

結核菌分離培養＝關スル比較實驗

金澤醫科大學谷野内科教室(主任谷野教授)

多 賀 一 郎

目 次

第一章 緒 論

第二章 實驗準備並ニ方法

第一項 結核菌分離方法

第二項 培養基

第三項 實驗材料

第三章 實驗成績

第四章 總括及ビ考察

第五章 結 論

文 獻

第一章 緒 論

結核菌分離培養ハ Robert Koch(1882)ニ依リ成功セラレタリト雖モ當時ハ本菌ノ發育遅々タルノミナラズ他方雜菌ノ侵入多キ爲メ極メテ困難ヲ感ジタリ。然ルニ1909年 Uhlenhuth⁽¹⁾「アンチフ ルミン」ニ依ル集菌法ヲ發表シテ以來此ノ方面ノ業績漸ク多クナリ1915年 S. A. Petroff⁽²⁾ハ被檢材料ヲ苛性曹達液ヲ以テ處置セル後氏ノ考案セル色素含有培地ニ塗抹培養スル一新法ヲ報告シ Keilty;⁽³⁾ Stewart;⁽⁴⁾ Morcau;⁽⁵⁾ 矢部⁽⁶⁾、野竿⁽⁷⁾、川並⁽⁸⁾氏等ソノ追試ヲ行ヒ之ヲ推獎セリ。

更ニ1924年住吉⁽⁹⁾ハ硫酸ヲ應用セル集菌法ヲ發表シ培地トシテハ「グリセリン」加馬鈴薯ヲ使用シ良好ナル成績ヲ擧ゲタリ。

以後 Löwenstein;⁽¹⁰⁾ Suranyi und Putnsky;⁽¹¹⁾ Schatter;⁽¹²⁾ Meller;⁽¹³⁾ 中村⁽¹⁴⁾、植田⁽¹⁵⁾氏等多數ノ追試者出デ住吉氏法優秀ナリトシ且ツ住吉氏ノ使用セシモノヨリモ硫酸濃度ノ低キモノヲ推獎セリ。其間培養基ニ關シテモ各種ノ改良加ヘラレ「グリセリン」馬鈴薯、「グリセリン」牛血

清培地等好ンデ使用セラレタルモ Petroff 氏ニ依リ血清ニ代ウルニ鶏卵使用セラルニ至リ今日ニ於テハ各種ノ基汁ニ鶏卵ヲ混入シ且ツ雜菌ヲ抑制センガ爲メニ微量ノ「マラヒットグリーン」「ゲンチアナビオレット」「コンゴローート」等色素ヲ配シテ後加熱ニヨリ鶏卵ヲ凝固セシメタルモノ好ンデ使用セラレ基汁又ハ色素ノ調合ニ對シ研究者ニ依リ各種ノ考案行ハレ自然培地ノ種類モ極メテ多數トナリ實ニ枚舉ニ遑ナキ狀態ナリ茲ニ於テ余ハ他ノ目的ノ爲メニ10例ノ結核性喀痰及ビ5例ノ結核性尿ヲ被檢材料トナシ、集菌法トシテハ一般ニ使用セラル Uhlenhuth 氏「アンチフォルミン」法住吉氏「硫酸」法 Petroff 氏法ヲ施シ最モ一般的ニ使用セラル 培地中鈴木培地⁽¹⁶⁾、小林培地⁽¹⁷⁾、Petroff 培地⁽¹⁸⁾、Petragnani 培地⁽¹⁹⁾、Löwenstein 培地⁽²⁰⁾ノ5種ヲ選ビテ培養シ分離法並ビニ培地ノ優劣ヲ比較シ實地應用ニ資センガ爲メ本實驗ヲ企テタリ。

第二章 實驗準備及ビ方法

第一項 結核菌分離方法

結核菌分離法トシテ余ハ次ノ三種類ヲ行ヘリ。

(1) Uhlenhuth 氏「アンチフ、ルミン」法

新鮮ナル喀痰 2 cc ヲトリ、蒸溜水ヲ加ヘ 3.5 cc トシ更ニ 1.5 cc ノ純「アンチフ、ルミン」ヲ加ヘ之ヲ滅菌試験管ニ移シ強く振盪シ喀痰ヲ溶解セシメ 1 時間放置後滅菌沈澱管ニ移シ遠心器 (3000 回) ニテ 20 分間遠心分離シ上清液ヲ捨テ滅菌生理的食鹽水ニテ遠心沈澱器ヲ用ヒテ洗滌スル事 2 回ニシテ最後ニ得タル沈渣ヲ培地ニ塗布ス。

(2) 住吉氏硫酸法

新鮮ナル喀痰 2 cc ヲ滅菌試験管ニトリ 10 cc ノ 15 % 硫酸水ヲ加ヘ直チニ強く振盪シテ乳劑トナシ 30 分靜置シタル後滅菌沈澱管ニ移シ 20 分間遠心沈澱 (3000 回) 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事 2 回ニシテ最後ニ得タル沈渣ヲ各培地ニ塗布ス。

