

集めたといふ非難があるかも知れぬ。併しある薬剤が多少とも有効であるとすれば、個体の結核症は治癒せしめ得ないとしても、個々の病巣には効果を現はした像があつてもよいと思われる。即ち一方致命的な病変を示しながら、一部に治癒傾向を示す病巣を認めてよい。現に Streptomycin の剖検記録を見ても、死亡を防ぎ得ないに拘わらず明らかに異常の反応をもつて治癒に向つた病巣が多数に認められるのである。

所が「303」製剤の場合には、少くとも此の諸例に用いられた投与方法によつては此の様な治癒像は認められない。

従つて悪化した例のみを以て結論を下したといふ非難があるとすれば、それは必ずしも妥当でない

と思われる。

終りに組織標本に就て御教示を賜つた岡治道教授に対し深謝する。

(昭和 24 年 4 月第 24 回結核病学会総会に要旨を報告した)

文 献

1. 第一報文獻
2. 宮崎・伊藤・長谷川著：結核の化学療法に関する研究. 528. 昭 17.
3. 田中：同上書. 557. 昭 17.
4. 長沢・河野：日本病理学会誌. 34. 108. 昭19
5. Flory 他：Am. Rev. Tbc. 58. 421. 1948.
6. Auerbach 他：Am. Rev. Tbc. 58. 449. 1948.
7. 岡・隅部・実践医理学 9. 337. 昭 14.

結核菌培養に於ける資材節約に關する研究

(第三報) 培地に於ける綿栓及び封蠟に於ける蠟の節約に就て

財団法人結核予防会結核研究所(所長 隈部英雄)

小 川 辰 次

Kapsenberg⁽¹⁾ の記載によれば綿栓を細菌学の方面に初めて用いたのは Schröder (1859) であるらしい。之の綿栓は、結核菌の培養に於てはかなり不完全なものであるに拘わらず、現在迄に使用されているのは、一つは習慣的に之を踏襲して來たという事もあるが、他のもう一つの原因は、之以上のものがなかつたからであると思われる。

此の綿栓の欠点に就ては Kapsenberg は次の様な事をあげている。

- 1) 綿栓を挿したり抜いたりする場合に、空中の細菌を沢山含んだ所の綿栓の小片が、培地斜面に落ちる爲に培養が汚染される。
- 2) 濕潤の環境に放置しておく、微が繁殖する。
- 3) 綿栓の仕事は埃がたつて不愉快である。
- 4) かなり高價なものにつく。
- 5) 培地の乾燥を防ぎ得ない。

之等の之は、我々の日常経験している所であるが、殊に結核菌の発育が徐々であるので、培地の乾燥を防ぐに我が國に於ては、専ら蠟でもつて封蠟しているが、此の方法も決して完全なものとは思えない。殊に実験済みの封蠟した培地を洗滌して再生する場合、或いは封蠟を開いて、中の結核菌を検査する場合などは、操作がいかにも不便であつて、此の爲に試験管の損傷の多いも大なる欠点である。之等の欠点を除く爲に Kapsenberg は特殊の金属性の帽子を作り、又 H. Harstmann⁽²⁾ は螺旋のついた培養瓶を考案している。

最近、綿栓の青梅綿や蠟の入手がかなり窮屈になつて來たので、之等の節約をいろいろと考えた。又出来れば、封蠟の今迄の欠点なども除きたい。それで種々研究した結果、7 cm 四方に硫酸紙を切つて、此の硫酸紙でもつて綿栓の上を被い、更に其の上を日本紙で被つて綿栓した滅菌試

験管で培地に作り、培養した後は綿栓を試験管から抜きとり、溶した蠟に浸して、直ちに其のまま封蠟する事を考案した。最初、第 20 回の結核病学会で発表した時は、硫酸紙だけで被つて封蠟したが、試験管と綿栓との間隙が多いので、之を防ぐ意味で、更に其の後、硫酸紙の上を、日本紙で被つて、綿栓する事に改良した。

