

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ぬ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垂直角をなし、その爲にスライド・ガラス面の端末迄十分な培地液量を常に作明させ得ることに基づいた。

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

少量を準備する。

2. 綿栓滅菌した小試験管を試験管立てに並べ、之に被検培養液及び対照のキルヒナー氏液を夫々0.2cc又は0.3ccの何れか一定量宛を無菌的に分注する。

3. 発育旺盛な時期の一定菌株の結核菌の5mg乃至10mgを採り、之を予め滅菌試験管に2cc乃至3ccを分注した石油ベンゼン中に投じて良く振盪し、石油ベンゼンが僅かに潤濁したならば之を試験管立てに静置する。約30分の後その上層を静かに採り、之を別の試験管で更に石油ベンゼンに依つてその1白金耳を普通のスライド・ガラス上に置いた時に生ずる塗布面で平均顯微鏡1視野中結核菌數個を算へる程度に稀釈する。

4. 滅菌小スライド・ガラスを夫々その番号を刻んだ面が上になる様にペトリー皿中に無菌的に並べ、夫々に上述の結核菌の石油ベンゼン浮游液を1白金耳宛塗抹する。之は速かに乾燥するから順次上述の培地を分注した小試験管中に投入して内容の蒸発を防ぐ爲に綿栓は之を封蠟した後孵卵器に收めて培養する。

5. 病的材料中の結核菌、例へば患者喀痰又は濃汁中の結核菌を直接本法で培養して検査した方が好都合な場合はその結核菌を含んだ病的材料を滅菌小スライド・ガラスに極めて薄く塗抹した後、之を孵卵器内で短時間乾燥させ、次いでその小スライド・ガラスを並べたペトリー皿中に5%硫酸水を注ぎ更に孵卵器内に收めて20分間硫酸を作用せしめて材料中に含まれた雑菌を処理した後、採り出した小スライド・ガラスを滅菌蒸溜中で2回水洗して附着した硫酸を良く洗ひ去り、その水滴を滅菌濾紙で吸収して直ちに上述の培地を分注した小試験管中に投入、以下同様にして培養する。

6. 培養5日乃至は7日で顯微鏡弱拡大で充分判別し得る大きさの結核菌特有の聚落を生ずるに到るから目的に應じて夫々適当な日數に小スライド・ガラスを採り出し、之を10%フォルマリン水中で洗滌して培養液成分の附着を洗ひ落すと同時に固定、殺菌を併せ行ひ、自然乾燥を待つてチール氏液加温染色、脱色、水洗、乾燥後檢鏡する。

判 定

実験の目的が、病的材料からの結核菌の早期培養又は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關する際は多數の赤染桿菌が索狀に集り、且つそれが一種の彎曲を持つた結核菌特有の聚落で之が多數の際はあたかも唐草模様を見る如き感を懐かせることに依り、明らかに発育増殖した結核菌として之を判定することが出来る。

然し乍ら特にこの微量スライド・カルチュアへの用ひられる場合は未知の培地成分が一定結核菌の発育増殖に対して果して発育を促進する様に働くか、或は又発育を停止せしめ、更には殺菌的に働くかと言ふ点を究明することを目的とする場合が多く、加ふるにその培地中の有効成分は日時の経過と共に變化することも考へられる場合がある。

斯くの如き結核菌の発育増殖の遲速、又は培養初期の短時日のみ培地中の有効成分が作用し、その後はその作用物質の破壊消失に依つて作用が中断された際等の菌発育に現れる僅微な相違を発見する爲には、結核菌の増殖に依る菌聚落の発育が最盛期に入つた所で、即ち上述の原因に基く聚落発育の差の最も顯著な時期に検査する様にしなければ目的のものを見逃す恐れがある。

現在迄多數の材料に就いてこの点を吟味した結果、顯微鏡を以て最も容易に、且つ明瞭に上述の相違を判定し得る時期は対照試験管の小スライド・ガラス面上の結核菌聚落が顯微鏡弱拡大で極めて小さなコマ狀の赤染物として多數に認められる時期であり、その際他の小スライド・ガラスの全部を培地中より採り出し、固定、染色、檢鏡、判定することに依り最も明確な判定を下し得ることを知つた。

實 験 成 績

本法と通常使用されて居る辻・米津のスライド・カルチュア法とを同一材料を以て比較したがその間に差を認めなかつた。

總 括

本法に依つて僅か0.2cc乃至0.3ccの微量の培地材料を以て通常使用されて居るスライド・カルチュア法と同様に結核菌を培養することが出来た。

培地中に含まれる諸種の物質の結核菌の発育増殖に及ぼす影響を明確に把握する爲にはスライド・ガラス面上の結核菌聚落の発育が最も旺盛な時期に染色、檢鏡、判定することが大切で、それは対照試験

管の結核菌聚落が顯微鏡弱拡大で認められるに到つた時期である。

文 献

- 1) J. W. Berry and Hoqe Lowry; Am. R. of tub. 1949 July.
- 2) 辻. 米津. 山本; 日本臨床結核 10月 1950
- 3) 辻. 米津. 熊代; 結核研究所年報 第2号 昭25
- 4) 山本. 熊代. 陶; 当誌

咯痰の生化学的研究

第 I 報 咯痰中P量と結核病勢との關係に就て

杉 本 幾 久 雄

I 緒 言

咯痰の細菌学的及び細胞学的な研究は古來多岐に亘つて行はれているが、咯痰の化学的乃至は生化学的検査は割合少い様である。

さきに熊野は肺結核屍の肺組織に就て病巣部と非病巣部に区分しその組織中に含有されるP及びNの量を測定し病巣部が非病巣部に比較しP及びNの含有量が大きであつた事を報告している。

著者は、肺結核患者の咯痰中に含有される種々の化学的成分の量を測定する事に依り次の事項に就て解明を行はんと試みたのである。即ち

1) 咯痰中化学的成分の量と病巣の状態、殊に乾酪物質の軟化融解機轉との間に何等かの相関々係が存在するや否や。

2) 若しもかかる相関々係が存在するものであれば咯痰中化学的成分の量と咯痰量、性状、及び結核菌量、更に臨床諸症状、レベトゲン所見の変化との間にも何等かの相関々係が存在するのではないか。

以上の目的を以て今回は先ず咯痰中P量の測定を試みたのである。

II 實 験 方 法

1) 咯痰の採取及び前處置

本院に入院中の肺結核患者20例に就て24時間に咯出される咯痰全量を目盛のついた容器に採取せしめ、唾液に由來するムチンの影響を可及的少くする爲に駒込ピペットで丹念に水様部泡沫部を除去し、所謂膿様の咯痰丈を残す様にし、その量を測定し性状を記録し同時に塗抹標本作製した。以下比色に至る迄の操作は第1表の如くである。

第1表 実験操作

