

結核菌のマラカイト緑に対する抵抗性の基礎的実験

岡 本 亨 吉

国立療養所村松晴嵐荘
慶応義塾大学 (指導 牛場大蔵教授)

受付 昭和 31 年 12 月 5 日

緒 言

結核の化学療法時代に入つて、いわゆる塗抹陽性培養陰性の例が多く報告せられ、その菌の生死の問題も改めて取上げられるに及び、結核菌の培養技術や培地の種類による発育の差異もまた再検討されなければならなくなつた。

ここに、著者は現行培地に最も多くの場合用いられている色素であるマラカイト緑に対する結核菌の抵抗性の基礎的実験を行つた。

マラカイト緑の結核菌発育に及ぼす影響に関する文献を顧るに、マラカイト緑を結核菌培地中に用いたのは、Petragani¹⁾が氏の考案した牛乳馬鈴薯卵培地にマラカイト緑を混じて、集落発見を容易ならしめ、また、結核菌発育を阻害せずかつ雑菌発育を防止せんと企てたのに始ることは周知の事実である。当時氏は約 1,600 倍稀釈になるようにマラカイト緑を添加している。

さらに、Hohn²⁾、Löwenstein³⁾、岡・片倉⁴⁾らもまたそれぞれ考案の培地にマラカイト緑を用いたが、これらの培地には約 3,000 倍ないし 4,000 倍稀釈になるように混じられた。

その間、数氏^{5)~14)}によつて各培地中のマラカイト緑濃度と結核菌検出率との関係が検討せられ、大略 2,000 ないし 4,000 倍稀釈では結核菌の発育を著しく阻害することなく、分離培地として使用されるとされてきた。

萩原・南谷¹⁵⁾は氏の考案したブイオン培地にマラカイト緑を 125,000 倍稀釈になるように混じて、結核菌分離に好成績を得た。

しかしながら、上記はいずれも患者の病的材料検査の成績を基としたものである。

一方、結核菌の培養において、均等菌液の調製が困難であつたために、発育の数量的観察は必ずしも不正確をまぬがれなかつた。

かかる見地から著者は今回数種培地中のマラカイト緑に対する結核菌の抵抗性を検するに当り、定量的培養による基礎的実験に留意した。以下その成績を報告する。

実験材料ならびに方法

培地：岡・片倉培地、グリセリン寒天、グリセリンブイオン、Kirchner 培地の作製は植田¹⁶⁾の記載によつた。

3%小川培地、耐性検査用培地のそれは小川¹⁷⁾によつた。Dubos 液体培地は Difco 製品を使用し、Dubos 寒天は上記に寒天を 2%に加えて 100°C、30分、3日間滅菌し、60°Cにおいて10%の割合に血清を添加したものである。

供試菌株：人型菌 H₃₇Rv 株、鳥型菌竹尾株、非病原性菌の一種である Mycobacterium 607株、ならびに患者喀痰よりの新鮮分離菌株および薬剤耐性菌株。

培養方法：下記のように菌液を調製して、各菌液の約 0.1cc を液体培地においては単に混和、斜面培地においては、その凝水と混じて斜面に流して 2日間孵卵器内に放置した後綿栓をゴムキャップと交換し、直立して培養を続けた。

菌液の調製：既成菌塊約 2mg を硝子玉容り試験管内で磨碎して蒸溜水 10cc に浮遊せしめる。この菌液を 3,000 rpm、3~5 分間遠速して上清を原液とする。10倍稀釈を続けて、原液の 10倍、100倍、1,000倍稀釈相当液を作る。成績の表中にはそれぞれ「原」、「10⁻¹」、「10⁻²」、「10⁻³」と記載した。

判定：各表中記載の成績は各 5本あての培養の平均である。

マラカイト緑：本実験中終始和光純薬工業株式会社製の同一 Lot の製品を使用した。表中には MG と略記した。

実験成績

I 数種培地中のマラカイト緑濃度と結核菌の発育

岡・片倉培地中のマラカイト緑濃度と結核菌の発育
供試菌株は 3%小川培地に継代培養した H₃₇Rv 株である。本項の菌液のみ、菌塊を硝子玉容り試験管中で磨碎して蒸溜水に浮遊せしめたままのものを用いた。

