

# 原 著

## 結核菌の培養方法に関する研究

### (第2報) 第三磷酸曹達処理法について

国立公衆衛生院 衛生微生物学部 林 久 子  
国立予防衛生研究所 結核部

#### 緒 言

さきに第1報<sup>(1)</sup>において Corper,<sup>(2)</sup> Vranken<sup>(3)</sup>等により提唱された 23% 第三磷酸曹達処理法を 4% 硫酸処理法、4% 苛性曹達処理法と比較実験を行い、23% 第三磷酸曹達処理法は他の 2 処理法に較べて培養成績がやや劣ることを報告したが、第三磷酸曹達処理法は、一般に用いられている処理法と異なり、喀痰と混合して 1 週間保存しても結核菌はあまり障害を受けないで生存することを Corper 等<sup>(1)</sup>は報告しているの、たとえ他の処理法にやや劣つても 1 週間の保存に耐え得るならば遠隔の地より喀痰を運ぶ場合、または非常に多数の被検材料が運びこまれた場合等、処理を行いながら喀痰を保存出来ることから、実用に供せられるものと考え、第三磷酸曹達溶液の濃度、培地の水素イオン濃度及び保存期間中の温度についてさらに実験を試み、以下の成績を得た。

#### 実験方法

##### 1) 喀痰の取扱方法

Gaffky II~IV 号の喀痰を滅菌乳鉢に採り、これを Gaffky 陰性の喀痰で約 10 倍に稀釈し、氷結研磨を数回繰返して均等な喀痰とし、材料が少ない場合はこれに喀痰量の滅菌蒸留水を加え、攪拌して均等な材料を得た。

##### 2) 前処理液

5%、10%、15%、23% の第三磷酸曹達 ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 溶液を 100°C 30 分間滅菌して使用した。

##### 3) 使用培地

第1報の実験と同様に pH5.6~7.4 の、それぞれ水素イオン濃度を異にする鶏卵培地を作つて使用した。

##### 4) 培養方法

それぞれ前処理を行つた喀痰を 0.1cc 宛 10 を培地斜面に洗注し、4 日間横位に保つた後、培地面に余剰の水分が無くなるのを待つてゴム帽で密閉し、37°C の孵卵器中に培養した。

##### 5) 観察方法

集落が発生するまで、毎日培養基面の観察を行い、集落様のものが認められても明らかに数えることの出来るまでは土を以て示し、集落が明らかに認められるようになってからは実数を以て表わした。

#### 実験成績

##### 1) 23% 第三磷酸曹達の作用日数の影響

23% 第三磷酸曹達溶液を等量加えた喀痰を室温 (25°C ~ 36°C) に保存して、1 日、3 日、7 日、11 日、15 日及び 20 日後に pH 6.5 の培地に培養した。他方同様に保存した喀痰を培養前 24 時間 37°C の孵卵器内に保つた後培養を行つた。

第1表 23% 第三磷酸曹達の作用日数の影響

(1) 室温 (25°C~36°C) に放置した成績

保存日数 培養日数	1 日	3 日	7 日	11 日	15 日	20 日
	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数					
14 日	± (±) 2	± (±) 0	± (0 ~ ±) 0	± (0 ~ ±) 0	0 (0) 0	0 (0) 0
18 日	202(77~315)2	130(60~195)0	26(8~50)0	9(3~21)0	6(3~14)0	1(0~2)0
21 日	250(155~368)2	150(99~200)0	35(8~50)0	16(6~32)0	8(3~16)0	1(0~2)0
25 日	259(163~376)2	172(119~219)0	46(23~56)0	18(8~33)0	10(6~16)0	2(1~3)0
28 日	276(174~388)2	180(124~225)0	47(24~57)0	20(8~33)0	12(6~17)0	2(1~4)0

(2) 培養前 24 時間 37°C に保存した成績

保存日数 培養日数	1 日	3 日	7 日	11 日	15 日	20 日
	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数					
14 日	± (±) 0	± (±) 0	± (0~±) 0	0 (0~±) 0	0 (0) 0	0 (0) 0
18 日	101(34~133)0	57(4~96)0	24(9~35)0	5(0~12)0	5(0~16)0	0(0~1)0
21 日	155(90~195)0	63(4~99)0	31(9~43)0	10(2~21)0	6(1~19)1	1(0~2)0
25 日	168(103~214)0	76(16~111)0	38(13~57)0	11(2~21)0	8(3~21)1	1(0~3)0
28 日	177(106~226)0	81(20~113)0	39(13~57)0	12(4~21)0	9(5~23)1	2(0~6)0

