

自然界 Mycobacterium に関する研究

第1篇 自然界 Mycobacterium の一般性状に就て

京都大学 { 医学部微生物学教室 (主任 木村教授)
 { 結核研究所細菌血清学部 (主任 植田教授)
 国立京都療養所 (所長 松島博士)

大 平 実

目 次

第1章 緒 言
第2章 実験材料並に方法
第3章 実験成績
1. 固形培地に於ける聚落の性状
2. 食塩水平等浮游性
3. 各種培地に於ける発育状態
4. 菌体の形態
5. 石炭酸フクシン染色性
6. 抗煮沸性
7. カタラーゼ作用
8. ツベルクリン産生能力
第4章 総括及び考察
結 論
文 献

第1章 緒 言

結核菌、癩菌等は病原性 Mycobacterium として衆知せられているが、此の外に自然界には多数の Mycobacterium が分布している。

人体に於ける結核性疾患の病原菌として認められているのは、Mycobacterium tuberculosis Typus humanus と Mycobacterium tuberculosis Typus bovinus で、後者は前者に比して其の頻度が少い。

人体から分離される Mycobacterium は、必ずしも其の盡くが結核菌でなく、結核患者の喀痰、鼻汁及び唾液等にも結核菌以外の Mycobacterium が存在していて、診断を誤るおそれがあることは既に多数学者の立証しているところである。従来非病原性 Mycobacterium として記載せられたものは可成多数に上つていて、Alvarez u. Tavel⁽¹⁾ は Smegmabazillen を報告し、之を Bacillus smegmatis⁽⁵⁾ と記載して居り、Matterstock⁽²⁾ は更に之を Mycobacterium smegmatis と改めている。Rabinowitsch⁽⁶⁾ はバターから Butterbazillen (Mycobacterium berolinense) を検出し、Möller は糞便、草葉等から Mistbazillen (Mycobacterium stercusis.)、Timotheebazillen (Mycobacterium phlei)⁽⁹⁾ 及び Grasbazillen (Mycobacterium graminis) の3種の抗酸性菌を分離培養し、Kersten は土壤から Mycobacterium alluvialum を分離培養している。次に Söhngen⁽¹⁰⁾ は彼の考案した培養基を用ひて非病原性 Mycobacterium を培養し、種々の培養条件や培地上に於ける菌苔の色調や其他の性状等から

是等を *Mycobacterium rubrum*, *Mycobacterium aibum*, *Mycobacterium hyalinum* 及び *Mycobacterium luteum* の4種に分類した。Frey and Hagen⁽¹⁷⁾ は土壤から分離した抗酸性菌を其の性状に依つて3種に分類している。我國に於ても廣瀬⁽²⁶⁾、大川等⁽²⁷⁾は夫々多数の非病原性 *Mycobacterium* を分離し、更に之に分類を加へて居り、此の外にも非病原性 *Mycobacterium* の検出、分離培養及び分類等の研究が多く発表せられている。

余は本実験に於て、肺結核患者の喀痰、唾液、含嗽液、尿及び其の他の自然界材料から *Mycobacterium* を分離して、夫々の菌株に就て一般的な性状を詳細に検討したいと考える。

第2章 実験材料並に方法

本実験に供試した菌株は多数の中から18株を選択したが、此の中12株は肺結核患者6例の喀痰、2例の唾液、2例の含嗽液、1例の尿及び健康者1例の含嗽液から各1株宛を分離培養したものであるが、元來夫々の材料から結核菌検索の目的を以て培養を行つたところ偶然にも結核菌聚落と共に異型の聚落を形成したものや、又は全く結核菌聚落を欠除して異型聚落のみを発見したものを分離培養を行つたものである。次に他の6株は肺結核患者1例の唾液及び1例の含嗽液から夫々1株、山羊毛から1株、下水から1株及び土壤から2株を分離したものであつて、是等の菌株は夫々の材料から Söhngen 氏非病原性 *Mycobacterium* 培養法に依つて分離培養を行つた。以上の菌株名及び其の由來の概略は次の通りである。

