

跡出来るし、細血管の周囲と血管内細胞をも注意する事により細胞滲出の始まりと終りとを明らかに知り得る優秀な方法である。又実験2の方法と共に組織固定切片標本と異り血液塗抹標本同様にペルオキシダーゼ反応や超生体染色法も行へるので細胞の観察が正確である。

実験2のデツキ・ガラス挿入法は菌に到着・附着する細胞の時間的關係及び菌の局所に於ける運命を観察するのに局所的・空間的には前法よりも更に適確である。又接種菌量及び生菌量を一應検定出来る上に、組織内に於ける生菌の消長を簡単に観察し得る優秀な方法であると信ずる。尙細胞学的な詳細な検討と喰菌の状態は目下観察中である。

以上の予備的な実験によつて、接種局所の早期反應は病原性の如何に拘らず質的には同一種類の反應であり、差異として認められるものは反應の強さ及時期的の差という量的な差異に過ぎないことがこの兩種の実験方法によつて明瞭に観察し得ることが判つた。

この結果、この兩種の実験方法は菌と個体との相關關係即ち個体の側からは抵抗性、菌の側からは病原性と呼ばれる現象を割に簡単に短期間に観察するに便利な方法であることが知られた。よつて今後は更に多種の動物及菌株を用いて、自然抵抗力及後天的免疫の研究を發展せしめると共に、生体に於ける化学療法剤の作用機轉、菌の薬剤に対する抵抗性の判定等各種の研究に應用せしむ可く準備中である。

## SCMの改良に関する研究(続報)

山 本 壽  
熊 代 朗 子 (京大結研第5室)  
陶 棣 土  
今 井 晋 次 郎 (大津日赤)

我々はSCMの改良に関して、既に再三発表して來たが今回は更に飛躍的な改良を加える事が出来たので茲に報告する。

### 第一 石油ベンゼンにて處理した菌液を以てする新培養法

従來、結核化学療法剤の検定等の目的にはキルヒナーの液体培地を利用して肉眼的に菌の發育の有無を検する方法が多く用いられているが、之は培養日数が長いと云う点、及び其の爲めに培養期間中に被檢藥物が破壊變性する事実を除外する事が出来ない大きな缺点がある。茲に培養期間の短いSCC或はSCM等が利用せられる理由がある。然し乍ら、SCCは周知の如く結果の判定に致命的な缺陷がある。又SCMは保有菌株の菌浮游液を以て行う実験には菌の脱落するものが多い。而して此の際使用する菌液は眞に均等なものを得難い爲に矢張結果の判定に支障がある。

我々はH, Blockの石油エーテルによる所謂Cord-factorの除去に関する実験からヒントを得て石油ベンゼンを以て、誠に簡単な操作で結核菌の殆ど単個菌よりなる均等浮游液を作成し、此の一滴をスライドに塗抹固定することにより化学療法剤の検定の目的には甚だ理想的なSCMの一新法を案出し得た。

即ち、先づ第1表に示すのは石油エーテル、石油ベンゼン類似の有機溶媒について比較検討した成績である。之に依つて明かなる如く石油ベンゼンが我々の目的に最適なる事が分る。

従つて我々は石油ベンゼンを用いて各種菌株に就いて実施したが凡て培養可能なる事を知つた。

第1表 各種溶媒による菌液の一滴を岡・片倉培地及びSCMにて培養した成績

| 処理時間            | 石油ベンゼン | 石油エーテル | ベンゼン | トルオール | キシロール | エーテル | クロロホルム |
|-----------------|--------|--------|------|-------|-------|------|--------|
| 10'             | 卅(卅)   | 卅(卅)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |
| 30'             | 卅(卅)   | 卅(卅)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |
| 1 <sup>0</sup>  | 卅(卅)   | 卅(卅)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |
| 2 <sup>0</sup>  | 卅(卅)   | 卅(卅)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |
| 3 <sup>0</sup>  | 卅(卅)   | 卅(卅)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |
| 5 <sup>0</sup>  | 卅(卅)   | 卅(卅)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |
| 24 <sup>0</sup> | 卅(卅)   | 卅(+)   | -(-) | -(-)  | -(-)  | -(-) | -(-)   |

培養操作は次の如くである。

- 1) 液体又は固型培地に生えた結核菌の約一白金耳量を共栓試験管に採り、2~3ccの石油ベンゼンを加える（F株の場合）。
- 2) 五分間振盪，十分間静置の後。
- 3) 上層より一白金耳を採つてスライドに接触せしめる（接触するや忽ち円形に拡つて見る間に乾燥し菌は見事な単個菌となつて固定される）。
- 4) 之をキルヒナーの培地を入れた試験管内に浸して培養する。
- 5) 3~4日目，実験目的によつては其以上培養の後スライドを取出し，乾燥，染色，鏡検して対照と比較する。即ち培養せざる最初の塗沫標本とキルヒナー培地に薬物を注入して培養した標本と比較して，其の發育の有無を判定しキルヒナー培地に薬物を注入せざる培養標本の成績を以て実験手技による誤差の判定とする。

