

的所見及び結核菌の定量培養に依りては吸入群、対照群との間に著明な差異を認める事が出来なかつたが、肺臓の組織学的所見に於ては或る程度の差異を認めた。即ち吸入群は対照群に比し乾酪巣周囲の増殖性反應が盛んで且血管の拡張充盈が認められる。

先に我々は臨床実験に依り肺結核患者に M. M. A. ガスの吸入療法を行ひその約70%に喀痰、咳嗽及び喀痰中結核菌の減少を來す事を経験した。この治療効果の作用機轉に就て我々は第一にガスの有する抗結核菌性に基くものと考へてゐたが、之は本動物実験の結果からすると余り有力なものとは考へられない。何故なれば定量培養実験に於て吸入群も対照群も差のない事を認めたからである。

むしろこれよりも第二の作用機轉としてガス体の刺激に依る肺組織の充血を取上げ度い。刺激が適度であれば治癒機轉を促進せしめる事が想像される。

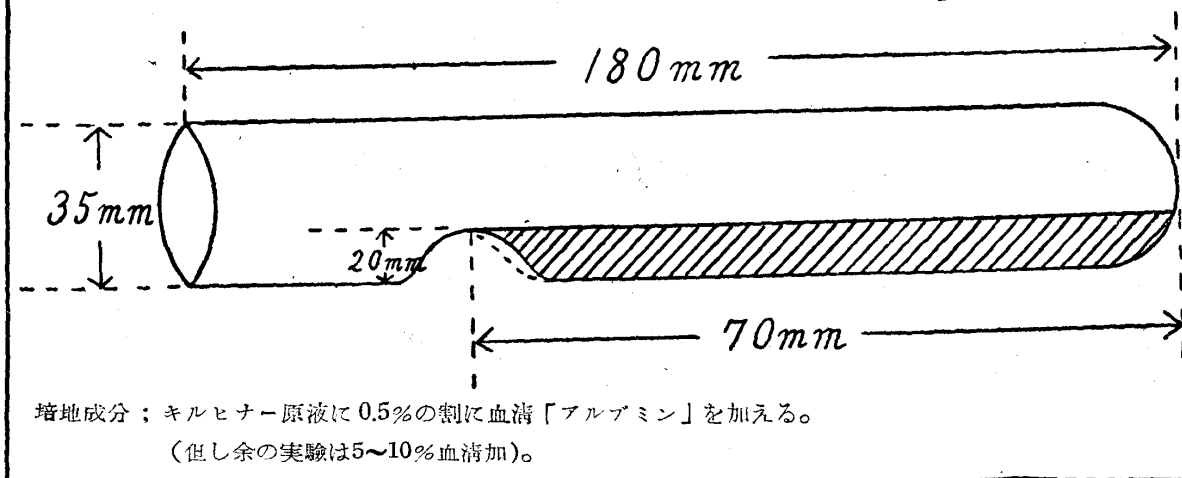
## Slide Culture Method (S. C. M. 法) の追試 及其の変法に就て

辻 周 介  
米 津 徹 也  
熊 代 朗 子

最近発表された Brry and Lowry の「スライドカルチャーメソッド」(表1)は非常に短期間に結核菌集落を、而も弱拡大顯微鏡にて検出出来る点に於て、臨床にも実験にも、可成り應用範圍の廣い方法と思惟されるが、此の方法は特殊の器具を要し又操作の上にもやゝ不便な所がある。余はこの点を改良し表2に表示した様な方法を考案した。

第1表 原 法

1. 普通大「オブジェクト」に喀痰塗沫、乾燥。
2. 染色皿中にて 6%  $H_2SO_4$  20分処理。
3. 染色皿(滅菌蒸溜水を容る)各10分2回通過。
4. 特製試験管(キルヒナー培地)中にて培養。
5. 第2, 4, 6日目にとり出す。
6. 乾燥、熱固定、染色(チールネルゼン法)。
7. 檢鏡。



第2表 変 法

1. 半切「オブジェクト」に喀痰塗抹乾燥。
2. 普通試験管内にて6% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 20分処理。
3. 普通試験管（滅菌蒸留水を容る）各10分2回通過。 又は普通試験管（m/15磷酸鹽緩衝液 p.H. 7.0を容る）10分1回通過。
4. 普通試験管（キルヒナー培地を容る）中にて37°Cに培養。
5. 5, 7日目に取出す。
6. 乾燥、熱固定、染色（チールネルゼン法）。
7. 検鏡。
培地成分；5~10%血清加「キルヒナー」培地。