- (1) 野々村株……肺結核患者(野々村某, 男性)の喀痰中の結核菌の培養に当り、硫酸法に依つて岡, 片倉培地に培養した際に、結核菌聚落を斂除して単独に黄色聚落として発育したものである。
- (2) 木原株……肺結核患者(木原某, 男性)の唾液中の結核菌の検索の目的で、硫酸法に依つて岡, 片倉培地に接種した際に、結核菌聚落と共に孤立して発生した橙黄色聚落形成菌株である。
- (3) 原田株……肺結核患者(原田某, 男性)の含嗽液中の結核菌の検索の目的で、硫酸法に依り岡, 片倉培地に培養した際に、結核菌聚落を斂除して単独に橙黄色聚落として発育したものであるが、本菌株は世代を重ねる度毎に発育が稍不良となる傾向を示した。
- (4) 上村株……肺結核患者(上村某, 男性)の喀痰を結核菌検査の目的で、硫酸法に依り岡, 片倉培地に接種した際に、結核菌聚落を斂除して數個の橙黄色聚落として発育したものである。
- (5) 藤井株……肺結核患者(藤井某, 男性)の唾液中の *Mycobacterium* を Söhngen 氏非病原性 *Mycobacterium* 培養法に依つて培養し、之を岡, 片倉培地に分離培養して得た橙黄色聚落である。
- (6) 伊藤株……肺結核患者(伊藤某, 男性)の含嗽液を結核菌検索の目的で、硫酸法で岡, 片倉培地に培養した結果、乳白色聚落とし単独に発育したもので、継代培養を重ねる毎に益々発育旺盛となる傾向を示し、聚落発生当初は稍濕潤性を保つてゐるが、漸次乾燥状態となつて陳旧な聚落は人型結核菌聚落に一見稍近似してゐる。
- (7) 小杉株……肺結核患者(小杉某, 男性)の唾液中の結核菌培養の目的で、硫酸法で岡, 片倉培地に培養した結果、単独に暗黄色聚落として発育したものである。
- (8) 西株……肺結核患者(西某, 男性)の尿を遠心沈澱して、其の沈澱を硫酸法で結核菌検査の目的で岡, 片倉培地に培養した結果、単独に帶黄乳白色聚落として発育したものである。
- (9) 石川株……肺結核患者(石川某, 男性)の喀痰を結核菌検査の目的で、硫酸法で培養した結果、単独に黄色聚落として発育した。
- (10) 七田株……肺結核患者(七田某, 男性)の喀痰を結核菌検索の目的で、硫酸法で培養した結果、単独に黄色聚落として発育したものであるが、継代培養に依り世代を重ねる毎に発育が稍不良となる傾向を示した。
- (11) 楠田株……肺結核患者(楠田某, 男性)の喀痰を結核菌検索の目的で、硫酸法で培養した結果、數個の黄色聚落として発育し、発育旺盛な菌株の一つである。
- (12) 植田株……肺結核患者(植田某, 男性)の喀痰を結核菌検査の目的で、硫酸法で培養した結果、數個の黄色聚落として発育し、本菌株も発育が良好である。
- (13) 吉田株……肺結核患者(吉田某, 男性)の含嗽液中から Söhngen 氏非病原性 *Mycobacterium* 培養法に依つて分離培養した菌株で、之を岡, 片倉培地に純粹に培養したもので帶黄乳白色を呈する菌株である。

(14) 藤沢株……集團検診に際し、健康学生（藤沢某、男性）の含嗽液中の結核菌培養に依り、単独に帶黄乳白色聚落として發育したもの。

(15) 山羊株……山羊毛から Söhngen 氏非病原性 Mycobacterium 培養法に依つて分離し、岡、片倉培地に純粹に培養して黄色聚落として發育する。

(16) 下水株……下水から Söhngen 氏非病原性 Mycobacterium 培養法に依つて分離し、岡、片倉培地に純粹に培養して淡黄色聚落として發育する。

(17) 土_{2B}株……土壤から Söhngen 氏非病原性 Mycobacterium 培養法で分離し、岡、片倉培地に於て淡橙黄色聚落を形成する。

(18) 土₄株……土壤から Söhngen 氏非病原性 Mycobacterium 培養法で分離し、岡、片倉培地に純粹に培養して赤褐色聚落を呈する菌株である。

以上の18菌株に就て夫々の一般的性狀の検討を試みたが、本実験に於て特に取り上げた性狀の要点は先づ固形培地（岡、片倉培地）に於ける聚落の色調、光沢、硬度、濕度、及び粘稠度を調べ、尙 Löwenstein 培地、寒天斜面、寒天穿刺、肉汁培地及びグリセリンブイヨンに於ける發育の状態を検査し、更に是等の聚落が食塩水に平等に浮遊する性質の有無及び程度を確めた。次に各菌株の Mycobacterium の形狀長さ及び幅を測定し、夫々の石炭酸フクシン染色性、抗煮沸性及びカタラーゼ作用を検討し最後に是等の Mycobacterium のツベルクリン産生能力検査を試みた。

第3章 實驗成績

本実験の成績は第1表及び第2表に示す通りであるが、其の詳細は次の如くである。

1. 固形培地（岡、片倉培地）に於ける聚落の性狀

実験に供試した18菌株を岡、片倉培地に接種して、培養2週乃至3週の間、に於ける夫々の聚落の色調、光沢、硬度、濕度及び粘稠度を検査した結果、次の如き成績を得た。

(A) 色 調

第2章に於て述べた如く、黄色聚落を形成するものが6株、淡黄色1株、暗黄色1株、橙黄色4株、淡橙黄色1株、乳白色1株、帶黄乳白色3株及び赤褐色1株を認めた。

(B) 光 沢

供試菌株中で光沢のある聚落を形成するものが最も多く10株を算し、稍光沢ある聚落の3株、極めて僅微に光沢をもつもの2株及び殆んど光沢が無いと思はれるものが3株であつた。

(C) 硬 度

發生した聚落を稍不確實ではあるが、白金耳で圧碎して其の硬度を検討した。硬度の程度も種々で、極めて硬いと思はれる聚落が3株、稍硬いもの1株、極めて軟いもの6株で、硬軟凡そ中等程度と思はれるものが8株であつた。

(D) 濕 度

同一條件で培養した是等の菌株の夫々の聚落の濕度を肉眼的に判定したが、極めて乾燥状態にある聚落が2株、稍乾燥状態に近いもの1株、極めて水分の多い聚落を形成するもの7株及び中等度の濕度をもつと思はれるもの8株であつて大体に於て乾燥聚落を形成する菌株は少数で、大多数は濕潤な聚落を形成する。

(E) 粘稠度

夫々の聚落を白金耳を以て其の粘稠度の概略を検査し、更に其の聚落を鉤菌して乳鉢で研磨して其の粘稠度の判定を行つたが、大多数が粘稠性の聚落を形成する菌株で13株を算し、其の中3株は稍流動性を帯び、1株のみが粘稠性が多少弱く、殆んど粘稠性を欠ぐものが3株で、中等程度のものが2株であつた。