註：1) 表中左方の数字は培地 10 本の平均集落数  
 3) 右方数字は培地 10 本中の雑菌発生管数

2) ( ) 内数字は培地 10 本中の最低及び最高集落数  
 4) ± または 0 が各 5 本以上の場合には ± または 0 と記載した(四捨五入)

これ等の成績は、第 1 表に示すように室温に放置し、3 日間保存を行つた成績では 1 日間保存した成績の約 1/2 程度の集落数を認め、7 日間保存した成績では 1 日間保存の約 1/10 位に集落数が減少していた。11 日間以上作用した成績では集落数が著しく少ないことが認められた。培養前 24 時間 37°C に保ち、3 日間保存した成績でも 1 日間保存の約 1/2 の集落数を示し、7 日間保存した成績では 1 日間保存の約 1/10 の集落数であり、11 日間以上保存の成績は極めて劣つているのが見られた。雑菌混入は室温に放置して 1 日後に培養したものに 1 例を認めたのみであつた。すなわち、室温 (25°C~36°C) に保存の場合

も培養前 24 時間 37°C に保存してから培養しても、3 日間の保存では 1 日間の保存の場合の集落数の約 1/2 に、7 日間保存すると約 1/10 に減少した。

2) 第三磷酸曹達の濃度と培地の水素イオン濃度との関係

5%、10%、15% 及び 23% 第三磷酸曹達溶液で処理した喀痰を pH5.6~7.4 の培地に培養した。第 1 実験では 10%、15% 及び 23% 溶液処理の比較を、第 2 実験では、5%、10%、15% 及び 23% 溶液処理の比較を行つた。まず、5% 溶液処理は、第 3 表に示すように pH5.6~6.5 培地により成績を示し、10% 溶液処理は第

第 2 表 第三磷酸曹達の濃度と培地の水素イオン濃度との関係 (第 1 実験)

(1) 10% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH 培養日数	5.6	5.9	6.5	6.9	7.2	7.4
	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数					
15 日	0(0)0	0(0~±)0	0(0~±)1	±(0~±)2	0(0)1	0(0)3
18 日	0(0~±)0	±(0~±)2	±(±)4	±(0~±)4	0(0)1	0(0)3
20 日	6(0~23)2	17(3~39)2	23(9~47)4	19(4~42)4	0(0)1	0(0)3
23 日	14(2~31)2	25(8~48)2	32(13~55)4	29(17~43)4	0(0~±)1	0(0)3
25 日	18(2~37)2	28(9~54)2	38(20~57)4	33(19~44)4	1(0~6)1	0(0)3
30 日	26(3~41)2	33(17~54)2	40(23~64)4	40(33~53)4	2(0~7)1	0(0)3

(2) 15% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH 培養日数	5.6	5.9	6.5	6.9	7.2	7.4
	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数					

15 日	0(0)1	0(0~±)0	±(0~±)1	0(0~±)0	0(0)1	0(0)2
18 "	±(0~±)1	±(±)1	±(±)1	±(±)1	0(0)1	0(0)2
20 "	17(3~36)1	38(20~59)1	35(15~70)1	18(5~50)1	0(0)1	0(0)2
23 "	27(4~52)1	53(38~79)1	47(28~76)1	34(17~56)1	0(0~±)1	0(0)2
25 "	32(4~61)1	58(40~85)1	49(25~76)1	43(17~68)1	2(0~11)1	0(0)2
30 "	41(7~62)1	61(40~85)1	55(39~78)1	56(33~76)1	5(0~11)1	0(0)2

## (3) 2% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH	5.6	5.9	6.5	6.9	7.2	7.4
	培養日数	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数				
15 日	0(0~±)2	±(0~±)0	±(0~±)0	0(0)2	0(0)1	0(0)0
18 "	±(0~±)2	±(±)0	±(±)0	0(0~±)2	0(0)1	0(0)0
20 "	28(3~36)2	42(24~72)0	38(17~78)0	1(0~4)2	0(0)1	0(0)0
23 "	38(4~51)2	53(36~80)0	50(29~90)0	3(0~8)3	0(0)1	0(0)0
25 "	45(13~62)2	58(41~88)0	53(33~90)0	5(0~15)3	0(0~±)1	0(0)0
30 "	57(32~73)2	62(41~88)0	60(42~91)0	10(4~27)3	0(0~2)1	0(0)0