成績は表 1 に表示した。表に見るように、いずれの濃度の菌液移植の場合も、マラカイト緑濃度が高いほど、H₃₇Rv 株の集落発育はやや劣る。10⁻³mg~10⁻⁴mg 移植の場合は発生集落数が多すぎるため計数は困難であるが、一見して、マラカイト緑の濃度が高い程集落数がやや少ないのが認められる。

1,000倍稀釈マラカイト緑は H₃₇Rv 株の発育を著しく抑制し、10⁻⁶mg~10⁻⁷mg 移植の場合各培地に 1~2 個の集落発生を見た例と全然集落発生を見ない例とあつた。10,000倍以上稀釈の培地では集落発生を見ない培地はなかつた。

なお、本表の成績は培養23日の判定であるが、マラカイト緑10万倍以上稀釈の培地では、14~16日でいずれにも集落発生が見え始め、1万倍稀釈の培地では $10^{-3}mg \sim 10^{-4}mg$ 移植の場合は上と同様であるが、 $10^{-5}mg \sim 10^{-7}mg$ 移植の場合は16日までに集落が見えることは稀であった。1,000倍稀釈の培地では $10^{-5}mg \sim 10^{-7}mg$ 移植の場合、23日頃に至つて漸く集落発生を認めた。

表1 岡・片倉 H₃₇Rv (23日)

| | 10 ⁻³ mg | 10 ⁻⁴ mg | 10 ⁻⁵ mg | 10 ⁻⁶ mg | 10 ⁻⁷ mg |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| MG10 ³ × | + | 55.4 | (9.8) | (1.0) | (0.6) |
| 10 ⁴ × | + | 13.4 | 27 | 7.6 | 5.8 |
| 10 ⁵ × | + | + | 47.6 | 19.6 | 7.0 |
| 10 ⁶ × | + | + | 55.8 | 28.2 | 13.4 |
| ∞ × | + | + | 67.3 | 24.5 | 27.4 |

数:集落数 +, ++, +++:集落数が多いので計数不適であるが+の数に応じて発育良 - :集落発生を認めなかつた(以下各表同じ)

鶏卵培地(岡・片倉)と寒天培地(Dubos寒天)におけるマラカイト緑濃度と結核菌の発育成績は表2および表3に表示した。

表2 岡・片倉培地と Dubos 寒天 H₃₇Rv (4W)

| | 岡・片倉培地 | | | Dubos 培地 | | | | |
|----------------------|--------|------------------|------------------|------------------|---|------------------|------------------|------------------|
| | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
| MG 10 ³ × | +++ | ± | ± | - | | | | |
| 10 ⁴ × | +++ | + | + | + | - | - | - | - |
| 10 ⁵ × | +++ | + | + | + | + | + | + | 29± |
| 10 ⁶ × | | | | | + | + | + | 76 |
| 0 | +++ | + | + | + | + | + | + | 88 |

±:集落発育が現われた試験管と現われないのとあつた(以下各表同じ)

表3 岡・片倉培地と Dubos 寒天福田株 (4W)

| | 岡・片倉培地 | | | Dubos 培地 | | | | |
|----------------------|--------|------------------|------------------|------------------|---|------------------|------------------|------------------|
| | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
| MG 10 ³ × | + | + | - | 5 | | | | |
| 10 ⁴ × | +++ | + | + | 25 | - | - | - | - |
| 10 ⁵ × | +++ | + | + | 39 | + | + | + | 144 8 |
| 10 ⁶ × | | | | | + | + | + | 158 9 |
| 0 | +++ | + | + | 24 | + | + | + | 48 10 |

表2は H₃₇Rv 株の同一菌液を岡・片倉培地および Dubos寒天に移植4週間の成績である。岡・片倉培地の所見は前項の所見とほぼ等しい。

Dubos寒天においては、鶏卵培地と異なり、マラカイト緑1万倍稀釈でも H₃₇Rv 株の発育は完全に抑制された。10万倍以上稀釈でも濃度に応じて、集落数および集落の大きさから見て、僅かずつ阻止作用を増しているようであるが、著明ではない。