小 括

以上の如く固形培地（岡、片倉）に於ける聚落の性狀は、区々であつて一定しないが、黄色の色調を帯びるもの、光沢を有するもの、軟い聚落のもの、濕度の多いもの及び極めて粘稠性に富むものが大多数であると認められた。

2. 食塩水平等浮遊性

結核菌は他の種類の細菌と異り、是を食塩水や肉汁等に浮遊させると、平等な浮遊液となり難いことは、既に知

抗酸性菌株	分離材料	分離方法	固形培地（岡，片倉）に於ける聚落性狀					食塩水 平等 浮游性	各種		
			色調	光沢	硬度	湿度	粘稠度		Löwenstein	寒天斜面	寒
野々村株	喀痰	硫酸法	黄色	僅微	軟又ハ 中等度	中等度	中等度	上	+	-	
木原株	唾液	硫酸法	橙黄色	有り	中等度	濕	粘稠	上	+	-	
原田株	含嗽液	硫酸法	橙黄色	有り	中等度	中等度	粘稠	中	+	+	(表面)
上村株	喀痰	硫酸法	橙黄色	稍有り	中等度	中等度	粘稠	中	+	-	
藤井株	唾液	Söhn gen法	橙黄色	有り	中等度	濕	粘稠	上	+	+	(表面)
伊藤株	含嗽液	硫酸法	乳白色	有り	中等度	中等度	粘稠	上	+	+	(表面)
小杉株	唾液	硫酸法	暗黄色	有り	軟	濕	粘稠稍 流動性	上	+	+	(表面)
西株	尿	硫酸法	帶黄 乳白色	殆んど 無し	硬	乾	不粘稠	下	+	+	(表面)
石川株	喀痰	硫酸法	黄色	稍有り	軟	中等度	粘稠	上	+	+	(表面)
七田株	喀痰	硫酸法	黄色	殆んど 無し	稍硬	中等度	不粘稠	中	+	+	(表面)
楠田株	喀痰	硫酸法	黄色	有り	中等度	中等度	粘稠	上	+	-	
植田株	喀痰	硫酸法	黄色	有り	軟	濕	粘稠	上	+	+	(深)
吉田株	含嗽液	Söhn gen法	帶黄 乳白色	僅微	中等度	中等度	中等度	上	+	+	(表面)
藤沢株	含嗽液	硫酸マ グネシ ウム法	帶黄 乳白色	稍有り	硬	稍乾	弱粘稠	中	+	+	(深部)
山羊 ₁ 株	山羊毛	Söhn gen法	黄色	有り	軟	濕	粘稠 微に 流動性	上	+	+	(表面)
下水株	下水	Söhn gen法	淡黄色	有り	軟	濕	粘稠稍 流動性	上	+	+	(表面)
土 ₂ B株	土壤	Söhn gen法	淡橙 黄色	有り	軟	濕	粘稠	上	+	+	(表面)
土 ₄ 株	土壤	Söhn gen法	赤褐色	殆んど 無し	硬	乾	不粘稠	中	+	+	(表面)

第 1 表 生物学的性状

各種培地上に於ける發育状態				菌 形 態			石 フク
斜面	寒 天 穿 刺	肉 汁 培 地	グリセリンブイヨン培地	長さ (u)	幅 (u)	形 状	
-	-	+ 微細沈澱あり	+ 發育良好ならず	1.0-2.2	0.4	短小, 球菌状のものもあり	強, 果
-	-	+ 膜様沈澱多量	+ 菌膜黄白色, 同上	2.3-3.9	0.4-0.5	中等大桿菌	中, 果
-	+ (表面, 發育不良)	+ 沈澱少量	+ 發育良好ならず	2.4-3.9	0.5	中等大桿菌	強, 糸
-	-	+ 鱗片状沈澱あるものとなきものあり	+ 菌膜乳白色, 發育良好	1.8-2.5	0.3-0.5	中等稍短桿菌	強, 糸
-	+ (表面, 深部共に)	+ 索状及び小膜状沈澱	+ 菌膜黄色, 培地表面, 管壁共に發育良好	1.7-2.7	0.3-0.5	中等大桿菌	強, 糸
-	+ (表面, 深部共に)	+ 表面及管壁に沿ひて發育	+ 菌膜黄白色, 結核菌に酷似す, 發育旺盛	1.3-3.0	0.2-0.5	稍短桿菌	強, 果
-	+ (表面, 深部共に)	+ 表面及管壁に沿ひて發育	+ 菌膜黄褐色, 發育良好	1.0-2.0	0.3-0.5	短桿菌	強, 果
-	+ (表面, 發育不良)	-	+ 白色菌膜, 發育稍良好	1.0-2.0	0.3-0.4	短桿菌	中, 果
-	+ (表面, 深部共に)	+ 表面及管壁に沿ひて發育	+ 帶黄乳白色, 同上	0.9-1.4	0.2-0.3	短小, 顆粒状のものもあり	中, 果
-	+ (表面, 發育不良)	+ 表面及管壁に沿ひて發育	+ 發育良好ならず	1.4-1.7	0.2	短桿菌	中, 果
-	-	+ 沈澱少量	+ 發育中等度	0.9-1.6	0.2-0.3	短小, 顆粒状のものもあり	中, 果
-	+ (深部に發育)	+ 索状沈澱	+ 發育良好ならず	0.9-1.6	0.2-0.3	短小, 顆粒状のものもあり	中, 果
-	+ (表面, 發育不良)	+ 管壁, 表面共に發育	+ 白色菌膜, 發育稍良好	0.8-1.0	0.2	短小, 顆粒状のものもあり	中, 果
+	+ (深部に發育良好)	+ 表面膜状發育	+ 乳白色菌膜, 同上	1.0-1.7	0.3	短小, 球菌状のものもあり	強, 果
+	+ (表面, 深部共に)	+ 濁濁索状沈澱多量	+ 同上	1.0-1.6	0.3	短小, 球菌状のものもあり	中, 果
-	+ (表面, 深部共に)	+ 濁濁索状沈澱多量	+ 黄色菌膜, 發育旺盛	1.0-2.0	0.3	短小, 球状のもの極めて多し	強, 果
-	+ (表面, 深部共に)	+ 表面及管壁に沿ひて膜状發育	+ 同上	1.5-2.0	0.3-0.4	短小, 球状のものもあり	強, 果
-	+ (表面, 深部共に)	+ 表面及管壁に沿ひて發育	+ 橙褐色菌膜, 同上	1.3-2.5	0.3-0.5	稍短い桿菌	強, 果