(3) Petroff 氏法

新鮮ナル喀痰 5 cc ヲ試験管ニトリ 4 % 苛性曹達溶液ヲ約 4 倍量加ヘ強く振盪シテ平等ニ溶解セシメタル後 37 度ノ孵卵器中ニ 30 分間靜置シ更ニ一度強く振盪シタル後再び孵卵器内ニ收メ最初ヨリ 1 時間ニシテ滅菌沈澱管ニ移シ 15 分間遠心 (3000 回) シ上清液ヲ捨テ 4 % 鹽酸水數滴ヲ加ヘ攪拌混和シ酸性トナシコレヲ各培地ニ塗布ス。

第二項 培養基

培養基ハ鈴木、小林、Petroff; Petragnani; Löwenstein 氏培地ノ 5 種類ヲ選ビ且ツ各培地ノ色素ヲ含有セルモノト然ラザルモノニ付キテ檢シタリ。

(1) 鈴木氏培地ノ製法

銀杏液ノ製法

銀杏 (外皮ヲ割リタル果肉)	50.0 瓦
味ノ素	3.0 瓦
0.85 % 食鹽水	200.0 cc

以上ヲ滅菌容器内ニ入レコホ氏釜内ニテ 1 時間滅菌シ後室温ニ放置冷却濾過ス。濾液ノ PH ヲ 6.2 トス。

先ヅ銀杏液 100.0 cc ニ「グリセリン」(メルク) 6.6 cc、2 % 「マラヒットグリユン」液 6.0 cc 加ヘ平

等ニ混和ス、而シテ豫メ外殻ヲ 70 % 酒精ニテ消毒シタル新鮮ナル鶏卵 4 個、卵黃 1 個ノ割合ニ無菌的混和攪拌シタル卵液 200 cc ヲ加ヘ滅菌「ガーゼ」ニテ濾過シ試験管ニ分注シ血清凝固器内ニテ凝固シ第 1 日 85 度 30 分、第 2 日 75 度 20 分、第 3 日 75 度 20 分間滅菌ス。

(2) 小林氏培地ノ製法

「アスバラギン」溶液製法

「アスバラギン」	0.4 瓦
第一磷酸加里	1.0 瓦
「グリセリン」(メルク)	6.0 cc
蒸溜水	100.0 cc

以上ヲ加溫溶解シ PH 6.2 トシ 100 度 30—60 分間蒸氣滅菌ス。別ニ外殻ヲ消毒シタル新鮮ナル鶏卵ノ全内容ヲ無菌的ニ混和攪拌セル卵液ヲ作り「アスバラギン」溶液 1 ニ對シ卵液 2 ノ比ニ混和ス。此ノ混合液 100 cc ニ對シ 1.0 cc ノ割ニ 2 % 「ゲンチアナビオレット」(メルク) 酒精溶液 (95 %) ヲ加ヘ滅菌「ガーゼ」ニテ濾過シ分注後血清凝固器ニテ凝固シ第 1 日 85 度 40 分第 2 日 75 度 40 分第 3 日 75 度 40 分間滅菌ス。

(3) Petroff 氏培地ノ製法

15 % 「グリセリン」肉水

細挫牛肉ニ等分ノ 15 % 「グリセリン」水ヲ加ヘ 24 時間水室内ニテ浸出ス。而テ此ノ一部ニ豫メ 70 % 酒精ニテ外皮ヲ消毒シ置キタル鶏卵ノ全内容ヲ混和シ「ガーゼ」ニテ濾過セルモノニ部ヲ加ヘ以上ノ混和物 100 cc ニ付キ 1.0 % 「ゲンチアナビオレット」酒精溶液 1.0 cc ノ割ニ混和シ分注血清凝固器内ニテ凝固シ第 1 日 85 度 30 分第 2 日 75 度 30 分第 3 日 75 度 30 分間滅菌ス。

(4) Petragnani 氏培地ノ製法

150 cc ノ牛乳ニ 6.0 瓦ノ馬鈴薯粉、1.0 瓦「ベプトン」及ビ鶏卵大ニ切レル馬鈴薯 1 個 (外皮ヲムキタルモノ) ヲ加ヘ沸騰セル重湯煎内ニテ時々振盪シツ、煮沸スル事 10 分間糊狀ニナルニ及ビテ止ム。尙 1 時間加熱シ後 50 度ニ放冷シ豫メ滅菌的ニ操作セル全鶏卵 4 個卵黃 1 個ノ割合ニ混合セル卵液ヲ加ヘ 2 % 「マラヒットグリユン」