第3表 第三磷酸曹達の濃度と培地の水素イオン濃度との関係 (第2実験)

## (1) 5% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH	5.6	5.9	6.5	6.9
	培養日数	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
17 日	±(0~±)0	±(±)0	±(0~±)0	0(0)0
19 "	±(0~±)0	±(±)0	±(0~±)0	0(0~±)0
23 "	±(0~±)1	7(3~10)0	6(0~10)0	3(0~7)0
27 "	8(4~14)1	9(6~12)0	7(3~11)0	4(0~8)0
32 "	10(6~16)1	10(7~15)0	8(4~12)0	5(0~9)0

## (2) 10% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH	5.6	5.9	6.5	6.9
	培養日数	平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
17 日	±(0~±)0	±(±)0	±(0~±)0	0(0)0
19 "	±(0~±)0	±(±)0	±(±)0	0(0~±)0
23 "	3(0~8)0	8(2~13)0	9(5~15)0	1(0~4)0
27 "	4(0~9)0	10(3~15)0	10(7~17)0	3(0~6)0
32 "	5(0~10)0	12(4~17)0	12(7~17)0	4(1~6)0

## (3) 15% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH		5.6	5.9	6.5	6.9
		平均集落数(最低~最高集落数) 雑菌発生管数			
培養日数					
17	日	±(0~±)0	±(±)0	±(0~±)0	0(0)0
19	"	±(0~±)0	±(±)0	±(0~±)0	0(0~±)0
23	"	7(2~15)0	10(5~16)0	7(0~11)1	1(0~5)0
27	"	8(2~16)0	10(5~16)0	8(0~15)1	3(0~5)0
32	"	9(3~18)0	13(7~17)0	9(0~15)1	3(0~6)0

## (4) 23% 第三磷酸曹達を用いた成績

培地 pH		5.6	5.9	6.5	6.9
		平均集落数(最低~最高集落数) 雑菌発生管数			
培養日数					
17	日	0(0~±)0	±(0~±)0	0(0~±)0	0(0)0
19	"	±(0~±)0	±(0~±)0	0(0~±)0	0(0)0
23	"	2(0~4)0	3(0~6)0	1(0~3)0	0(0~±)0
27	"	3(1~6)0	3(0~6)0	1(0~3)0	0(0~1)0
32	"	4(2~7)0	4(0~6)0	2(0~3)0	0(0~1)0

実験では、第2表に示すように pH5.6~6.9 培地に、第2実験では、第3表に示すように pH5.6~6.5 培地にいい成績を示した。15%溶液処理は10%溶液処理の場合と同様に第1実験では pH5.6~6.9 培地に、第2実験では pH5.6~6.5 培地によい成績を示した。23%溶液処理は、第1実験では pH5.6~6.5 培地に、第2実験では pH5.6~5.9 培地によい成績を示した。これらの溶液の処理の間では、それぞれに適した pH の培地における集落数は第2実験で23%溶液処理がやや他の溶液処理より集落数が劣った以外は殆んど差異を認めなかつた。菌混入の程度は、第1、第2実験を通じて5%溶液処

理では40例中1例、10%溶液処理では100例中16例、15%溶液処理では100例中7例、23%溶液処理では100例中6例であつたが、第2実験では全例を通じて5%溶液処理に1例を認めたのみであつた。

以上の実験から濃度の高い23%溶液処理には5%、10%、及び15%溶液処理に較べて低い pH の培地の方がより適する傾向が見られた。

3) 第三磷酸曹達の濃度と喀痰保存中の温度の影響  
10%、15%及び23%第三磷酸曹達溶液で処理した喀痰を10°C、22°C及び37°Cの各温度に保存して、1日、3日及び7日後に pH5.9 の培地に培養した成績は