形 態		石 炭 酸 フクシン染色性	抗煮沸性	カタラーゼ 作 用
幅 (v)	形 状			
0.4	短小, 球菌状のものもあり	強, 顆粒を認む	1½	8
0.4-0.5	中等大桿菌	中, 顆粒を認む	2½	8
0.5	中等大桿菌	強, 結核菌に酷似す	1	16
0.3-0.5	中等稍短桿菌	強, 粒粒の如きもの微に認む	1½-2	16
0.3-0.5	中等大桿菌	強, 1菌体に數個の粒顆を認むるもの多し	½-1	8
0.2-0.5	稍短桿菌	強, 顆粒を認めず	1-1½	16
0.3-0.5	短桿菌	強, 顆粒を認めず	1	16
0.3-0.4	短桿菌	中, 顆粒を認めず	1	8
0.2-0.3	短小, 顆粒状のものもあり	中, 顆粒を認めず	½	4
0.2	短桿菌	中, 顆粒を認めず	½-1	8
0.2-0.3	短小, 顆粒状のものもあり	中, 顆粒を認めず	½	16
0.2-0.3	短小, 顆粒状のものもあり	中, 顆粒を認めず	½	32
0.2	短小, 顆粒状のものもあり	中, 顆粒を認めず	½-1	32
0.3	短小, 球菌状のものもあり	強, 顆粒を認む	1½	16
0.3	短小, 球菌状のものもあり	中, 顆粒を認めず	½	8
0.3	短小, 球状のもの極めて多し	強, 顆粒を認めず	1	16
0.3-0.4	短小, 球状のものもあり	強, 顆粒を認めず	1	8
0.3-0.5	稍短い桿菌	強, 顆粒を認めず	1	8

第 2 表 ツベルクリン産生能力結核患者試験成績

菌株	稀釈度	時間 反 應 者	ツベルクリン				非病原菌ツベルクリン				旧 ツベルクリン				対照 (0.5%石炭酸食塩水)			
			24 時間		48 時間		24 時間		48 時間		24 時間		48 時間		24 時間		48 時間	
			発赤	硬結	発赤	硬結	発赤	硬結	発赤	硬結	発赤	硬結	発赤	硬結	発赤	硬結	発赤	硬結
伊藤株	2000 倍	百瀬	12×10	—	12×12	—	20×20	13×14	20×16	±	—	—	—	—	—	—	—	
		山本	20×20	13×12	16×12	10×10	33×30	20×22	33×32	15×16	—	—	—	—	—	—	—	
		清水	6×7	5×6	—	—	12×11	5×6	29×24	11×10	—	—	—	—	—	—	—	
		村山	2×2	—	4×4	—	26×23	8×8	56×34	14×12	2×2	—	—	—	—	—	—	
		辻本	19×13	—	—	—	40×32	18×18	50×34	20×20	2×2	—	—	—	—	—	—	
	200 倍	黒川	—	—	—	—	3×3	—	14×13	—	—	—	—	—	—	—	—	
		岡野	8×9	—	8×8	—	23×23	15×18	37×61	20×21	—	—	—	—	—	—	—	
		森下	22×34	—	30×29	15×20	28×30	12×15	37×41	18×16	—	—	—	—	—	—	—	
		小谷	12×15	—	13×9	—	40×30	20×16	34×29	15×11	7×5	—	—	—	—	—	—	
		福田	15×15	—	20×20	—	40×29	15×15	62×48	15×14	2×2	—	—	—	—	—	—	
藤井株	2000 倍	清水	24×21	15×12	10×7	—	40×27	19×17	58×39	18×16	2×2	—	—	—	—	—	—	
		中西	29×22	7×7	40×27	13×10	37×23	13×10	50×40	12×11	—	—	—	—	—	—	—	
		廣田	7×5	—	—	—	27×30	14×17	37×46	17×18	—	—	4×4	—	—	—	—	
		木村	—	—	—	—	31×28	15×15	46×71	23×18	—	—	—	—	—	—	—	
		片岡	—	—	—	—	37×45	18×14	35×40	16×21	—	—	—	—	—	—	—	
	200 倍	大瀬	2×2	—	—	—	31×23	17×16	56×40	25×21	2×2	—	—	—	—	—	—	
		木谷	2×2	—	—	—	7×7	—	15×12	—	2×2	—	—	—	—	—	—	
		浅井	2×2	—	—	—	45×27	18×16	41×65	19×16	2×2	—	—	—	—	—	—	
		右近	10×15	—	—	—	21×40	20×15	32×51	14×11	—	—	—	—	—	—	—	
		谷	10×12	—	—	—	38×30	15×20	20×21	12×11	—	—	—	—	—	—	—	
2000 倍	岩井	1×1	—	—	—	15×14	2×3	16×17	—	—	—	—	—	—	—	—		
	藤木	2×2	—	—	—	29×17	—	30×15	9×8	—	—	—	—	—	—	—		
	藤村	20×17	—	—	—	51×29	20×19	84×45	22×27	2×2	—	—	—	—	—	—		
	野村	20×20	—	11×9	—	45×40	21×25	47×74	26×16	—	—	—	—	—	—	—		
	田中	—	—	—	—	12×13	7×8	12×11	5×6	—	—	—	—	—	—	—		
小杉株	200 倍	竹川	18×18	2×3	4×4	—	30×32	17×18	39×62	20×23	—	—	—	—	—	—		
		池辺	32×40	10×10	4×3	—	30×28	18×12	25×19	—	—	—	—	—	—	—		
	千葉	25×42	8×8	—	—	22×28	15×12	26×28	14×15	—	—	—	—	—	—	—		
2000 倍	伊久保	10×9	—	8×8	—	8×8	—	8×7	—	—	—	—	—	—	—	—		
	島本	3×2	—	—	—	24×23	14×15	20×22	8×9	—	—	—	—	—	—	—		
上	2000 倍	岡本	4×4	—	3×3	—	37×35	10×9	62×35	17×19	—	—	—	—	—	—		