なお、本表には示されていないが、Dubos寒天における方が岡・片倉培地におけるより2~3日早く集落発生が認められた。これは寒天培地においては透過光線により集落を認め易いことにもよるであろう。

表3は患者喀痰より分離したばかりの菌株を上記同様移植した4週間目の成績である。

新鮮分離菌株の両培地におけるマラカイト緑に対する抵抗性は保存した H₃₇Rv 株とほぼ同様である。すなわち、岡・片倉培地において1,000倍稀釈マラカイト緑は著しく抑制し、発育した集落数は極めて少なく、かつ、著しく小さい。しかし、完全に阻止することはない。Dubos寒天においては、1万倍稀釈で完全に結核菌の発育を阻止する。

ただ、新鮮分離菌株の場合、両培地ともマラカイト緑を含まない培地の方が却つてそれぞれ1万倍、10万倍稀釈に含んでいる培地より集落数が少ないという不規則さが現われた。

グリセリン寒天培地中のマラカイト緑濃度と鳥型菌(竹尾株)およびM.607株の発育成績は表4の通りであつた。

表4 Glycerin 寒天, 竹尾株, M. 607株 (96hrs)

| | 竹尾株 | | | M. 607株 | | | | |
|----------------------------------|-----|------------------|------------------|------------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
| M _G 10 ⁴ × | ± | - | - | - | M _G 10 ⁴ × | ± | - | - |
| 10 ⁵ × | + | 35 | 3± | 2± | 10 ⁵ × | + | + | 45 4 |
| 10 ⁶ × | + | 61 | 16 | 4 | 10 ⁶ × | + | + | 40 9 |
| 0 | +++ | >100 | 16 | 5 | 10 ⁷ × | + | + | 64 8 |
| | | | | | 0 | + | + | 19 5 |

表に見る通り、両株ともマラカイト緑に対して、Dubos寒天上の結核菌とほぼ等しい抵抗を示している。

M.607株においては、新鮮分離菌株に見られたように、マラカイト緑を100万~1,000万倍稀釈に含む培地に最も多く集落を見た。

獣炭末加グリセリン寒天培地中のマラカイト緑濃度と鳥型菌(竹尾株)とM.607株の発育

獣炭末寒天培地¹⁸⁾を試用して、マラカイト緑に対する両株の抵抗性を試験して見た。

すなわち、グリセリン寒天の処方にマラカイト緑および獣炭末(Norite 0.1%)を加えて高圧滅菌した。ところが、マラカイト緑の色調は著しく消褪した。しかし、両株の発育は表5に示す通りであつた。

獣炭末グリセリン寒天培地においては、マラカイト緑1万倍稀釈でも両株の発育をほとんど抑制しない。5,000倍稀釈でも完全に阻止しないこともある。獣炭末を含まない対照は前項の成績と等しく、1万倍マラカイト緑は完全にM.607株の発育を阻止する。

表5 獣炭末寒天, 竹尾株, M.607株 (96 hrs)

| | | MG | 0 | 10 ⁵ × | 10 ⁴ | 5 × 10 ³ |
|----|-----------------------------|----|-----|-------------------|-----------------|---------------------|
| 1) | M.607・10 ⁻² ・CGA | 81 | >70 | >70 | 34 | - |
| | 対照 GA | + | 33 | - | - | - |
| 2) | M.607・10 ⁻³ ・CGA | + | + | + | ± | - |
| | 竹尾・10 ⁻³ ・CGA | + | + | + | - | - |

CGA: 獣炭末加グリセリン寒天 GA: グリセリン寒天

液体培地中のマラカイト緑濃度と結核菌の発育

Kirchner 培地中のマラカイト緑濃度と H₃₇Rv 株の発育

成績は表6の1および2に示す通りである。2の培地に加えたる人血清は採集に当り、一部溶血し、また、添加に当り、少量血球も含んだ。

表6 Kirchner, H₃₇Rv (4W)

| 1. | | | | | |
|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 10 ⁻³ mg | 10 ⁻⁴ mg | 10 ⁻⁵ mg | 10 ⁻⁶ mg | 10 ⁻⁷ mg |
| MG 10 ⁴ × | - | - | - | - | - |
| 10 ⁵ × | ± | ± | ± | ± | ± |
| 10 ⁶ × | + | + | + | ± | ± |
| 10 ⁷ × | + | + | + | + | + |
| 0 | + | + | + | + | + |

| 2. | | | | | |
|----------------------|---|------------------|------------------|------------------|--|
| | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | |
| MG 10 ⁴ × | + | - | - | - | |
| 10 ⁵ × | + | + | + | - | |
| 10 ⁶ × | + | + | + | + | |
| 0 | + | + | + | + | |