液ヲ加ヘ振盪シ滅菌「ガーゼ」ニテ濾過分注セシ後血清凝固器内ニテ凝固ス。

而テ第 1 日 80 度 20 分第 2 日 75 度 15 分第 3 日 75 度 15 分間滅菌ス。

(5) Löwenstein 氏培地ノ製法

「アスバラギン」溶液

第一磷酸加里	1.0 瓦
枸橼酸曹達	1.0 瓦
「アスバラギン」	3.0 瓦
硫酸「マグネシヤ」	1.0 瓦
「グリセリン」	60.0 cc
蒸溜水	100.0 cc

右溶液 150 cc ニ馬鈴薯粉 6.0 瓦ト 12.0 cc ノ「グリセリン」ヲ加ヘ煮沸攪拌シ滅菌的ニ操作セル全鶏卵 4 個卵黄 1 個ヲ加ヘ硝子棒ニテヨク攪拌混和シ尙 5.0 cc ノ 2 % 「コンゴローート」又ハ「マラヒトグリユーン」液ヲ加ヘ滅菌「ガーゼ」ニテ

濾過分注シ血清凝固器内デ凝固ス。大量ニ作ル場合ニハ「アスバラギン」溶液 600 cc ニ鶏卵 20 個トス。而テ 2 日間 80—85 度ニ 2 時間滅菌ス。

第三項 實驗材料

余ハ實驗材料トシテ當教室入院結核患者ノ喀痰及ビ尿ヲ用キタリ。而テ喀痰ハ滅菌容器ニ 1 日全量ヲ集メ尿ハ腎臟結核患者及ビ其ノ疑ヒアル患者ノモノニシテ早朝時ノ尿ヲ滅菌容器ニ探レリ、而テ被檢喀痰ハ 10 例ニシテ其中 1 例ノミ塗抹標本ニ於テ結核菌陰性ニシテ他ハ總テ陽性ナリキ、又尿 5 例中 1 例ノミ塗抹標本ニ於テ結核菌陽性ニシテ他ハ陰性ナリキ。

以上ノ材料ヲ各々前記 3 種ノ分離法ヲ施シ然ル後前記 5 種類ノ培地 2 本宛ニ各 2 白金耳ヲ塗抹シ孵卵器中ニ 100 日間培養シ其ノ成績ヲ檢シタリ。

第三章 實驗成績

以上詳述セシ實驗材料竝ニ實驗方法ニヨリテ處置セル被檢材料ハ 8 種ノ結核菌分離法ヲ施セル後 5 種類ノ培地及ビ其ノ色素ヲ含有セザル培地ニ塗抹培養シ 1 週間孵卵器中ニ放置以後毎日コレヲ取り出シ叮嚀ニ觀察シ聚落陽性トナリシモノハ以後 5 日毎ニ取り出シ其ノ發育狀態ヲ檢シタリ。

而テ發生セル聚落ハソノ少量ヲトリチール、ネルゼン氏法、ムツ氏法等ノ染色ヲ行ヒテ鏡檢シ且ツ代表的ノモノニツキテ動物實驗ヲ行ヒテ結核菌タル事ヲ確メタリ。

今ソノ成績ヲマトメテ示セバ次表ノ如シ。

但シ尿培養 5 例中 2 例ハ何レノ方法ニ依ルモ陰性ナリシ故成績ヨリ除外ス。

第 1 表 100 日培養セシモ尙聚落陰性ナリシ試験管數

		色素ヲ含マザル培地			色素ヲ含有セル培地				色素ヲ含マザル培地			色素ヲ含有セル培地		
		A	S	P	A	S	P		A	S	P	A	S	P
		2	2	0	2	2	0		0	1	0	4	0	0
鈴木	木	0	0	0	0	0	0	尿	4	0	0	0	0	0
小林	林	2	1	0	1	3	0		4	1	2	3	1	1
ペトローフ		0	0	0	1	1	0		0	0	0	2	0	0
ペトラグナニ		1	2	0	2	1	1		4	0	0	2	0	0
レーベンスティン														

註 A…「アンチフォルミン」法 S…住吉氏硫酸法 P…ペトローフ氏法 以下コレニ準ズ

第 1 表ニ於テ明カナルガ如ク各培地ニ於ケル喀痰及ビ尿ノ培養成績ヲ被檢培地一種ニ對シテ使用セシ試験管數 156 本ニ於ケル陽性率ヲ以テ示

セバ鈴木氏培地 91.7 % (156=143)、小林氏培地 97.4 % (156=152)、ペトローフ氏培地 87.8 % (156=137)、ペトラグナニ氏培地 97.4 % (156=