小 杉 株	2000 倍	野 村	20×20	—	11×9	—	45×40	21×25	47×74	26×16	—	—	—	—	
		田 中	—	—	—	—	—	12×13	7×8	12×11	5×6	—	—	—	—
		竹 川	18×18	2×3	4×4	—	—	30×32	17×18	39×62	20×23	—	—	—	—
	200 倍	池 辺	32×40	10×10	4×3	—	—	30×28	18×12	25×19	—	—	—	—	—
		千 葉	25×42	8×8	—	—	—	22×28	15×12	26×28	14×15	—	—	—	—
上 村 株	2000 倍	伊 久 保	10×9	—	8×8	—	8×8	—	8×7	—	—	—	—	—	
		島 本	3×2	—	—	—	—	24×23	14×15	20×22	8×9	—	—	—	—
		岡 本	4×4	—	3×3	—	—	37×35	10×9	62×35	17×19	—	—	—	—
	200 倍	高 橋	—	—	2×2	—	—	42×27	3×3	9×9	6×6	—	—	—	—
		北 岸	3×3	—	3×3	—	—	27×21	15×17	45×25	15×16	3×3	—	—	—
		前 田	54×36	—	—	—	—	55×41	18×19	77×48	19×19	4×4	—	—	—
藤 沢 株	2000 倍	平 沢	3×3	—	—	—	24×17	11×11	34×28	12×12	—	—	—	—	
		鈴 井	3×3	—	—	—	—	15×13	3×3	18×14	9×9	3×4	—	3×3	—
		沢 井	3×3	—	—	—	—	21×20	11×11	40×25	16×16	—	—	—	—
		村 田	5×5	—	7×7	—	—	21×24	—	32×24	17×17	3×3	—	4×4	—
		西 村	13×13	—	14×21	11×11	—	31×26	14×14	32×29	13×13	2×2	—	—	—
	200 倍	田 中	14×11	—	17×14	—	—	35×28	24×18	45×33	—	—	—	—	—
		岸 和 田	7×7	—	6×7	—	—	45×26	14×14	44×35	15×12	—	—	—	—
		武 田	2×2	—	—	—	—	37×26	22×19	52×37	14×11	—	—	—	—
		石 田	8×6	—	15×13	—	—	16×18	—	17×15	—	2×2	—	—	—
		川 勝	7×7	—	14×13	—	—	31×23	15×9	42×34	—	—	—	—	—
		元 池	22×19	—	20×20	—	—	47×31	11×13	27×27	13×12	—	—	—	—
		奥 野	9×9	—	20×20	5×5	—	36×24	8×8	56×40	8×8	2×2	—	—	—
下 水 株	2000 倍	福 田	8×8	—	8×8	—	16×16	—	45×33	15×16	—	—	—	—	
		村 島	3×3	—	—	—	—	29×19	—	25×18	—	3×5	—	—	—
		土 上	—	—	—	—	—	55×35	26×19	72×45	21×20	—	—	—	—
	200 倍	石 川	—	—	—	—	—	21×22	11×11	18×18	—	2×2	—	—	—
		土 田	2×2	—	—	—	—	32×28	22×21	32×25	13×13	1×2	—	—	—
土 4 株	2000 倍	齊 藤	4×4	—	—	—	41×28	15×22	37×34	15×20	—	—	—	—	
		北 井	3×3	—	—	—	—	24×23	—	47×37	14×14	—	—	—	—
		草 木	3×3	—	—	—	—	24×17	—	25×17	—	—	—	—	—
	200 倍	坂 田	4×4	—	—	—	—	27×21	—	39×25	—	—	—	—	—
		田 口	2×2	—	—	—	—	35×21	15×15	49×32	11×11	—	—	—	—
		谷 川	3×3	—	10×10	—	—	19×16	—	21×20	—	—	—	—	—
200 倍	藤 野	29×23	—	—	—	—	30×22	11×12	16×12	8×8	—	—	—	—	
	岡 田	8×8	—	—	—	—	28×23	11×12	31×22	7×7	4×4	—	—	—	