従来、封蠟するには綿栓の上を切つて、其の上

に溶した蠟を流し込む方法と、綿栓を切らずに、其の儘試験管より抜き取り、溶した蠟に直ちに浸して閉ぢ込む方法とがある。

我々は後者の方法を、更に改良して、上述の様な方法を考案したのである。之等の三つの方法を、喀痰の培養により使用した培地につき、培地の乾燥状態、蠟の消費量、微の侵入状態を比較して見た。

第1表 種々の封蠟の仕方の比較

| 実験番号 | 封方蠟の仕 | 蠟の消費量 | | 凝固水の存在日数 | | | | 微の侵入 | | |
|------|-------|-------|----------|----------|------|-----------|-----------|------------|------|------------|
| | | 培地総数 | 平均消費量(瓦) | 培地総数 | 平均日数 | -30日 | -60日 | 60日以上 | 培地総数 | 侵入培地数(侵入率) |
| I | 1) | 100 | 1.45 | 410 | 54.5 | 25(6.1%) | 97(23.7%) | 288(70.2%) | 484 | 43(8.8%) |
| | 2) | 134 | 1.22 | 72 | 33.8 | 30(41.7%) | 39(54.2%) | 4(4.1%) | 156 | 2(1.3%) |
| | 3) | 105 | 0.14 | 111 | 42.6 | 18(16.2%) | 85(76.7%) | 8(7.1%) | 120 | 1(1.7%) |
| II | 1) | 16 | 1.8 | 16 | 57.1 | 0 | 2(12.5%) | 14(86.5%) | 16 | 1(1.2%) |
| | 2) | | 1.4 | | 24.3 | 13(81.3%) | 1(6.6%) | 1(6.6%) | | 0 |
| | 3) | | 0.13 | | 46.8 | 2(12.5%) | 10(62.5%) | 4(25.0%) | | 0 |

註：封蠟の仕方 1) 綿栓の上を切つて中に少々差し込み、其の上に溶した蠟をかけて封蠟する方法
2) 綿栓を切らずに、其の儘にしておいて、封蠟する場合には、試験管から抜きとつて溶した蠟に浸して其の儘とちこむ方法
3) 我々の方法 即ち綿栓の上を硫酸紙を日本紙で被つて、綿栓とし、2)の場合と同様に、溶した蠟に浸して封蠟する方法

表中封蠟の仕方で 1) とは、綿栓の上を切つて、溶した蠟を流し込む方法、2) とは綿栓を切らずに、試験管を直ちに抜いて、溶した蠟に浸して、閉ぢこむ方法、3) とは、余等の方法である。先ず蠟の消費量を見る。之は封蠟する前後の培地の重さをはかつて、其の差を見て計算した。すると 1) の方法では、100 本の平均で、1.45 g である。又 2) の方法では、1.22 g であつて、3) の方法では、0.14 g である。即ち従来の方法に比して、大体 1/10 量程度の蠟ですむわけである。又我々の方法では、試験管の再生の場合には、蠟は殆んど回収出来る。又蠟は硫酸紙の所でおさえられて、中の綿栓に迄、滲み込まないので、綿栓は何回でも使用出来る。次に乾燥状態を見よう。其の爲に凝固水の存在日数を調べて見た。即ち培養して孵卵器に入れ、1週間に 2 回宛出して、凝固水のな

くなる迄の日数を調べた。之を簡単にする爲に、30 日以内に消失したもの、30 日以上存在して、60 日以内に消失したもの、60 日を経過しても凝固水の存在しているものの三つに分けて見た。すると、1) の方法では、70.2% は 60 日以上凝固水が存在していたが、2) の方法では、30 日以内に消失したものが 41.7%、60 日迄に消失したものが、54.4% であつて、60 日を過ぎても、凝固水の存在していたものは、4.1% に過ぎない。又我々の方法では、大部分は 30 日以上存在し、60 日以内に消失している。