本法を用いて各種抗菌物質の検定を行つた成績は第2表の如くである。尙，各臓器の圧出液に就いて目下検討中である。

第2表 石油ベンゼン法による各種抗菌物質の検定成績

| 抗菌物質                | 菌種             | 稀 釈 倍 数 |      |      |       |       | 対 照 |
|---------------------|----------------|---------|------|------|-------|-------|-----|
|                     |                | 16万倍    | 32万倍 | 64万倍 | 128万倍 | 256万倍 |     |
| ストマイ                | H <sub>2</sub> | -       | -    | -    | -     | 卅     | 卅   |
|                     | F              | -       | -    | -    | -     | 卅     | 卅   |
|                     | 青山B            | -       | -    | -    | -     | 卅     | 卅   |
|                     | 喀痰GⅥ           | -       | -    | -    | -     | 卅     | 卅   |
| パ ス                 | H <sub>2</sub> | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
|                     | F              | -       | -    | -    | +     | -     | 卅   |
|                     | 青山B            | -       | -    | -    | +     | -     | 卅   |
|                     | 喀痰GⅥ           | -       | -    | -    | +     | -     | 卅   |
| オルト<br>アミノ<br>フェノール | H <sub>2</sub> | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
|                     | F              | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
|                     | 青山B            | -       | -    | -    | -     | -     | 卅   |
|                     | 喀痰GⅥ           | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
| ウスニン酸<br>ソーダ        | H <sub>2</sub> | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
|                     | F              | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
|                     | 青山B            | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |
|                     | 喀痰GⅥ           | -       | -    | -    | 卅     | -     | 卅   |

培養7日目に弱拡大で判定（熊代）

- は集落の認められないもの。
- + 集落が点又はコマ状として認められたもの。
- 卅 明らかに唐草模様の集落の認められたるもの。

## 第二 苛性加里を用うるSCM改良法

喀痰中の結核菌に就いてはSCMは従来、喀痰を其のまま塗沫乾燥した後処理していた爲め、ガフキー-0以下の場合には成績が良くなかつた。其の後我々はNaOHによる集菌沈渣を更に滅菌水で洗滌、今一度遠心し其の沈渣を塗沫乾燥後培養する事により、可成の成績を揚げたのであるが、遠心操作を二回行う事の煩雜と雑菌迷入の機會の増加を見た。

然る所、我々は或る機會にKOHの集菌沈渣はNaOHの其に比してスライドに塗沫した場合、染色操作や長時間水中に浸す場合にも塗沫が流出し難いと云ふ事實を知つた。実に、KOHはNaOHより作用の強力なる事、及び同濃度に於ても既に僅か乍な比重も軽いと云う諸点を考慮して、KOHの種々の濃度に就いて集菌効果及び雑菌処理能力に就いて再検討を行つた。即ち集菌効果は沈渣の量を目標とし、雑菌処理能力は48時間ブイオン培養を目標として一應の判定とした。

其の結果はKOHは0.5%、30分間、或は1%、20分間の処理で充分雑菌を抑制し、集菌効果もNaOHに勝ることを知つた。

更にKOHの此の濃度が結核菌に及ぼす影響を菌浮游液によつて、4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>及び滅菌水を対照として岡・片倉の培地に培養比較した。処理時間は30', 1°, 2°, 3°, 4°, 5°, の夫々に就いて実施した結果、其の差は僅かであるが、滅菌水、KOH, H<sup>2</sup>SO<sup>4</sup>の順であつた。

茲に於て0.5%~1.0%のKOHは集菌法及び培養剤処理法として用い得られる事を知つた。而して其の集菌沈渣の塗沫が流出し難い事はSCMに應用して最も有利なる点である。

従つてSCMはKOH集菌法を用いて、簡単な操作でガフキー及び集菌法にて陽性なるものは勿論、岡・片倉法に勝るとも劣らざるものとなつた。

其の術式は次の如くである。

- 1) 喀痰を適量採り十倍量の0.5%~1.0%のKOHを加え、完全に溶解するまで振盪、三十分間放置。
- 2) 三千回轉十五分間遠心、沈渣をスライドに塗沫、室温又は孵卵器中にて乾燥する。
- 3) 之を其のまま、キルヒナーの培地を入れた試験管内に浸して培養する。
- 4) 7日目に採り出し判定する。