1: 表1と同じ菌液 +: 集落は極めて小さい ±: 小集落を生じた試験管と集落を生じない管とあつた

両回とも1万倍稀釈マラカイト緑はほぼ完全に抑制した。ただ、2の場合「原」においてのみ僅かに小集落が生じた。1の場合10万倍稀釈でも抑制は著しく、生じた集落は他に比して著しく小さかつた。100万倍でも多少抑制的に現われた。

表7 Glycerin Bouillon 竹尾株, M.607株 (96hrs)

| MG | 竹尾株 | | | | M.607株 | | | |
|-------------------|-----|------------------|------------------|------------------|--------|------------------|------------------|------------------|
| | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 原 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
| 10 ⁴ × | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10 ⁵ × | - | - | - | - | 1/3 | - | - | 1/10 ± |
| 10 ⁶ × | 全 | 2 | 2 ± | 2 ± | 1/2 | 全 | 1/3 | 1/3 |
| 10 ⁷ × | 全 | 全 | 全 | 全 | 全 | 全 | 1/3 | 1/3 |
| 0 | 全 | >10 | 2 ± | 5 ± | 全 | 2/3 | 1/10 | 1/10 |

整数: 管底の集落数 分数: 菌膜と液面の割合 全: 菌膜が液面全体に拡つた

グリセリン—アピオン中のマラカイト緑濃度と竹尾株およびM.607株の発育

表7に見るように、両株とも、10万倍稀釈マラカイト緑によつてほぼ完全に抑制される。また、M.607株はマラカイト緑1,000万~100万倍稀釈に含む方が僅かに発育が可良であるようである。

小 括

以上各種培地におけるマラカイト緑の抗酸性菌の発育抑制作用を一括すれば表8の通りになる。

表8 各種培地中のMG濃度と抗酸菌の発育

| 培地 | 菌株 | Malachite green 稀釈倍数 | | | | | | |
|----|-------------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| | | ∞ | 10 ⁷ | 10 ⁶ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ⁴ /2 | 10 ³ |
| 液 | Dubos | H ₃₇ Rv | + | + | + | - | | |
| | Kirchner | H ₃₇ Rv | + | + | + | ± | - | |
| 体 | Glycerin | 竹尾 | + | + | ± | - | | |
| | Bouillon | M.607 | + | + | + | ± | - | |
| 寒 | Dubos | H ₃₇ Rv | + | + | + | - | | |
| | | 福田 | + | + | + | - | | |
| 天 | Glycerin agar | 竹尾 | + | + | + | + | - | |
| | | M.607 | + | + | + | - | | |
| 鶏卵 | Charcoal gl. agar | 竹尾 | + | | + | + | - | |
| | | M.607 | + | | + | + | ± | |
| 鶏卵 | | H ₃₇ Rv | + | | + | + | ± | |
| | | 福田 | + | | + | + | ± | |

+ : 集落発育を認めた ± : 集落発育を認めた管と認めない管とあつた - : 集落発育を認めなかつた

II 結核菌の化学療法剤耐性検査用培地中のマラカイト緑濃度と結核菌の発育

一般に行われている結核菌の化学療法剤耐性検査用培地中の化学療法剤とマラカイト緑との結核菌発育抑制作用に相乗性または拮抗の有無を検する目的で、Streptomycin (以下SMと略)、PAS、INHの濃度とマラカイト緑の濃度を種々組合せた3%小川培地に各剤耐性菌株を培養して見た。結果は表9、表10、表11に示す通りで、3%小川培地では、各剤とマラカイト緑との間に相乗性も拮抗性も認められなかつた。