この二つの方法を比較した実験では第3表が示す通り大体同じ検出率を得た。

第3表 Berry and Lowry 法と余の変法との比較成績

略 痰	判 定	G II ~ IV			G I ~ I		
		卍	+	-	卍	+	-
原 法	5 日	4	0	0	4	1	0
	7 日	4	0	0	4	1	0
変 法	5 日	9	0	0	8	4	0
	7 日	9	0	0	10	2	0

備考； 卍……弱拡大で集落の見えるもの。  
+……強拡大で集落の見えるもの。  
-……強拡大でも見えないもの。

次に余の S. C. M. 法は従來の岡、片倉による 喀痰培養法の代用となり得るかどうかを検討してみた。第4表に示す通り32例の「ガフキー」Oの喀痰のうち、岡、片倉培地に依ると21例のそれに菌を

第4表 岡、片倉法、集菌法と本法との比較成績

	培養（岡、片倉法）	集菌（5%硫酸）	S. C. M.
陽 性	21	8	7
陰 性	11	24	25
計	32	32	32

証明したのに対し S. C. M. 法では7例に於てのみ菌が証明された。この成績は5%硫酸水集菌法による検出率にも僅かながら劣つて居る。勿論油浸装置を使用すれば検出率は大いに上昇する筈であるが、それでは臨床検査として余り有難い方法とは云へない。

そこで検出を良くする目的で4%苛性曹達にて集菌した沈渣を約3%「ムチン」溶液（「ムチン」は牛顎下腺より抽出、精製す。）と共に「オブジェクト」に塗りつけ、或は又集菌した沈渣を少量の硫酸にて中和して同様に操作して「スライドカルチャー」を行つたが、検出率は岡、片倉培養法に比較してはるかに劣つて居た。次に「キルヒナー」培地に加へる血清の濃度を増加すると、発生する集落の数が増加し、従つて検出率も上昇する様である。この場合最適当な血清の濃度は40%前後の様であるが、この点は更に吟味してみたい。之を要するに本法を従來の岡、片倉培養法に代る喀痰の早期培

養檢出法たらしめるためには尙幾多改良工夫の要があると考へる。併し本法は菌檢出以外の目的に幾多應用の價値あるものとする。例へば菌の發育型式の觀察に適當である他、短期間に菌發育の有無を觀察出来る点に於て抗菌物質の研究や消毒剤の檢定等に應用すれば非常に便利であらう。此の点に就ても後日報告の予定である。

第5表 「スト」耐性菌檢査成績

姓名	性	年令	病 変	「スト」 使用量	「スト」中止 後の期間	喀痰の菌	培地中「スト」含有量 $\gamma$ l.c.c.									
							1	2	3	4	5	10	50	100		
世○田	♂	35	両側肺結核	使用せず		G IV	+	-								
玉 ○	♂	26	同 上	同 上		G VII	+	+	+	+	±	-				
同			〃	〃		G VII	+	+		+	±	-				
浜 ○	♂	29	両側肺結核	〃		G IV	±				-					
片 ○	♂	44	両側肺結核 及腸結核	14本	10日目	G V	+	+	+		±					
同			〃	14本	20日目	G III	+	±	-							
武 ○	♀	23	両側肺結核	20本	途中10日休	G IV	+	+		-						
北 ○	♂	29	両側肺結核	35本	20日	G IV	+	±			±					
同			〃	〃	30日	G III	±	±			-					
長 ○	♂	53	両側肺結核 及巨大空洞	19本	約90日	G II	+	-								
若 ○	♂	44	両側肺結核	40本	約60日	G V	+	+			+	+	+	+	+	+
小 ○	♀	33	両側肺結核 及腸結核	40本	約20日	G IV					+	+	+	+	+	+
石 ○	♂	36	右肺結核	40本	約30日	G III							+	-	-	
岩 ○	♂	40	両側肺結核	10本	110日	G I							+	-	-	
片 ○	♂	46	両側肺結核	15本	206日	G I							-	-	-	