本法による成績は第3表の如くである。

第3表 KOH処理SCMによる喀痰中結核菌の検出成績

| 培養法 | S C M |    |     | 岡・片倉培地 |     |
|-----|-------|----|-----|--------|-----|
|     | 4日    | 7日 | 10日 | 30日    | 60日 |
| 陽性例 | 3     | 13 | 15  | 10     | 11  |

## 第三 少量の培地を以てするSCMの一新法

従来、我々はSCMを実施するに當り、普通大のスライドを縦に半切して試験管内に入れ、試験管は一般に行はれている如く縦に立て、培養していたのであるが、此の方法は培地が約5cc前後を必要とした。実験目的によつては更に少量の培地を必要とする場合がある。

我々は此の目的に向つて次の如き方法を案出した。即ち

- 1) 普通大のスライドを巾1/3に、長さ2/3に切つたものをシャーレの中に數枚乾熱滅菌して置く。
- 2) 此のスライドに沈渣を塗沫、乾燥。
- 3) 予め0.5ccのキルヒナーの培地を入れて置いた試験管内にスライドをピンセットで入れる。
- 4) パラフィンで封入する代りに、予め煮沸滅菌して置いたゴム栓で封入する。
- 5) 試験管を横に倒しスライドの塗沫面を下にして培地に浸さしめ、横にした試験管台に收めて培養する。

注 I) 試験管の大きさは実際には試験管台より少し頭の出る程度の短いものが便利である。

注 I) スライドを更に小さくすれば培地は更に少量で足りる。斯くて0.1~0.2ccでも培養可能となる。

注 II) 培地が少量なる爲、孵卵器中で試験管内の蒸気飽和に要する水分がそれだけ培地を濃縮する。此を防ぐ爲めゴム栓は漏れたまゝで封入する。

注 IV) 培地はスライドと管壁に附着し、表面張力によつて流動し難いからゴム栓の水と混合しない。

本法は斯くの如く甚だ少量の培地で培養可能であるから、其の應用の範圍は甚だ大きいものと期待している。

文 献 省 略

## 微量スライド・カルチュアー法

並 河 靖

### 緒 言

結核菌のスライド・カルチュアー法に関しては Berry and Lowry の本法発表以來、辻・米津・熊代・山本・並びに著者等の追試及びその改良により、之を従來の培養方法に比較して、培養日数が僅かに5日乃至は7日と言ふ極めて短期間であり、しかも培養手技及び検査手技が比較的簡單で、加ふるにその成績が常に一定して居ることが認められ、その實際的な應用は各種病的材料からの結核菌の早期培養、ストレプトマイシンその他の化学療法剤耐性菌の検査等、未知の結核菌の培養檢出に関する諸検査に利用せられると共にスライド・カルチュアー法に依り未知の培地成分が一定結核菌の發育増殖に及ばず影響の檢索に迄利用せられんとするに到つた。然し乍ら、例へば或る抗結核剤を人体又は動物体に攝取せしめた際に、その体液中に完全な結核菌の發育阻止力を附與せるや否やの判定、或は生理的又は病的の人体又は動物体組成の結核菌の發育に対する態度等の検査に際しては、可及的少量の材料でスライド・カルチュアーを行ふことが必要である。之の目的に対し下記の如き方法を案出したので茲に報告する。

### 實 験 器 材

一般細菌学的検査器材の他本法の爲に特に製作したものは次の通りである。

小試験管：内径5mm、長さ45mm、管底は普通の試験管の如く半球形でなく平面として余分の培地材料を節約する。

小スライド・ガラス：幅4mm乃至4.5mm、長さ25mm、即ち普通のスライド・ガラスの幅がこの小スライド・ガラスでは長さに相等するのであるからスライド・ガラスを一端から細切することに依つて簡単に製作し得る。然る後その一端に一連番号を刻む。

この小試験管に小スライド・ガラスを投入して培養するわけで、即ち培養形式としては Berry and Lowry 法の如く試験管を横に寝かせて培養するものでなく、辻・米津の変法である試験管立てに立てたままで培養する形式を採用し、それを普通に且つ簡易に取扱ひ得る最小限に縮小した。その理由としては横置する培養法では取扱ひが非常に不便である上に、更に常にスライド面の全面を培養液が浸して居るかどうかを注意して居なければならないと言ふこと及び微量の培地を使用するのであるから培地液量の多寡は直ちに培養成績に影響するが辻・米津の立置する培養法の縮小に於てはスライド・ガラス面と之に接する試験管壁は常に畧直角をなし、その爲にスライド・ガラス面の端末迄充分な培地液量を常に作明させ得ることに基ついた。

### 培 養 手 技

1. 予め上述の小スライド・ガラス及び綿栓を施した小試験管を容器に容れ、他の器材と共に乾熱滅菌する。又検査す可き各種の培養液と共に、対照として原液に全量の10%の割合に脱纖維素血液を加へて調製したキルヒナー氏液の