第4表 第三磷酸曹達の濃度と喀痰保存中の温度の影響

その1. 10°Cに保存した成績

## (1) 10% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数		1 日	3 日	7 日
		平均集落数(最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
培養日数				
18	日	±(0~±)2	±(0~±)0	±(0~±)0
20	"	±(±)2	±(0~±)0	±(±)0
24	"	101(±~184)2	58(±~163)0	39(20~75)0
28	"	166(20~249)2	72(±~180)0	57(24~114)0

32	〃	195(55~251)2	91(30~198)2	75(36~130)0
----	---	--------------	-------------	-------------

## (2) 15% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数		1 日	3 日	7 日
培養日数		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
		18 日	±(0~±)8	±(0~±)1
20 〃		±(±)8	±(0~±)1	±(±)0
24 〃		229(133~286)8	107(0~224)1	46(13~128)0
28 〃		262(143~303)8	133(0~304)2	65(17~158)0
32 〃		279(207~320)8	152(98~232)3	89(24~178)0

## (3) 23% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数		1 日	3 日	7 日
培養日数		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
		18 日	0(0~±)3	±(0~±)0
20 〃		±(±)3	±(0~±)0	±(±)0
24 〃		166(108~221)3	72(±~161)0	23(±~91)0
28 〃		220(191~317)3	90(21~178)2	38(13~97)0
32 〃		244(246~337)4	98(41~181)2	58(26~129)0

## その 2. 22°C に保存した成績

## (1) 10% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数		1 日	3 日	7 日
培養日数		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
		18 日	±(0~±)1	±(0~±)0
20 〃		±(0~±)1	±(0~±)0	±(0~±)0
24 〃		36(±~120)2	67(±~128)0	16(1~70)0
28 〃		91(40~202)2	85(14~139)1	25(4~43)0
32 〃		135(59~248)2	95(40~139)3	44(18~99)0

## (2) 15% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数		1 日	3 日	7 日
培養日数		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
		18 日	±(0~±)5	±(0~±)0
20 〃		±(0~±)5	±(0~±)0	±(0~±)0
24 〃		24(±~93)6	62(7~112)0	6(±~27)0
28 〃		57(21~90)6	73(11~126)0	12(3~29)0

32	〃	81(54~99)6	89(48~132)2	25(12~36)0
----	---	------------	-------------	------------

## (3) 23% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数 培養日数		1 日	3 日	7 日
		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
18	日	±(0~±)6	0(0~±)0	0(0)0
20	〃	±(0~±)6	±(0~±)0	±(0~±)0
24	〃	48(22~70)6	58(±~117)0	4(1~7)0
28	〃	88(36~129)6	75(20~144)0	9(5~14)0
32	〃	116(37~141)7	85(34~122)2	24(12~49)0

## その 3. 37°C に保存した成績

## (1) 10% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数 培養日数		1 日	3 日	7 日
		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
18	日	±(0~±)1	0(0~±)0	0(0)0
20	〃	±(±)1	0(0~±)0	0(0~±)0
24	〃	105(±~198)1	14(0~30)0	1(0~4)0
28	〃	186(141~234)1	18(±~40)0	1(0~4)0
32	〃	221(156~289)1	23(10~43)0	2(0~6)0

## (2) 15% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数 培養日数		1 日	3 日	7 日
		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
18	日	±(0~±)0	±(0~±)1	0(0)0
20	〃	±(0~±)0	±(0~±)1	0(0~±)1
24	〃	81(±~162)0	42(26~71)1	2(0~7)0
28	〃	161(±~251)0	50(21~76)1	4(0~9)0
32	〃	175(78~252)1	54(32~76)2	5(0~11)0

## (3) 23% 第三磷酸曹達を用いた成績

保存日数 培養日数		1 日	3 日	7 日
		平均集落数 (最低~最高集落数) 雑菌発生管数		
18	日	0(0)0	0(0~±)0	0(0)0
20	〃	±(0~±)0	±(0~±)0	0(0~±)0
24	〃	24(0~111)0	25(±~56)0	1(0~3)0
28	〃	78(±~167)0	33(7~56)0	2(0~7)0

32	〃	111(51~185)0	40(11~66)0	5(0~9)0
----	---	--------------	------------	---------