137)、レーベンスティン氏培地 97.4 % (156＝143) ナリ。

即小林氏ペトラグナニー氏培地優レ特ニ喀痰ニ於テハ小林氏培地 100 %ノ陽性率ヲ得タリ。

且ツ色素ヲ含有セルモノ及ビ然ラザルモノニ付テ觀ルニ前者ハ 26 本後者ハ 27 本陰性ナルヲ以テ兩者ノ間ニ大差ナシ。

分離法ヨリ比較スルニ各 260 本培養中「アンチフォルミン」法陰性 34 本 (86.9 %陽性)、住吉氏法 15 本 (94.3 %陽性)、ベトローフ氏法 4 本 (98.5 %陽性)陰性ニシテベトローフ氏法最モ優レ住吉氏法之ニ次グ。

次ニ各培地ニ於ケル聚落發見迄ノ日數ニツキテ比較スルニ第 2—第 3 表ニ示スガ如ク喀痰培養ニ於テハ鈴木、小林ペトラグナニー氏培地ハ共ニ最短日數 9 日ベトローフ氏培地 43 日レーベンスティン氏培地 11 日ニシテ前 3 培地ハ後 2 培地ニ比シ優レタレド最長日數ニ於テハ鈴木氏培地ハ小林氏ペトラグナニー氏培地ニ比シ劣レリ。而テ聚落發見迄ノ最短最長日數ヲ以テ培地ノ優劣ヲ比較スルハ早計ニシテ寧ロ最短日數ノ平均ヲ以テスルヲ合理的ナリトス。此ノ點ヨリミレバペトラグナニー氏培地ノ 13.3 日最モ早ク小林氏培地ノ 14.5 日之ニ次グ。

尿培養ニ於テモ同様ニペトラグナニー氏培地最短 11 日最長 36 日最短平均日數 16.7 日ニシテ小林氏培地之ニ次ギ最短 15 日最長 45 日最短平均日數 18.3 日ナリキ。

而テ聚落ノ最モ早ク旺盛ニナリシ迄ノ平均日數ハ喀痰培養ニ於テハ小林氏培地 24.0 日ニシテ最モ早クペトラグナニー氏培地 29.2 日ニシテ之ニ次グ。尿培養ニ於テモ同様ニ小林氏培地 35.0 日ニテ最モ優レペトラグナニー氏培地 36.9 日ニシテ之ニ次グ。

聚落ヲ生ゼシモ 160 日後ニ於テ尙發育旺盛ニナラザリシモノニ就テ觀ルモ第 4 表ニ示セルガ如ク小林氏ペトラグナニー、レーベンスティン氏培地ニ於テハ 100 日後尙旺盛ニナラザリシモノ僅カニ 2 本ニシテ鈴木ベトローフ兩氏培地ヲ凌

駕ス。

色素含有ノ如何ニ就テ見ルニ喀痰培養ニ於テハ全部色素含有セザルモノ早ク尿培養ニ於テモ過半数ニ於テ色素含有セザル培地聚落發生早シ且ツ聚落發育狀態ヨリ見テモ喀痰尿培養何レニ於テモ色素ヲ含有セザルモノハ含有セルモノニ比シ良效ナル成績ヲ得タリ。

次ニ分離方法ヨリ培養成績ヲ檢スルニ喀痰培養ニ於テハ平均日數ヨリ見テ最モ早ク聚落發見セシモノハ全部ベトローフ氏法ヲ施セルモノニシテ尿培養ニ於テハ殆ンド全部住吉氏硫酸法ヲ施セルモノナリキ。同様ニ聚落發育程度ヨリ見テモ喀痰ニ於テハベトローフ氏法、尿ニ於テハ住吉氏法群ヲ抜キテ優レタリ。

尙 100 日後ノ發育狀態ヲミルモ略々同様ノ結果ヲ示シ喀痰培養ニテハ「アンチフォルミン」法 5 本、住吉氏法 3 本、ベトローフ氏法 4 本尿培養ニ於テハ「アンチフォルミン」法 4 本、住吉氏法 0、ベトローフ氏法 3 本ノ發育不良ナルモノヲ認ム。

此處ニ於テ余ノ最モ興味ヲ覺ヘタル事實ハ被檢材料ノ「アルカリ」性反應ヲ呈セル喀痰ヨリノ分離ニアリテハベトローフ氏法ノ「アルカリ」法ニ於テ良好ナル成績ヲ認メ酸性ナル尿ヨリノ分離ニ當リテハ住吉氏ノ硫酸法ニ於テ好成績ヲ得タルハ結核菌ノ生活慣性ト酸又ハ「アルカリ」ニ對スル抵抗性トノ間ニ何等カノ關係アルモノ、如ク思考セラル、點ナリ。

