諸先生ニ對シ、竝ニ又或ハ文獻ノ蒐集ニ或ハ實驗ノ操作ニ常ニ助力ヲ惜マレザリシ、市立中之橋病院長侯野學士、北海道帝國大學衛生學教室佐々木學士、同僚長谷川學士、阿部藥劑員諸氏ニ對シ、茲ニ衷心ヨリ感謝ノ意ヲ表ス。

文 獻

1) 伊藤, 結核第 9 卷第 8 號. 昭和 6 年. 2) 住吉, 結核第 3 卷. 第 1 號. 大正 14 年. 3) Hohn, M. m. W. Nr. 15. 1926. 4) Hohn, M. m. W. Nr. 51. 1926. 5) 伊藤, 醫事公論. 第 1009 號. 昭和 6 年. 6) Petroff, Keilty, Exper. med. Vol. 21. p. 38. 1915. 7) Keilty, Jaur. Exper. med. Vol. 22. p. 612. 1915. 8) Jaur. Exter. med. Vol. 24. p. 41. 1926. 9) Stewart, Janr. Exper. med. Vol. 26. p. 755. 1917. 10) Sweany-Evanoff, Am. Rev. Tbc. Vol. 17. No. 1. 1928. 11) 矢部, 醫海時報. 第 1484 號. 大正 11 年. 12) 川並, 日本內科學會雜誌. 第 10 卷. 第 12 號. 大正 12 年. 13) 野竿, 日本微生物學會雜誌. 第 18 卷. 第 2 號. 大正 13 年. 14) Hohn, M. m. W. Nr. 36. 1929. 15) Petagnani, Zbl. f. Bakt. Refer. Bd. 85. 1927. 16) Sweany-Evanoff, Tubercle Vol. 11. No. 9. 1930. 17) Löwenstein, Zbl. f. Bakt. Orig. Bd. 120. 1930. 18) 小林, 結核. 第 7 卷. 第 7 號. 昭和 4 年. 19) 熊谷, 日本內科學會雜誌. 第 20 卷. 第 1 號. 昭和 7 年. 20) Blummburg, M. Kl. Nr. 29. 1929. 21) Van Riensdijk, Zbl. f. Bakt. Orig, Bd. 118. 1930. 22) Bang-Dscheng, Li, Beitr. Kl. Tbk. Bd. 75. 1930. 23) Pollak, M. Kl. Nr. 31. 1931. 24) 佐藤, 皮膚科及泌尿器科雜誌. 第 29 卷. 第 11 號. 昭和

4 年. 25) 住吉, 結核第 9 卷. 第 1 號. 昭和 6 年. 26) 住吉, 結核. 第 10 卷. 第 2 號. 昭和 7 年. 27) 張, 千葉醫學會雜誌. 第 9 卷. 第 7 號. 昭和 6 年. 28) 弓削, 日本泌尿器科學會雜誌. 第 20 卷. 第 9 號. 昭和 6 年. 29) 織島, 熊本醫學會雜誌. 第 7 卷. 第 1 號. 昭和 6 年. 30) 菅居, 日本醫事新報. 第 495 號. 昭和 7 年. 31) 植田, 西川, 大久保, 日本微生物病理學雜誌. 第 26 卷. 第 3 號. 昭和 7 年. 32) 齋藤, 日新醫學第 4 年第 6 號. 大正 4 年. 33) 小林, 細菌學雜誌. 第 408 號. 昭和 5 年. 34) 福富, 醫事新聞. 第 1067 號. 大正 10 年. 35) 伊藤, 北海醫報. 第 67 號. 昭和 3 年. 36) 石川, 結核第 6 卷. 第 4 號. 第 5 號. 昭和 3 年. 37) 清水, 松澤, 治療及處方, 第 91 號. 昭和 2 年. 38) Corper-Uyei, Am. Rev. Tbc., Vol. Russew, 16. 1927. 39) 細川, 大阪醫事新誌. 第 2 卷. 第 6 號. 昭和 6 年. 40) Russew, Poelak 氏ニ據ル. 41) Busson, 氏ニ據ル. 42) 飯淵, 結核第 10 卷. 第 12 號. 昭和 7 年. 43) 原田, 大阪醫事新誌. 第 2 卷. 第 3 號. 昭和 6 年. 44) Walters-Dehmel, 細川氏ニ據ル. 45) 戸田, 日本微生物學會雜誌. 第 20 卷. 第 7 號. 大正 15 年. 46) 西山, 衛生學傳染病學雜誌. 第 28 卷. 第 9-10 號. 昭和 7 年. 47) 世外迂人, 東京醫事新誌. 第 2730 號. 昭和 6 年. 48) Löwenstein, M. Kl. Nr. 51. 1932.