第4表に示すように、1日及び3日間の保存では37°C以下の温度に保存した場合、各濃度の溶液を使用した成績に雑菌混入が相当多数認められたが、7日間保存した培養成績では各濃度、各保存温度共雑菌混入は1例もなく、集落数を比較すると、10°C保存の場合は10%溶液処理では平均集落数75、15%溶液処理では平均集落数89、23%溶液処理では平均集落数58であつて、これらの平均集落数を23%溶液37°C1日保存の集落数に比較すると23%溶液処理では約 $\frac{1}{2}$ に減少しているが、濃度の低い溶液では相当優れた成績を示した。また22°C保存の場合は、それぞれの濃度の溶液処理の場合の平均集落数は10%溶液処理では44、15%溶液処理では25、23%溶液処理では24であつて、これらの平均集落数を23%溶液37°C1日保存の集落数に比較すると、最も成績のよい10%溶液の処理で集落数は約 $\frac{1}{2.5}$ であり、15%、23%溶液処理では約 $\frac{1}{2}$ 程度であつた。37°C保存の場合は10%溶液処理では平均集落数2、15%溶液処理では平均集落数5、23%溶液処理では平均集落数5で、これらの平均集落数を23%溶液37°C1日保存の集落数に比較するといずれも $\frac{1}{20}$ 以下で他の温度に保存した場合より遙かに成績が劣つていた。

4) 培養前24時間37°Cに保存することによる第三磷酸曹達の濃度と保存中の温度の影響

10%、15%及び23%第3磷酸曹達溶液で処理した喀痰を0°C及び10°Cに保存し、培養前24時間37°Cの孵卵器内に保つて、3日及び7日後にpH5.9の培地に培養を行つた。一方23%溶液で処理した喀痰を22°Cに放置して同時に培養して成績を比較し、また23%溶液処理をして24時間37°Cに保存して培養した集落数をすべての対照として観察した。これらの成績は、第5表に示すように0°C保存の場合は、10%溶液3日保存では平均集落数53で対照(23%、37°C24時間保存)の集落数の約 $\frac{1}{2}$ であり、同7日保存でも平均集落数61で対照の約 $\frac{1}{2}$ であつた。15%溶液3日保存では平均集落数91で対照とあまり差を認めず、同7日保存では平均集落数54で対照の約 $\frac{1}{2}$ であつた。23%溶液3日保存では平均集落数42で対照の約 $\frac{1}{2}$ であり、同7日保存では平均集落数33で対照の約 $\frac{1}{2}$ であつた。

すなわち、0°Cに保存してから24時間37°Cに保つて後培養する場合は、23%溶液よりも15%、10%溶液を用いる方がよい成績を得ることが出来る。10°C保存の場合は、10%溶液3日保存では平均集落数73で対

第5表 培養前24時間37°Cに保存することによる第三磷酸曹達の濃度と保存中の温度の影響  
対照

23%第三磷酸曹達を用い24時間37°Cに保存した成績

培養日数	保存日数	平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数
20	日	±(±)0
22	〃	59(28~104)0
25	〃	82(33~130)0
30	〃	95(48~134)0

23%第三磷酸曹達を用い、22°Cに保存した成績

培養日数	保存日数	3日	7日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数
20	日	±(0~±)0	0(0~±)0
22	〃	34(12~63)0	2(0~3)0
25	〃	42(18~73)0	4(0~15)0
30	〃	59(36~88)0	6(1~18)0

その1. 0°Cに放置した後24時間37°Cに保存した成績

(1) 10%第三磷酸曹達を用いた成績

培養日数	保存日数	3日	7日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数
20	日	±(±)0	±(±)0
22	〃	30(11~90)0	33(8~81)0
25	〃	44(17~121)0	46(9~84)0
30	〃	53(30~129)0	61(12~98)0

(2) 15%第三磷酸曹達を用いた成績

培養日数	保存日数	3日	7日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数
20	日	±(±)0	±(0~±)0
22	〃	53(28~89)0	30(8~81)0
25	〃	74(36~117)0	42(10~95)0
30	〃	91(44~143)0	54(17~105)0

## (3) 23% 第三磷酸曹達を用いた成績

培養日数	保存日数	3 日	7 日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	
20 日		±(0~±)0	±(0~±)0
22 日		21(1~39)0	11(0~26)0
25 日		33(1~70)0	24(3~41)0
30 日		42(11~85)0	33(6~61)0