次ニ培養上各培地ニ於テ雜菌ヲ生ゼシ頻度ニツキテ觀ルニソノ成績第 5 表ノ如シ。

各培地 156 本培養中雜菌陽性ナリシモノ鈴木氏培地 5 本、小林氏培地 2 本、ベトローフ氏培地 6 本、ペトラグナニー氏培地 21 本、レーベンスティン氏培地 20 本雜菌陽性ニシテ小林氏培地最モ優レ鈴木氏培地之ニ次グ。 ペトラグナニー氏培地雜菌陽性率最モ高ク 13.6 %ニ及ベリ。

培地ノ色素ト雜菌發生トノ關係ヲ見ルニ色素含有セザル培地總數 390 本中 30 本、色素含有セルモノ 390 本中 11 本雜菌陽性ニシテ培地ニ色素

第 2 表 聚落發見迄ニ要セシ最短最長及ビ平均日數及ビ旺盛ナル迄ノ平均日數

培 地 名	培 養 管 試 數	陽 性 管 試 數		喀 痰 培 養						尿 培 養					
				色素含有セ ザル培地			色素含有セ ル培地			色素含有セ ザル培地			色素含有セ ル培地		
				A	S	P	A	S	P	A	S	P	A	S	P
鈴 木	156	143 (91.7%)	最 短	13	14	9	14	12	12	29	15	17	25	15	21
			最 長	25	24	24	55	55	28	31	35	35	63	24	29
			最短平均	18.7	18.0	17.0	22.8	23.8	17.9	30.0	24.7	23.7	41.7	20.7	25.0
			旺盛ニナル迄 ノ平均日數	41.0	37.0	31.1	40.3	37.5	32.5	47.5	46.7	43.3	55.0	37.5	53.3
小 林	156	152 (97.4%)	最 短	11	11	11	11	9	11	23	15	17	21	17	17
			最 長	29	29	22	27	25	21	45	23	29	25	25	29
			最短平均	16.6	17.5	14.5	18.4	18.3	15.2	32.3	18.3	21.0	23.0	21.7	24.0
			旺盛ニナル迄 ノ平均日數	26.7	34.3	25.3	34.5	33.3	24.0	58.3	35.0	40.0	40.0	36.7	46.7
ベ ト ロ ー フ	156	137 (87.8%)	最 短	15	13	13	14	13	14	29	21	19	29	21	23
			最 長	30	33	24	45	55	29	53	28	55	33	38	65
			最短平均	20.9	21.2	17.7	24.7	27.7	20.8	41.0	24.0	32.7	31.0	28.7	29.5
			旺盛ニナル迄 ノ平均日數	37.4	39.3	34.3	43.8	40.6	38.8	61.2	42.5	61.7	55.0	55.0	58.3
ベ ト ラ グ ニ ー	156	152 (97.4%)	最 短	10	11	9	11	12	9	29	11	16	21	19	19
			最 長	27	23	19	31	25	19	35	23	19	36	21	21
			最短平均	15.9	15.9	13.3	17.9	16.4	14.6	21.5	16.7	17.3	28.7	20.0	20.0
			旺盛ニナル迄 ノ平均日數	34.0	36.3	29.2	40.0	37.0	29.3	60.0	36.7	40.0	66.7	40.0	50.0
レ ー ベ ン ス タ イ ン	156	143 (91.7%)	最 短	11	12	13	12	12	12	25	17	21	25	21	23
			最 長	30	38	30	40	40	29	63	35	55	31	32	44
			最短平均	20.6	21.1	19.6	22.0	22.7	19.6	41.5	25.3	38.0	28.0	21.7	33.3
			旺盛ニナル迄 ノ平均日數	34.4	38.8	35.0	40.3	42.3	30.3	60.0	40.0	55.8	52.7	48.3	54.2

第 3 表 各培地ニ於テ最早ク聚落ヲ生セン平均
日數及ビ最早ク旺盛ニナリシ迄ノ平均日數

		最 早 ク 聚 落 發 見 迄 ニ 要 セ シ 平 均 日 數	最 早 ク 旺 盛 ニ ナ リ シ 迄 ノ 平 均 日 數		最 早 ク 聚 落 發 見 迄 ニ 要 セ シ 平 均 日 數	最 早 ク 旺 盛 ニ ナ リ シ 迄 ノ 平 均 日 數
鈴 木	喀 痰	17.0	31.1	尿	20.7	37.5
小 林		14.5	24.0		18.3	35.0
ベ ト ロ ー フ		17.7	34.3		24.0	42.5
ベトラグナニー		13.3	29.2		16.7	36.7
レーベンスティン		19.6	30.3		21.7	40.0

第 4 表 培養 100 日後尙聚落陰性ナリシ培地數

		色素ヲ含マ ザル培地			色素ヲ含有 セル培地				色素ヲ含マ ザル培地			色素ヲ含有 セル培地		
		A	S	P	A	S	P		A	S	P	A	S	P
鈴 木	喀 痰	1	0	2	0	0	0	尿	4	0	1	0	0	1
小 林		2	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
ベ ト ロ ー フ		2	0	0	0	1	0		0	0	0	0	0	1
ベトラグナニー		0	0	1	0	1	0		0	0	0	0	0	0
レーベンスティン		0	0	1	0	0	0		0	0	0	0	0	0