られてゐる。非病原性 *Mycobacterium* に就ては植田、杉木、⁽³¹⁾ 玉木等の実験では結核菌と同様に平等浮游液を作り難いものや、均等浮游液となり易いもの等種々の菌株の存在を報告してゐる。

余は供試菌株の岡、片倉培地に2週乃至3週間培養のもの1白金耳宛を鉤菌し、生理的食塩水を容れた試験管にとつて、之を強く振盪して其の浮游性を検査し、更に夫々の聚落を乳鉢にとつて、徐々に食塩水を注加し乍ら之を研磨して其の浮游性を検討したが、大多数の菌株は極めてよく平等浮游液を形成し、小濁のものは稍浮游性が悪く、唯西株のみが極めて均等浮游液となり難いことを認めた。即ち余の実験に於ては結核菌に比して、余の供試菌株は全般的に食塩水平等浮游性が強く、少数のもののみ均等浮游液となり難いことが窺ひ知られる。

3. 各種培地上に於ける發育状態

供試菌株の大部分は岡、片倉培地に旺盛な發育を営むが、Löwenstein 培地、寒天斜面、寒天穿刺及び肉汁培地等に於ける發育の状態を検討した結果、次の如き成績を得た。

(A) Löwenstein 培地

何れの菌株も培養3日乃至6日で聚落の發生を認め、培養3週乃至4週後には極めて旺盛な發育振りを示した。聚落發生当初は夫々の菌株の特徴を識別し難いが、培養3週以後になると聚落は夫々の色調、光沢及び形態等の特徴を現はして来る。尙余の実験に於ては、是等の菌株は岡、片倉培地を除いては、他の培地よりも本培地に最もよく發育する如く見受られる。

(B) 寒天斜面

普通寒天斜面培地に於ける發育は Löwenstein 培地に比して著しく劣り、18株中4株は全く陰性に終り、夫々の菌株の聚落の特徴を識別し難い。

(C) 寒天穿刺

普通寒天に穿刺培養を行つた結果は、大体寒天斜面の場合に類似し、全く發育陰性のものが前記同様の菌株4株であつて、發育不良で穿刺部の表面に僅に増殖を認めたものが4株、穿刺の深部によく發育したものが2株で、他の8株は穿刺深部にも穿刺部表面にも稍旺盛な發育を遂げた。

(D) 肉汁培地

肉汁培地には寒天培地に比して割合に良好な發育をしたが、全く發育陰性のもの1株、發育不良で少量より稍多量に至る膜様、索狀、鱗片狀乃至は微細顆粒狀の沈澱として認められたのが9例であつて、此の中には其の沈澱を染色鏡検することによつて漸く發育陽性を認め得たところの野々村株、原田株、楠田株及び植田株の4株があつた。他の8例は培地の表面に膜狀に増殖し或は培地表面や試験管壁に沿つて極めて旺盛な發育を遂げた。

(E) グリセリンブイヨン培地

グリセリンブイヨンに於ける發育の程度は夫々異なるが前記の寅天及び肉汁培地に比して發育が旺盛であつて、特にその8週間培養所見を一括して第1表に示したが、此の中で植田株、木原株、七田株、原田株及び野々村株の5株は稍發育が不良であつた。

小 括

各種培地に於ける供試菌株の發育は、Löwenstein 培地が他に比して最もよく發育し、グリセリンブイヨン及び普通肉汁培地⁽³⁰⁾⁽³¹⁾が之に次ぎ、寒天斜面及び寒天穿刺では甚だ發育が劣つた。此の成績は非病原性 *Mycobacterium* の研究者の一人植田の成績と稍近似してゐる。

4. 菌体の形態

岡、片倉培地に2週乃至3週間培養の菌株を供試し、mikrometer を用ひ通法に従つて菌体の計測を行つた。各菌株に於ける菌体の大きさは極めて種々で一定しないが、9株は極めて短小桿菌で、此の中には寧ろ球狀に近い形態を示すものさえあつた。定型的な短桿菌と認められるものが3株、稍短いと思はれるものが2株で、他の4株は大体に於て中等大桿菌である。菌体の大きさの数字的な成績は、其の長径が最短0.8u.から最長3.9u.で、幅径は0.2u.より0.5u.の間の値を示してゐる。

結核菌の大きさは、長さ1u.乃至4u.、幅0.3u.乃至0.5u.内外であるが、余の *Mycobacterium* も大体に於て此の範囲に止まり結核菌と大差を認め得ないが、幾分短小乃至は球狀に近い菌が多かつた。

5. 石炭酸フクシン染色性

岡, 片倉培地培養2週乃至3週間の菌株を材料として塗抹標本を作製し, 之に Ziehl-Neelsen 染色法を施して石炭酸フクシン染色性の強さを観察した。供試菌株は総て石炭酸フクシン染色性が強く, 其の中10株は極めて強く, 他の8株は中等度の染色性をもつてゐる。

Ziehl-Neelsen 染色を施して鏡検すれば, 菌体内に顆粒を認めるものが6株で, その中で原田株のみは顆粒の状態や染色性や菌形態等が甚だ結核菌に類似してゐる。他の12株には全部に顆粒を認め得なかつた。