すなわち、表9の1は喀痰直接法によりSM 20γ/mlに完全耐性と判定された菌株の10γ/ml培地の集落から菌液を調製して、表記のようにSMおよびマラカイト緑を含む培地に移植した成績である。

表示の通り、10γ/mlまではいずれの培地にも同程度またはほぼ同数の集落発生を認めた。25γ/ml~50γ/mlでは集落数は著しく減少するがマラカイト緑の濃度によ

表9の1 SM 20 γ /cc耐性菌(10 γ /ml培地より)(4W)

| 菌量 | 10 ⁻¹ ×0.1 | | | 10 ⁻² ×0.1 | | | 10 ⁻³ ×0.1 | | |
|------------------|-----------------------|----|----|-----------------------|---|---|-----------------------|----|----|
| M G | ∞×1万×4,000× | | | ∞×1万×4,000× | | | ∞×1万×4,000× | | |
| SM0 γ /ml | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 34 | 24 | 22 |
| 1 γ /ml | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 28 | 24 | 26 |
| 10 γ /ml | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 卍 | 25 | 24 | 22 |
| 25 γ /ml | 卍 | 卍 | 卍 | + | + | ± | 12 | 9 | 14 |
| 50 γ /ml | 1± | 1± | 2± | + | ± | ± | 3± | - | - |
| 100 γ /ml | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

る差は認められない。

表9の2は直接法で100 γ /ml完全耐性と判定された菌株の10 γ /ml培地の集落から菌液を調製して移植した成績である。

50 γ /mlまではいずれの培地にも大略同数集落が発生した。マラカイト緑の濃度による差は全く認め難い。25 γ /ml~100 γ /mlではいずれの培地においても集落発生が見えるまでの日数が他の培地に比して長かつたが、マラカイト緑濃度による差は認められなかつた。

表9の2 SM 100 γ /cc耐性菌(10 γ /ml培地より)(4W)

| 菌量 | 10 ⁻² ×0.1 | | | 10 ⁻³ ×0.1 | | |
|-------------------|-----------------------|-----|----|-----------------------|----|----|
| M G | ∞×1万×5,000× | | | ∞×1万×5,000× | | |
| SM 0 γ /ml | 53 | 75 | 55 | 7 | 8 | 8 |
| 10 γ /ml | 45 | 52 | 49 | 11 | 7 | 6 |
| 25 γ /ml | 42 | 38 | 38 | 9 | 4 | 6 |
| 50 γ /ml | 45 | 51 | 51 | 6 | 6 | 6 |
| 100 γ /ml | 22 | 24± | 30 | 3± | 2± | 1± |

表10 P A S耐性菌の発育(5W)

| | 堀江株 10 ⁻¹ | | | 宮本株 10 ⁻¹ | | |
|----------------------|----------------------|---|---|----------------------|-----|----|
| M G | ∞×1万×5,000× | | | ∞×1万×5,000× | | |
| P A S 0 γ /ml | 卍 | 卍 | 卍 | 60 | 35 | 25 |
| 5 γ /ml | + | + | + | 35 | 34 | 14 |
| 10 γ /ml | + | + | - | 33 | 38 | 7 |
| 20 γ /ml | - | - | - | 9小 | 17小 | 7小 |
| 100 γ /ml | - | - | - | - | 1± | - |

表11 I N H 100 γ /cc耐性菌(0 γ /ml培地より)(4W)

| | 小峰株 10 ⁻¹ | | | 池田株 10 ⁻² | | |
|----------------------|----------------------|-----|----|----------------------|-----|----|
| M G | ∞×1万×5,000× | | | ∞×1万×5,000× | | |
| I N H 0 γ /ml | >120 | 106 | 61 | 105 | 111 | 75 |
| 1 γ /ml | - | - | - | 22 | 17 | 11 |
| 10 γ /ml | - | - | - | 18 | 15 | 12 |
| 50 γ /ml | - | - | - | 25 | 17 | 15 |
| 100 γ /ml | - | - | - | 5± | 0 | 1± |