次に此の方法は「ストレプトマイシン」耐性菌の檢査に應用し得る。此事は既に欧米に2~3報告を散見するが、我々も此点を檢索し本法が甚だ便利な方法である事を確認した。從來「ス」耐性菌の檢出には患者喀痰より分離培養した菌に就て「ス」に対する抵抗性を調べる方法が多く用いられた。之には相当の日数を要するのであるが、多くの研究者に依り患者体内の結核菌は急速に「マイシン」に対する耐性を増加する事が知られた。就中 Riggins and Hinshaw の詳細な研究によれば「ス」を使用し初めて第5~8週に急速に耐性を増加し、中には「ス」10 $\gamma$ で發育が阻止された喀痰中の菌がそれから1週間後には1000 $\gamma$ でも發育が阻止されない様になつた例さへもある事が知られた。そこで体内の菌が「ス」に対し耐性を獲得したかどうかを迅速に知る事が臨床上極めて必要な事となつた。最近米國では喀痰を硫酸処理して、「ス」含有の Dubos-Dabis 培地に植える事により短期間に判定のつく方法が案出されてをり、又阪大河盛等は S. C. C. を應用して此目的を達せんとしてゐる。

余の方法も亦此の目的に應用し得るものである。実験方法は5~10%血清加「キルヒナー」培地に「ス」の適当量を混入して「スライドカルチャー」を行ひ、第5或は第7日目に取出し菌の發育の狀態を檢鏡するのである。喀痰はあらかじめ三角「コルベン」中にて「ガラス」球と共に震蕩、或は「ホモダイナイザー」で震蕩するを可とする。実験成績は図表に示す通りである。之に依り余の方法で大體耐性菌の早期確認が出来る事が判る。こゝに耐性菌というのは10 $\gamma$ 以上の「マイシン」濃度に対し

て対照と同様な発育を示すものを云う。

余の方法は喀痰結核菌が「ガフキー」1号以上検出し得るものに就て行ひ得るのでそれ以下の微量の菌に対しては利用し難い点に大きな欠点を有するが、簡単に而も迅速に患者喀痰中の結核菌の藥物に対する耐性を知り得る点に於て大いに臨床的な利用価値があると信ずる。

### 文 献

1. J. W. Berry and Hope Lowry ; Am. R. of tub. 1949 July.
2. Riggins & Hinshaw ; Am. R. of tub 1949, 51, 141.
3. Curamings M. M. and Drummond, M. C. ; Am. R. of tub 1949, 59, 599.
4. Cummings et al ; Dis. of the Chest 1950 Feb. 202.

## Slide Culture Method の改良に関する研究

山 本 壽

**緒 言** Slide Culture Method に就いては、既に米津及び辻、米津、田中によつて報告され、米津、片山の方法が、各種の應用方途を有することが確認されている。但し喀痰中結核菌の早期培養検出法としては、本法は従來の岡、片倉の培養法に比して、むしろ劣る成績が得られた。余は主として、此早期培養検出法に利用し得ることを目的として、2,3檢索を試みたので、こゝに報告する。

余は先づ次の諸点に就いて吟味を企てた。

- 1) 前処置として集菌法殊にアルカリ集菌法を施すことによる検出率の向上。
- 2) 塗沫材料固定の強化。
- 3) 実験操作の簡略化。

今日迄の所、余の目的とする所には遙かに遠いのであるが、一應の実験成績を述べて、今後の努力を期し度い。

**實驗方法並に實驗成績** 集菌法として、2%苛性ソーダ水を喀痰の約10倍量加え、ゴム栓した大型スピッツグラス中にて時々振盪しつゝ20分間放置後、遠心(3,000回20分)する方法を用いた。固定法には喀痰或は遠心沈渣を載物グラスに塗沫後、種々の%のアルコール中に種々の時間投入する方法とアルカリ法集菌後無菌溜水にて洗い再び遠心し其沈渣を塗沫乾燥固定する方法とを用いた。

其他の操作は米津法(米津論文参照)に倣ひ、且つ対照として米津法による成績と比較検討した。結核菌の発育状態を次の標準に基いて表示した。

- 陰性(±) ……菌体個々に散在し、集落なく集合せるものも4個以下のもの  
 軽度湯性(+) ……集落の大きさが菌体5~30個より成るもの  
 強度湯性(++) ……集落の大きさが菌体30個以上より成るもの  
 次に実験成績を総括表示する。