6. 抗煮沸性

結核菌と他の自然界 *Mycobacterium* とを鑑別する方法の一つとして抗煮沸性試験は既に衆知の通りであるが, 抑々結核菌の特性として著しく強い抗煮沸性をもつと言ふことは, 始め Kaufmann⁽⁴⁾ 及び Preis⁽¹¹⁾ に依つて指摘せられ, 其の後我國に於ても戸田⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾, 大道⁽¹⁴⁾, 廣木⁽²⁸⁾, 植田⁽³²⁾, 占部⁽³⁴⁾, 草場⁽³⁸⁾, 松枝⁽⁴⁴⁾ 及び岡部等が *Mycobacterium* の抗煮沸性に就て研究を行つてゐる。諸家の報告は夫々多少の相違はあるが, 抗酸性菌の抗煮沸性は人型及び牛型結核菌が最も強く, 次で鳥型結核菌で, 自然界 *Mycobacterium* は最も弱いことを述べてゐる。

余は大體 Preis に近似した方法に依つて供試菌の抗煮沸性を検討した。

岡, 片倉培地2週乃至3週培養の菌の塗抹標本を作り, 室温で乾燥した後 Ziehl 氏石炭酸フクシン液を注ぎ, 火焰上で水蒸氣の発する程度に凡そ1分乃至2分間加温染色し, 次に沸騰水で処置し, メチレン青液で後染色を施し, 室温で乾燥した後鏡検して決定した。

其の成績は余の菌株では, 抗煮沸性 (Kf) 0.5或は1.0乃至1.5の範囲に止まり, 最も強いもので木原株の2.5と言ふ成績を示した。諸家の報告を概略綜括すれば, 人型及び牛型結核菌は凡そ5乃至20の抗煮沸性を示し, 鳥型結核菌は2乃至5で, 自然界 *Mycobacterium* では0.05から1.5内外を動揺してゐるものと見られる。余の供試菌株も抗煮沸性が非常に弱く, 諸家の例に等しく自然界 *Mycobacterium* の域を脱し難く, 唯木原株のみがKf2.5の成績を示したに過ぎない。

7. カタラーゼ作用

Mycobacterium のカタラーゼ作用に就ては戸田⁽¹²⁾, 廣木⁽²⁸⁾, 占部⁽¹⁹⁾, 大川⁽²³⁾⁽²⁴⁾ 及び草場等⁽³⁸⁾の研究があり, 氏等の報告では大體に於て人型及び牛型結核菌はカタラーゼ作用が最も弱く, 鳥型結核菌は前者に比して稍強く自然界 *Mycobacterium* に於ては極めて強い作用を示すことを述べてゐる。

余は岡, 片倉培地2週乃至3週培養の聚落を鉤菌し, 通法に従つて生理的食塩水1cc中に1mgを含む如き平等菌液を調製してカタラーゼ作用試験を行つた。カタラーゼ作用試験方法には定性法と定量法があるが, 余は専ら定量法を採用した。定量試験法には遊離酸素直接定量法, 沃度定量法及び過マンガン酸加量定量法の3種の方法があるが余は過マンガン酸加量法に依つて実施した。

其の成績は余の供試菌株に於てはカタラーゼ作用は8乃至32倍迄の間の陽性度を示し, 唯石川株のみが4倍迄陽性の結果を示した。

結核菌のカタラーゼ作用は前述の如く非常に弱いもので, 凡そ1乃至2倍迄の陽性に止まり, 稍に4倍稍迄陽性を示すことがある。斯様な見地から余の供試菌株のカタラーゼ作用を観察するに, 石川株の4倍迄陽性と云ふ1例はあるが, 他は総て8倍乃至32倍迄陽性であつて, 非病原性 *Mycobacterium* としての一つの特性を表はしてゐるものと見られる。

8. ツベルクリン産生能力

結核菌からツベルクリンを調製する方法に従つて, 供試菌株からツベルクリン様物質を調製した。余は之を假りに非病原菌ツベルクリンと称し, 結核モルモット及び肺結核患者に接種してツベルクリン反応が起るか否かを観察して自然界 *Mycobacterium* のツベルクリン産生能力を検討した。

予め供試菌株をグリセリン培地に8週間培養して, 之を旧ツベルクリンの製法に準じて所謂非病原菌ツベルクリンを調製し, 之を0.5%石炭酸食塩水で10倍に稀釈して, その0.1ccを結核モルモットの側腹皮肉に接種し, 又肺結核患者には200倍及び2000倍に稀釈した2種の非病原菌ツベルクリン0.1ccを前膊皮内に接種して24時間及び48時間目に皮膚の発赤及び硬結の程度を観察した。尙結核モルモットには10倍稀釈旧ツベルクリン0.1ccを併せて接種して参考に供し, 結核患者には2000倍稀釈旧ツベルクリン0.1cc接種のマントウ氏反応も併せ行ひ, 又対照として0.5%石炭酸食塩水の0.1ccを皮内に接種した。

(A) モルモット試験成績 (図表省略)

供試菌株12株を以て調製した余の所謂非病原菌ツベルクリンは、殆んど皮膚反応を示さなかつた。僅かに伊藤株ツベルクリンが24時間に発赤 4×4 mm, 硬結 2×2 mmを示し, 石川株では48時間で 5×5 mmの発赤で, 藤沢株のものは48時間で 4×4 mmの発赤を示し, 極めて微弱な皮膚反応であつて, 之を対照の旧ツベルクリンの反応と比較して見ても殆んど顧慮するに足らぬ程度であつて, すべてが反応陰性に終つてゐる。