表10はP A S 100 γ /ml耐性と判定された菌株のP A S を含まない培地の集落から菌液を調製して移植した成績である。

両株においては5,000倍稀釈マラカイト緑の発育抑制作用が比較的明瞭に現われた。

表11はI N H 100 γ /ml耐性と判定された菌株のI N H を含まない培地の集落から菌液を調製して移植した成績である。

両株においても5,000倍ないし1万倍稀釈マラカイト緑を含む培地において集落数がやや少ない。

なお、以上の実験においていずれの培地においても2~4週間の間に集落は漸次増加してくるのが認められ、集落を認めた範囲で化学療法剤の濃度が最高の培地においては集落発生は著しく遅延し、集落も小さい。この場合マラカイト緑の濃度による差はほとんど認められない。

総括ならびに考案

著者は結核菌集落より均等菌液を調製することに努め、該菌液を各種濃度のマラカイト緑を含む数種培地に移植して、結核菌のマラカイト緑に対する抵抗性を観察し、併せて化学療法剤耐性検査用培地中の同色素の影響をも観察した成績を述べ次の考察に及んだ。

保存菌株と新鮮分離菌株

3%小川培地に継代培養して保存したH₃₇Rv株の実験においては、岡・片倉培地、Dubos寒天ともほぼマラカイト緑濃度に応じて抑制作用を増すのが認められた。すなわち、岡・片倉培地において1,000倍稀釈では著しく抑制せられ、集落数は著しく減じ集落は小さく、集落発生も遅延した。ただし、完全に抑制されることはなかつた。1万倍稀釈では100万倍稀釈—0の約1/2となつた。

Dubos寒天においては1万倍稀釈では完全に阻止され、10万倍では100万倍稀釈—0の約1/2となつた。

新鮮分離菌株でもほぼ同様である。

近時 Youmans et al.¹⁹⁾はGeneration Timeの測定を提唱し、Gutiérrez-Vazquez et al.²⁰⁾はLöwenstein培地中のマラカイト緑濃度との関係を観察し、1,000倍稀釈でも完全に発育阻止することはないが、6,000倍~1,000倍稀釈で発育を遅延せしめると述べている。この関係は著者の実験でもほぼ同様と思われる。

ただし、新鮮分離菌株では色素を含まない培地よりも100万~10万倍稀釈の培地に集落数がやや多い傾向さえ認められた。また、M.607株においても同様のことが認められた。

寒天培地について

H₃₇Rv株および新鮮分離菌株ともDubos寒天において、マラカイト緑1万倍稀釈で完全に発育阻止せられた。M.607株および竹尾株もまたグリセリン寒天において1

万倍稀釈で完全に発育阻止せられた。

Corper et al.¹⁾もまたマラカイト緑は Dorset 培地中 1 万倍稀釈では何ら結核菌発育を障害しないがグリセリン寒天中では完全に阻止することを指摘している。

しかして、H₃₇Rv株と竹尾株の成績および新鮮分離菌株と M. 607 株の成績はそれぞれ酷似している。

獣炭末寒天について

0.1% 獣炭末寒天培地ではマラカイト緑は著しく褪色した。すなわち、マラカイト緑は獣炭末によつて何らかの方法で不活化されるものようである。しかして、本培地上の M. 607 株および竹尾株は、鶏卵培地上の結核菌とほぼ同様の発育を示した。すなわち、5,000 倍稀釈では 1 万倍ないし 10 万倍稀釈の約 $\frac{1}{2}$ となり、1 万~10 万倍稀釈ではほとんど障害されなかつた。

液体培地について

Kirchner 培地における H₃₇Rv 株のマラカイト緑に対する抵抗とグリセリンピジョンにおける竹尾株および M. 607 株のそれとはほぼ同程度であつた。すなわち、1 万倍稀釈はいうに及ばず、10 万倍稀釈でも著しくまたは完全に抑制せられた。荻原・南谷は氏らの考案した血清培地において 125,000 倍稀釈で結核菌分離に好成績を挙げたが、室橋 et al.²¹⁾は喀痰のアルカリ処理およびマラカイト緑加 Kirchner 培地により結核菌を選擧培養せんと試み、該色素 5 万倍稀釈では 3~7 日の接触で著しく、また 10 万倍稀釈でも抑制することを指摘し、20 万倍稀釈が適当であると考えたと述べている。