その 2. 10°C に放置した後、24 時間 37°C に保存した成績

## (1) 10% 第三磷酸曹達を用いた成績

培養日数	保存日数	3 日	7 日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	
20 日		±(±)0	±(±)0
22 日		38(17~69)0	34(±~71)0
25 日		53(23~114)0	39(±~76)0
30 日		73(32~134)0	53(10~115)0

## (2) 15% 第三磷酸曹達を用いた成績

培養日数	保存日数	3 日	7 日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	
20 日		±(±)0	±(±)0
22 日		45(26~89)0	45(±~78)0
25 日		67(36~133)0	50(±~88)0
30 日		82(47~144)0	62(9~101)0

## (3) 23% 第三磷酸曹達を用いた成績

培養日数	保存日数	3 日	7 日
		平均集落数(最低~最高集落数)雑菌発生管数	
20 日		±(±)0	±(0~±)0
22 日		32(9~60)0	26(0~74)0
25 日		60(10~111)0	35(0~96)0
30 日		71(16~124)0	55(0~117)0

照の約 $\frac{1}{2}$ であり、同 7 日保存では平均集落数 53 で対照の約 $\frac{1}{2}$ であつた。15% 溶液、3 日保存では平均集落数 82 で対照の約 $\frac{1}{2}$ であり、同 7 日保存では平均集落数 62 で対照の約 $\frac{1}{2}$ であつた。23% 溶液 3 日保存では平均集落数 71 で対照の約 $\frac{1}{2}$ であり、同 7 日保存では平均集落数 55

で対照の約 $\frac{1}{2}$ であるが、やはり 15%、10% 溶液処理の方が培養成績がよい傾向が見られた。また 23% 溶液で処理し、22°C に放置した場合は 3 日保存では平均集落数 59 で対照の約 $\frac{1}{2}$ で低温に保存した場合と殆んど差が無いが、同 7 日保存では平均集落数 6 で対照の約 $\frac{1}{20}$ であつた。

以上の実験では、低温 (0°C または 10°C) に保存した後 37°C に 24 時間保存して培養すると雑菌混入を防止、培養成績も 22°C に放置した成績に比して優れている。低温のうちでは 0°C と 10°C の間に成績の大差はなく、いずれも低い濃度の溶液で処理した方が培養成績がよい傾向が見られた。

## 総括及び考案

均等化された喀痰を用いて、23% 第三磷酸曹達処理における処理日数の影響、第三磷酸曹達溶液の濃度と培地の水素イオン濃度との関係及び第三磷酸曹達溶液の濃度と保存中の温度の影響等について実験を行った。

23% 第三磷酸曹達溶液で処理した喀痰を 25°C~36°C の室温に放置し、1 日、3 日、7 日、11 日、15 日及び 20 日後に pH 6.5 の培地に培養した成績では、3 日保存の平均集落数は 1 日保存の約 $\frac{1}{2}$ に減少し、7 日保存では約 $\frac{1}{2}$ に減少していた。またこの際培養前 24 時間 37°C に保存した成績でも培養成績に著しい差は認められなかつた。Corper 及び Stoner によれば、23% 第三磷酸曹達溶液で処理した喀痰は、7 日間 37°C に保存しても結核菌にはあまり障害を与えないと報告しているが、彼等の実験においては、グリセリン卵黄培地に培養を行い、集落発生の有無と、それまでに要した週数を以て観察しているので成績を比較することは困難である。そういう見地からいへばこの成績において 11 日保存の培養成績も 1 日保存の成績より発育がやや遅れる程度であつた。

しかし、7 日間保存することによつて集落数が $\frac{1}{2}$ 近くに減少するならば実用的価値が著しく減少するものと考えなければならぬ。

23% よりも低い濃度の第三磷酸曹達溶液を用いたならば、数日に亘る保存期間中の結核菌が受ける障害も恐らく減ずることであろうと考え、溶液の濃度を低くした場合、どの程度の pH の培地を選ぶべきかを検討したのであるが、5~23% の溶液で処理した喀痰を 24 時間 37°C に保存した後 pH 5.6~7.4 の培地に培養した成績によると、5~15% 溶液では pH 5.6~6.5 培地に優れた培養成績を認め、23% 溶液では pH 5.6~5.9 培地に最もよく発育した。2 回の実験の内、1 回はすべての培地の至適 pH の範囲が狭かつたことは恐らく菌数が他の