第 5 表 雜菌陽性成績

		色素ヲ含マザル培地			色素ヲ含有セル培地				色素ヲ含マザル培地			色素ヲ含有セル培地		
		A	S	P	A	S	P		A	S	P	A	S	P
鈴 木	略 痰	2	0	1	1	0	0	尿	0	1	0	0	0	0
小 林		1	0	1	0	0	0		0	0	0	0	0	0
ベトローフ		2	2	2	0	0	0		0	0	0	0	0	0
ベトラグナー		4	5	5	1	0	1		0	0	0	3	1	1
レーベンスティン		2	1	0	4	0	1		0	0	0	0	0	1

ヲ含有セルハ從來報告セラレシ如ク雜菌抑制力強シ。尙分離方法ヨリ見ルトキハ各培地 260 本培養中住吉氏法 10 本、ベトローフ氏法 13 本、

「アンチフォルミン」法 20 本、雜菌陽性ニシテ住吉氏法最良ニシテベトローフ氏法之ニ次ゲリ。

第四章 總括及ビ考察

以上述べタル成績ヲ總括シテ余ノ使用セシ三種類ノ集菌法及ビ五種類ノ培養基ニ付テ考察スルニ次ノ如シ。

集菌法ニ就テノ考察

(1)「アンチフォルミン」法

結核菌含有材料ニ本法ヲ應用シ培地ニ塗抹スル迄ニ要スル時間ハ 2 時間ニシテ他ノ二者ニ比シ長ク且ツ費用ノ點ヨリ見ルモ高價ナリ。實驗成績ニ於テハ聚落發見迄ニ要セシ日數及ビ發育狀態ヨリ見テモ他ニ比シ劣リ 檢出率ニ於テハ 260 本培養中ベトローフ氏法 98.5%、住吉氏法 94.3%、「アンチフォルミン」法 86.9%ニシテ陽性率惡ク又雜菌ノ陽性數ハ住吉氏法 10 本、ベトローフ氏法 13 本、「アンフォルミン」法 20 本ナリキ。即「アンチフォルミン」法ハ所要時間費用ノ點ヨリスルモ亦結核菌ノ陽性率ヨリミルモ三者中最モソノ成績劣レリ、然レドモ材料ヲ極メテ容易ニ均等ニ溶解スル點ニ於テハ他ノモノヨリ多少優レタル感アリ。

(2) 住吉氏硫酸法

硫酸法ハ今日迄多數ノ追試者アリテ其濃度及ビ作用時間ニツイテ論議セラレ Löwenstein 氏ハ 15%—25%ヲ最適トシ Schattner 氏⁽²¹⁾ハ 15%ニテ 10 分—20 分間作用セシムルヲ最適トセルモ 最近植田氏ハ硫酸濃度 5%作用時間 30 分

ヲ最モ適當ナリト發表シテ以來住吉氏モ 15%以下ノ濃度ニテモ可ナルヲ承認セリ。然レドモ尙實施者ニヨリ多少議論ノ餘地アルガ如シ。依テ余ハ本來ノ住吉氏法ニ基キ 15%ノ濃度ニテ 30 分間作用セシメテ實驗セリ。

本法ノ操作時間約 1 時間 30 分ニシテ「アンチフォルミン」法ヨリモ短シ、實驗成績ヨリ見ルニ聚落發見迄ニ要セシ日數ハ喀痰培養ニ於テハベトローフ氏法良好ナルモ尿培養ニ於テハ住吉氏法特ニ優レタリ。檢出率ハ 94.3%ニシテ、ベトローフ氏法ノ 98.5%ニ比シテ劣レルモ雜菌ノ發生數ニ於テハ前項記載ノ如ク住吉氏法ベトローフ氏法ニ比シ、幾分良好ナリキ。特ニ住吉氏法ハ酸性尿培養ニ際シベトローフ氏法ヨリ優レタル點注目ニ値ヒスル事ト思考セラル。

(3) ベトローフ氏法

苛性曹達液ノ濃度及ビ其作用時間ニツイテハ住吉氏硫酸法ト同様多數ノ追試者アリテ種々論議セラレ Schattner 氏等ハ 20%ニテ 15 分—20 分間作用セシムルヲ最適ナリトスルモ余ハ本來ノベトローフ氏法ヲ使用セリ。

而テ該法ハ使用時間最モ短カク且ツ價格モ三者中最モ低廉ナリ。

實驗成績ヨリ見ルニ聚落發見日數及ビソノ旺盛トナル迄ニ要セシ日數ニ於テハ尿培養ニテハ住

吉氏法勝ルモ喀痰培養ニテハ本法著ルシク優秀ニシテ Keilty 氏等ノ報告ニ一致セリ。且ツ又聚落陽性率ニ於テモ前者ニ比シ優レタリ。雜菌ニ關シテハ住吉氏法ニ比シ幾分遜色アルモノ、如シ。