著者の実験においてもほぼ同様であるが、本培地に加える血清により成績に著しい変化を見たので、本培地における該色素の影響観察には注意を要すると考えた。

耐性検査用培地について

3% 小川培地において、マラカイト緑と SM, PAS および INH の結核菌発育抑制には相乗性も拮抗性も認めなかつたが、全般的にみて 5,000 倍稀釈マラカイト緑がかなり抑制的であることは他の実験成績と同様である。

結 論

数種培地を用いて、均等菌液の微量菌を定量的に培養し、各培地中のマラカイト緑濃度と結核菌の発育を観察して、次の結論に至つた。

1. 鶏卵培地中 1,000 倍稀釈マラカイト緑は結核菌の発育を著しく抑制し、発育集落は色素を含まない培地の約 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ になる。

1 万倍稀釈では約 $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{2}$ となり、10 万倍、100 万倍稀釈でも集落数はわずかに減少する。

2. 寒天培地中 1 万倍稀釈で完全に抑制し、10 万倍、100 万倍稀釈でも発育集落数は減ずる。

3. Kirchner 培地中 1 万倍稀釈では完全に抑制し、

10 万倍稀釈では著しく抑制的である。

100 万倍稀釈でも発育しない菌がある。

4. 人型菌と鳥型菌および M. 607 株のマラカイト緑に対する抵抗はほぼ等しい。

5. 新鮮分離菌株は色素を含まない培地よりも、10 万倍~100 万倍稀釈で良く発育することがある。

6. マラカイト緑は SM, PAS, INH との間に、それぞれの抑制作用の相乗性も拮抗性もないようである。

7. 獣炭末 (Norite) は寒天培地中のマラカイト緑を吸着して、その作用を不活化するものようである。しかして、0.1% 獣炭末加グリセリン寒天において、5,000 倍稀釈マラカイト緑は M. 607 株の発育を軽度に抑制し、1 万倍稀釈では、竹尾株、M. 607 株の発育をほとんど抑制しなかつた。

稿を終るに臨み、御指導ならびに御校閲を賜つた牛場大蔵教授に深謝致します。

文 献

- 1) Petraghani, G.: Zbl. Bakt. I. Ref. 85, 1927.
- 2) Hohn, J.: Zbl. Bakt. I. Orig. 98, 46, 1926. 103, 742, 1927. 113, 366, 1929. 127, 59, 1932.
- 3) Löwenstein, E.: Zbl. Bakt. I. Orig. 120, 127, 1931.
- 4) 岡・片倉: 日結, 1, 7, 1940.
- 5) Corper, H.J. & Uyei, N.: Am. Rev. Tbc. 16, 299, 1927.
- 6) Malkani, M.: Brauers Beitr. 73, 395, 1930.
- 7) Li, D.: Brauers Beitr. 75, 367, 1930.
- 8) 住吉彌太郎: 結核, 9, 1, 1931. 10, 2, 1932.
- 9) Frongia, E.: Citet from Shaffer, M.F.: Am. Rev. Tbc. 27, 259, 1933.
- 10) Libin, S.: Zbl. Tbk-forsch. 38, 57, 1933.
- 11) 尾高憲作: 日微誌, 28, 9, 1934.
- 12) 最上修二: 結核, 15, 149, 1937.
- 13) 揚 志雄: 東京医学誌, 18, 5, 1935.
- 14) 桑原忠雄他: 日微誌, 36, 12, 1942.
- 15) 荻原宏治・南谷一夫: 細菌学誌, 554, 210, 1942.
- 16) 植田三郎: 結核菌検査の実際, 南江堂, 1953.
- 17) 小川辰次: 結核菌検査の基礎と応用, 保健同人社, 1952.
- 18) Hirsch, J.G.: Am. Rev. Tbc. 70, 955, 1954.
- 19) Youmans, G.P. & Youmans, A.S.: J. Bact. 57, 247, 1949.
- 20) Gutiérrez-Vazquez, J.M.: Am. Rev. Tbc. 74, 50, 1956.