実験の時より少なかつたためと考えられる。24時間の処理では各濃度の溶液間の集落数は殆んど差異が見られなかつた。小川、佐波<sup>(4)</sup>は 5~23% 第三磷酸曹達を用いて BCG 浮游液を孵卵器内に放置した場合の集落数では、1日保存ですでに溶液濃度が高い程著明に減少していることを報告しているが、著者の実験の場合は喀痰中に含まれている菌であり、また菌株が異なるために 24時間の処理では著しい影響の差を認めなかつたものと考ええる。雑菌の混入は、溶液の濃度の低い方に多く見られた。次に 10%、15% 及び 23% の溶液で処理した喀痰を 10°C、22°C 及び 37°C に放置して培養した成績では 1週間保存の場合、低い温度に放置した方が集落数が多く、10°C に放置した場合は 22°C に放置した場合の集落数の 2倍以上であり、37°C に放置した場合の 20倍近くの集落数であつたが、37°C 以下の温度ではいずれも 3日間の保存では多くの雑菌混入を認めた。同濃度の溶液を用い、0°C 及び 10°C に放置し、培養前 24時間 37°C に保存した後培養した成績では、3日間の保存ですでに雑菌混入は 1例も認められずいずれも 10% 及び 15% 溶液処理が 23% 溶液処理にやや優れていた。0°C と 10°C の保存温度の間では殆んど差がない。これら低温に放置して培養前 24時間 37°C に保存した成績を 23% 溶液で処理し、22°C に放置した成績と比較すると 3日間の保存では殆んど差がなかつたが、7日間保存の成績において約 10倍の集落数を示した。また 23% 溶液で同じ喀痰を 37°C 24時間保存した成績に対する集落数の減少する割合は、数日間低温に放置し培養前 24時

間 37°C に保存しても、しなくても著しい差は認められない、故に実際に用いる場合は、数日間を要して喀痰を運搬、または保存する必要がある場合は、10% または 15% 溶液を用いて処理し、10°C 又はそれ以下の低温に保存してから培養前 24時間 37°C に保てば、23% 溶液を用い室温に保存して培養するよりもよい成績が得られることになるが、前記の実験において雑菌が混入する場合は第三磷酸曹達の濃度の低い方に多く認められることから 10% より 15% 溶液を用いる方が良いと考える。

## 結 論

喀痰を採取してから培養までに数日間を要する場合は、15% 第三磷酸曹達溶液を用い、10°C またはそれ以下の低い温度に保存して、培養前 24時間 37°C の孵卵器に保つた後、pH 5.6~6.5 の培養基に培養すれば最もよい培養成績を得ることが出来る。

終りに臨み、国立公衆衛生院衛生微生物学部長、染谷博士並びに国立予防衛生研究所結核部長、柳沢博士の御懇篤なる御指導に深甚なる感謝の意を表します。

## 引用文献

- 1) 林 久子：結核，25，321~332，1950.
- 2) M. J. Corper and R. E. Stoner：J. Lab. Clin. Med.，31，1364~1371，1946.
- 3) M. Vranken：Am. Rev. Tuberc.，55，374~378，1947.
- 4) 小川辰次、佐波薫：最新医学.，4，32~35，1949.

# アドレナリン閾値検査法による肺結核患者の汗腺の興奮性について

岩手医大内科教室(主任 工藤教授) 木 村 武  
照 井 博

## 緒 論

生体の植物性機能における反応基質及びそれに影響する内外因子の総体を認識し、分析し、更に治療上応用しようとする企図は極めて困難なことであるが、また最も重要な問題として多くの臨床家が試みてきた。特に結核疾患は、その病型の千差万態にして、緩急種々なる進展を示すため、その植物性変調の推移を分析究明することによって、過敏症と免疫との間におけるアレルギーの根

本命題を解明する前提となり得る。著者の一人<sup>(1)</sup>は先に和田一高垣氏法により人体のアドレナリン局所発汗能を検査し、健康人汗腺の閾値を決定し、年齢・性別その他気候、季節等諸要素について相関関係の有無を明らかにしたが、更にこれを臨床的に応用して、肺結核患者の汗腺の興奮性を検査し、症状、ツベルクリン反応との関係を調査した結果を報告する。

## 実験方法