凝固水の存在日数を 60 日以上存在したのも、皆 60 日として計算して見ると、1) では 54.5 日、2) が 33.8 日、3) が 42.6 日である。以上を総合して考えて見ると、培地の乾燥を最もよく阻止するのは、1) の方法であり、最も乾燥

し易いものは2)の方法であつて、我々の方法は、其の間であるという事が出来る。しかし我々の今迄の経験によると、培養の結果を判定する爲には我々の方法でも充分である事がわかつている。

次に黴の侵入の問題である。培養して封蠟し、之を長期間、孵卵器に入れておくと、黴が培地の斜面に拡がつて来て、培地を汚染する事が度々である。之は綿栓の中に黴を含んでおつて、之の黴が培地斜面に迄拡がつて来て、培地を汚染するのではないかと思われる。此の傾向は培地を長期間に亘つて保存したものに著明である。しかし一方又封蠟の仕方とも大いに関係する。即ち第1表で見る様に、1)の方法では、8.8%であるが、2)及び3)の方法では、夫々1.3%、1.7%である。次に同時に作った培養基で、同時に培養し、封蠟も同時に同本宛使用した結果は、第1表、実験Ⅱ

の様であるが、此の場合も、大体実験の場合と同様の結果を示している。

尙、此の場合注意を要する事は、1)の方法で封蠟する場合は、結核菌の発育が悪くなり、又、当然、結核菌の聚落の発育が予定されているのにも拘わらず、不発育に終る事である。即ち同一材料を、2本或は4本等の培地を用いて培養する時、其の中の1本或は2本が、発育が遅くなり、何時迄も経過しても、聚落が大きくならない事である。又塗抹染色標本で、結核菌の沢山に見える様な略痰を培養した場合、其の中の大部分が、培地一面に聚落が発育しているのに、其の中の1本或は2本が、全く発育しない事である。此の場合勿論、雑菌の侵入という事も証明出来ないし、他に原因も発見されない。

第2表 封蠟の仕方の結核菌発育に及ぼす影響

| 封方 蠟の仕 | 検査 人員 | 使用 培地 数 | 硫 酸 | | 塩 酸 | | 苛 性 曹 達 | | 苛 性 加 里 | |
|-----------|----------|---------------|------------------|---------------|------------------|---------------|------------------|--------------|------------------|--------------|
| | | | 発育不良 数 (%) | 不 発 数 (%) | 発育不良 数 (%) | 不 発 数 (%) | 発育不良 数 (%) | 不 発 数 (%) | 発育不良 数 (%) | 不 発 数 (%) |
| 1) | 9 | 126 | 27 (21.4%) | 16 (12.8%) | 28 (22.2%) | 15 (11.9%) | 22 (17.5%) | 11 (8.7%) | 18 (14.3%) | 9 (7.1%) |
| 2) | 5 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3) | 17 | 238 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

註：封蠟の仕方は第1表に同じ。

第2表は、之を示すものであつて、之は略痰を材料として、1個の略痰を乳鉢でよく摺り、之に少量の滅菌蒸溜水を加えて、可及的に均等な略痰浮游液とし、之を駒込のピペットで1cc乃至2cc宛、4個に分注して、其の各につき、4%の硫酸水、4%塩酸水、4%苛性ソーダ水及び4%苛性加里水を、略痰浮游液の10倍量加えて、30分処理し10分遠心して、沈渣を1白金耳宛培養し、2ヶ月間観察した結果であつて、培地は岡片倉培地を、3本乃至4本使用した。之の成績は7/VIIより10/VIIIの間に培養したものを、封蠟の仕方によつて分類して見たものである。見ると1)の封蠟の場合は、発育不良のものは硫酸では21.4%、塩酸では22.2%、苛性曹達では17.5%、苛性加里では14.3%である。又不発育のものは、硫酸で