(B) 結核患者試験成績

第2表に一括する如く, 59名の肺結核患者に実施した成績は, 前記モルモット試験とは稍異り, かなりの陽性成績を示した。即ち伊藤株より調製したもの、2000倍液を患者百瀬及び山本に接種した場合の2例, 同じく200倍液を患者森下, 小谷, 福田, 清水及び中西に接種したもの、5例, 小杉株ツベルクリンの2000倍液を患者野村に接種した場合, 藤沢株ツベルクリンの2000倍液を患者西村, 田中に接種した場合の2例, 同じく200倍液を患者石田, 川勝, 元池及び奥野に接種した場合の4例及び土₄株ツベルクリンを患者谷川に接種した場合等が可なり強度の皮膚反応陽性を示した。

以上の成績からして結核患者に実施した場合には, 非病原菌ツベルクリンはかなりの Reagin 性を発揮した事が認められ, 換言すれば自然界 *Mycobacterium* と思はれる供試菌株中或る程度のツベルクリン産生能力をもつものが存在する事が知られる。然し乍ら之を旧ツベルクリンに比すれば其の反応は格段の懸隔があつて, やはり非病原菌ツベルクリンに依る皮膚反応が弱いことが認められる。

小 括

供試菌株からツベルクリン様物質を調製して結核モルモット及び肺結核患者に皮内接種を行ひ, 皮膚反応の程度を観察し, どの程度のツベルクリン産生能力があるかを検討した結果, 結核モルモットに対しては殆んど皮膚反応が現はれないが, 結核患者の場合は之を旧ツベルクリンに比すれば相当の懸隔はあるが, かなりの皮膚反応を現はすものが存在することが知られる。即ち余は斯様な成績からして, 自然界 *Mycobacterium* の中には, 或る程度のツベルクリン産生能力をもつ菌株が存在するものと思ふ。

第4章 總括及び考察

肺結核患者の喀痰, 唾液, 含嗽液, 尿, 健康者の含嗽液及び其の他の自然界材料として山羊毛, 下水土壌等から分離した18種の菌株を実験に供し, 其の一般的性状を検討し, 併せて結核菌との比較も考察して見たが茲に其の成績を総括すれば次の通りである。

(1) 固形培地 (岡, 片倉培地) に於ける聚落の性状は必ずしも一定しないが, 黄色の色調を帯び, 光沢を有し, 軟くて濕潤で且粘稠性に富む聚落を形成するものが大多数である。

(2) 全般的に食塩水平等浮游性が強く, 少数のもののみが平等液となり難く稍結核菌に類似する。

(3) 各種培地上に於ける発育状態は, 岡, 片倉培地を除いては, Löwenstein 培地, グリセリンブイヨン培地, 普通肉汁培地, 寒天斜面, 寒天穿刺の順であつて, 此の点も稍結核菌に類似する如く思考される。

(4) 菌体の形態は大體に於て結核菌と大差を認め得ないが, 幾分短小乃至は球狀に近い形態の菌が多かつた。

(5) 総ての菌株が石炭酸フクシン染色性が強く, 菌体内に顆粒を認めるものが6株で, 其の中1株は顆粒の状態や染色性や菌形態等が甚だ結核菌に類似している。

(6) 抗煮沸性は稍強い1株を除いては, 全菌株が非常に弱く, 諸家の例に等しく自然界 *Mycobacterium* の特性を表はしている。

(7) カタラーゼ作用は, 結核菌に類似して稍弱い1株を除いては, 全菌株が極めて強く, 先進諸学者の成績に一致していて, 全株が自然界 *Mycobacterium* の域を脱し得ない。

(8) ツベルクリン産生能力は, 結核菌に比すれば甚だ弱い, 結核菌以外の *Mycobacterium* の中には或る程度のツベルクリン産生能力をもつ菌株が存在する。

以上の成績より考察するに, 余の実験範囲内に於ては定型的な結核菌に類似する如き一貫した性状を

有する菌株は1例も見出し難く、供試菌株は総て結核菌以外の自然界 *Mycobacterium* と見做す可きである。然し乍ら是等の中にも其の一般的性状に於て、結核菌類似の一部の性状を具備するものが多数存在する事実が認められる。

結 論

異型聚落を形成する供試 *Mycobacterium* は総て結核菌以外の自然界 *Mycobacterium* で、其の一般的性状に於て、一貫した結核菌類似の性状を有するものは存在しないが、自然界 *Mycobacterium* の中には結核菌類似の一部の性状を具有するものが多数存在する。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜つた木村教授、植田教授並に松島所長に対して深甚の謝意を表する。

文 献 (後 出)

自然界 *Mycobacterium* に関する研究

第2篇 病原性、免疫元性等に就て

京都大学 { 医学部微生物学教室 (主任 水村教授)
結核研究所細菌血清学部 (主任 植田教授)
国立京都療養所 (所長 松島博士)

大 平 実

目 次

- 第1章 緒 言
- 第2章 実験材料並に方法
- 第3章 実験成績
 - 1. 病原性
 - 2. ツベルクリン反應
 - (A) ツベルクリン皮膚反應
 - (B) ツベルクリンシヨツク
 - 3. Koch氏現象
 - 4. 免疫元性
- 第4章 総括及び考察
- 結 論
- 文 献

第1章 緒 言

従来自然界 *Mycobacterium* の研究の主眼は、結核菌や癩菌の検査に際して、是等の菌と極めて類似する本菌との鑑別診断に重点が置かれていたが、反面に於て本菌の病原性に就ても検討を行ふ学者が多くなり、是等の抗酸性菌の中には或程度の病原性をもつものがあるのではないかと言ふ前提のもとに研究が進められていたのである。然し乍ら多数の研究者は何れも自然界 *Mycobacterium* の病原性を認