營養基ニ就テノ考察

(1) 鈴木氏培地

製作上小林氏、ベトロフ氏、レーベンスティン氏培地ニ比シ繁雜ナレドモベトラグナニー氏培地ニ比スレバ簡單ナリ。本培地ニ於ケル聚落ハ見易キモ陽性率ハ小林氏 (97.4%)、ベトラグナニー (97.4%) 氏兩培地ニ比シ幾分遜色アリ。

雜菌陽性率ニ於テモ比較的良好ナレドモ小林氏培地ニ比シ劣レリ。

且ツ聚落發見迄ニ要セシ日數ニ於テハ最短 9 日ニシテベトラグナニー氏培地小林氏培地ト同等ナルモ平均日數及ビ聚落旺盛トナル迄ニ要セシ平均日數ニ於テハ二者ニ劣リ聚落發育狀態ヨリ觀テ特ニ良好ナリトノ考察ヲ下シ難シ。

(2) 小林氏培地

本培地ハ製作非常ニ簡單ニシテ PH 6.2 ノ「アスパラキン」溶液ヲ大量ニ作り滅菌シテ保存セバ隨時容易ニ製作シ得。

且ツ培地ノ表面ハ光澤ヲ有シ微細ナル聚落モ見落ス事無ク硬度大ニシテ培養時表面ヲ破損スル事ナク此ノ點ニ於テハ他ノ培地ヨリ特ニ優レタリ。又聚落陽性率ニ於テハベトラグナニー氏培地ト同様ニシテ他ノ培地ヲ凌駕シ聚落發見迄ニ要セシ日數ハベトラグナニー氏培地ニ比シ幾分遜色アルモノ寧ロ旺盛トナル迄ノ日數ニ於テハ之ヲ凌駕ス、雜菌陽性率ヨリ見ルニ斷然他ノ培地ヲ壓倒シ、100 日後ニ於テ尚聚落旺盛トナラザルモノニ關シテハ他ノモノト差別ナシ。以上ノ諸點ヨリ見ルニ小林、内藤⁽²²⁾氏等ノ成績ニ背カザルノ感アリ。

(3) ベトロフ氏培地

製作上小林氏培地ノ如ク簡單ナラザルモ聚落見易キ點ニ於テハ他ノ培地ニ比シ遜色ナシ。

聚落陽性率聚落發見迄ニ要セシ平均日數及ビ發育狀態ニ關シテハ小林氏、ベトラグナニー氏培地ニ比シ著ルシク劣レリ。

且ツ雜菌陽性率ニ關シテモ他ノ培地ニ比シ優秀ナル成績ヲ得ザリキ。

(4) ベトラグナニー氏培地

製作ニ關シテハ他ノ培地ニ比シ最も複雑ニシテ且ツ培地ノ表面光澤ナク微細ナル聚落ノ見落シ易キ缺點アリ。又培地軟カキ爲メニ培養時ニ表面ノ破損スル事アリ。

併シ培養上陽性率高ク且ツ聚落發見迄ノ最短日數及ビ平均日數ニ於テハ他ノ培地ヲ凌駕スルモ發育狀態ニ於テハ寧ロ小林氏培地ニ劣レリ。而テ雜菌陽性率非常ニ高ク培養數 156 本中 21 本ノ雜菌ヲ見コレニ反シ小林氏培地ニ於テハ僅カ 2 本ノ雜菌ヲミタルノミナリキ。

故ニ織畠⁽²³⁾、住吉⁽²⁴⁾、北濱⁽²⁵⁾、菅居⁽²⁶⁾氏等、ベトラグナニー氏培地ヲ推獎スルモ余ノ成績ニ於テハ寧ロ小林氏培地優レタル感アリ。

(5) レーベンスティン氏培地

製作上小林氏培地同様簡單ニシテ且ツ聚落見易キ點ニ於テハベトラグナニー氏培地ニ比シ優レタルモ培養上陽性率ベトラグナニー氏小林氏培地ニ比シ劣リ且ツ聚落發見迄ニ要セシ平均日數及ビ其ノ發育狀態ニ於テモ他ノ培地ニ劣リ且ツ雜菌陽性率ハ小林氏培地ニ比シ著ルシク高シ。