12.8%、塩酸で11.9%、苛性ソーダで8.7%、苛性加里で7.1%である。即ち処理液の種類如何に拘わらず、相当高率に、不発育、発育不良のものが認められるのであるが、2)及び3)の封蠟の場合には、不発育や、発育不良は全然認められない。

以上の成績から、1)の封蠟は、結核菌の発育に対して、ある程度の発育阻害を示す事がある事は明かである。しからば、此の様な阻害を來すのは何故であるか？

我々は、之等不発育の培地36本を取り出して、斜面を白金耳で引つかき、塗抹標本を作り、Ziehl-Gabbetの方法で染色して見ると、26本(72.2%)に於て、抗酸性菌を証明した。而も其の中の大部分は菌叢であつた。それで我々は、結核

菌は恐らくは、一旦培地の中で増殖したであろうが、何等か不利な条件が働いた爲に、発育が中止し、聚落を形成する迄に至らなかつたのではないかと想像されたので、発育不良の培地 14 本、不

発育の培地 9 本、対照として、立派に発育した培地、13 本をとり、岡片倉培地を用いて、第 2 代培養を施行して見た。其の成績は第 3 表の様である。

第 3 表 発育不良及び不発育よりの 2 代培養

| | 初 代 培 養 | | 二 代 培 養 | | | | | | |
|-------------|---------|-----|-----------|----------------|----|----|----|----|---|
| | 発育状態 | 菌株数 | 聚 落 の 度 合 | | 冊 | 冊 | 冊 | + | - |
| | | | 使用 培地数 | 陽性培地 数(陽性率) | | | | | |
| 実 験 群 | 不 良 | 14 | 28 | 34(89.5%) | 3 | 10 | 11 | 10 | 4 |
| | 不 発 育 | 9 | 27 | 20(74.0%) | 3 | 0 | 7 | 10 | 7 |
| 対 照 群 | 良 冊 | 9 | 12 | 10(100%) | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 冊 | 2 | 4 | 4(100%) | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 好 冊 | 2 | 4 | 4(100%) | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

註：聚落の度合
 冊 培地に余す所なく発育したもの
 冊 聚落が培地の半位まで発育しているもの
 冊 聚落数が 100 以上 200 以下
 + 聚落数が 100 以下のもの

即ち、対照のものは何れも皆、立派に聚落を形成し、発育不良のものから培養したのも、対照と差の無い程、立派に発育した。又、不発育から培養したものは、9 本中 7 本は、立派な聚落を形成した。此の結果は、我々の想像、即ち、何等かの不利な条件が此の様な結果を來したのであるという事を裏書するものであると思われる。それなら此の不利な条件は何であるか？

我々は封蠟の仕方によつて、即ち綿栓の上を切つて、其の上に蠟を流し込む方法に於てのみ見られるという事、又 7 月～8 月の様に黴の縮殖し易い時季に多い事、或は同一の材料より何本もの培地に培養した場合に、黴の侵入のあつた材料のものに於て、特に不発育や発育不良を來す事が多いという事などから、綿栓の中に存在するのであろう黴が、大きな役目を演じているのではないかと考えているが、此の事は更に研究して見たいと思つている。

む す び

普通の綿栓の上を、硫酸紙と和紙で被つて、綿栓とし封蠟する場合には、綿栓を抜いて其のまま、直ちに溶した蠟に浸して、試験管に閉ぢ込む様に

すれば、要する蠟の量は、従來の方法に比較して 1/10 量ですみ、且つ使用した蠟は再び回収が出來、綿栓は硫酸紙で蠟のしみこむのを阻止出來るので、何回も使用する事が出來る。又綿栓を通じて侵入するであろう所の黴を防ぐ事が出來るので、結核菌の発育不良、不発育を除く事が出來る。

主 要 文 献

- 1) Kapsenberg; Zbl. f. Bakt., I Abt., orig., 146 : 80, 1940.
- 2) H. Harstmann; Zbl. f. Bakt., I Abt., orig., 146 : 382, 1941.