(6) 色素含有可否ニ就テ

以上ノ培地ニ於テ色素含有ノ有無ニ依リ其成績ヲミルニ聚落發見迄ニ要セシ日數及ビ發育旺盛トナリシ迄ノ日數ニ於テハ色素含有セザル培地ハ含有セルモノニ比シ優レタルモ結核菌ノ發見率ニ於テハ大差ナカリキ、雜菌陽性率ニ於テハ有利ニシテ各 390 本培養中色素含有セザルモノ 30 本ニ比シ色素含有セルモノ僅カニ 14 本ノ雜菌ヲ見タルニ過ギズ。然レドモ培養試驗ノ目的ハ最も確實ニ且ツ速カニ結核菌ヲ證明スルニアルヲ以ツテ余ハ色素含有セザル培地優レタリト思惟ス。然レドモ雜菌發生ガ結核菌培養ニ於テ一大支障ナルハ論ヲ俟タザレドモコレハ實驗者

ノ技術ニ依リテモ相當著明ナル差異ヲ生ズルモノニシテ余ノ實驗ニ於テハ色素含有セザル培地ニ於テモ其ノ發生率8%ヲ越ヘズ且ツ同一條件ニ於ケル2本ノ併行培養ニ於テ兩者ニ雜菌ヲ生

ゼシ例ニ遭遇セザリキ。

故ニ十分ナル注意ノ下ニ操作シ且ツ培養試驗管數ヲ増加セバ必ラズシモ色素ノ含有ヲ必要トセザルモノト思考セラル。

第五章 結 論

余ハ結核性喀痰及ビ尿ヲ材料トシ3種類ノ集菌法ヲ行ヒ、5種類ノ培養基ニシテ色素ヲ含有セルモノト然ラザルモノヲ使用シテ分離培養法ヲ比較シ次ノ成績ヲ得タリ。

(1) 結核菌分離方法ニテハ住古氏法ベトロフ氏法ハ「アンチフ、ルミン」法ニ比シ優レタル成績ヲ得タリ。而シテソレ等ハ被檢材料ノ性ニ依リテソノ成績ヲ多少異ニシ「アルカリ」性タル喀痰ニ於テハベトロフ氏法優レ酸性尿ニ於テハ住古氏法優レタリ。

(2) 培地ニ於テハ5種類ノ中ベトラグナー氏

培地及ビ小林氏培地ハ他ノ者ニ比シ著ルシク優レタリ。而シテ此ノ者ヲ比較スルニ各々長短アルモ製作簡單ニシテ雜菌ノ發育少ク且ツ聚落見易キ點ヨリ小林氏培地最モ推奨スルヲ得可シ。

(3) 色素混入ノ可否ニ就テハ聚落發見迄ニ要セシ日數竝ニ聚落發育狀態ハ色素ヲ含マザルモノ優秀ナレドモ雜菌陽性率幾分高シ、然レドモ結核菌陽性率ニ於テハ兩者差異ナカリキ。

摘筆スルニ臨ミ御指導ト御校閲ヲ辱フセル谷野教授竝ニ柿下講師ニ感謝ノ意ヲ捧グ。

主 要 文 獻

1) Uhlenhuth, Z. Hyg. Bd. 98. 1923. 2) S. A. Petroff, Z. Tbk. Bd. 24. 1915. 3) Keilty, Journal of exp. Med. 24. 1916. 4) Stewart, C: The Journal of Exp. Med. vol 26. 755. 5) Moreau, E: Bull. Sciences pharmac. 1922. T. 29. 6) 矢部, 結核, 第2卷. 7) 野幸, 日本微生物學會雜誌, 第18卷, 第3號. 8) 川並, 日本內科學會雜誌, 第10卷, 12號. 9) 佐吉, Z. Tbk. Bd. 39. 40. 1924. 10) Löwenstein, E: W. Kl. W. 1924. 231. 11) Suranyi u. Putnsky, Zbl. f. Bak. f. 1 org. 1925. Bd. 94. 12) Schattner, W. Kl. W. 1925. S. 1035. 13) Meller, Zeitschr. für Tuberkulose Bd. 44. 1926. Hft. 5. 14) 中

村, Z. Tbk. 1926. Bd. 44. Heft 3. 15) 植田, 日本微生物學會雜誌, 26卷, 3號, 335. 16) 鈴木, 日本內科學雜誌, 昭和7年, 第20卷, 第1號, 58. 17) 小林, 結核, 第7卷, 第7號. 18) Petroff, Z. Tbk. Bd. 24. 1915. 19) Petragani, Pathologica(Genova). 20(1928). 20) Löwenstein, E: Zbl. Bakt. 1 org Bd. 120. Hft. 1/2. 21) Schattner, W. Kl. W. 1925. S. 1035. 22) 內藤, 臺灣醫學會雜誌, 32卷, 10號. 23) 織田, 熊本醫學會雜誌, 7卷, 1號, 137. 24) 佐吉, 結核, 10卷, 2號, 65. 25) 北濱, 病理治療, 第三卷, 第五號. 26) 菅居, 京都府立醫科大學雜誌, 6卷, 1號, 404.