

(1)に既報のチール・グラム法或はチール・ハイデンハイン法(植田)を試みるならば、發育形中に於けるグラム染色性物質或はヘマトキシリン染色性物質の循環を追跡する事が出来、結核菌の發育様式の考察に資するところが大である。

文 献

- 1 植田 三郎, 日 本 医 学 3423号 16頁(昭和23年)
 東京医事新誌 66巻 8号 10頁(同 24年)
 同 誌 66巻 11号 3頁(同 年)
 同 誌 67巻 1号 9頁(同 25年)
 同 誌 67巻 2号 10頁(同 年)

膿 中 の 結 核 菌 非 抗 酸 性 形 に 就 て

(附) 結核菌の抵抗性から見た現行培養法の缺陷に就て

植 田 三 郎
 大 岩 弘 治

[本稿の要旨は結核25巻 8号 32頁(昭和25年)に発表した。]

結核性の材料例へば喀痰、膿、組織等を培養すれば、結核菌の証明は比較的容易である。にも拘らず、それ等の材料の塗抹標本或は切片標本を染色、観察する時は、コッホ桿菌を見出し難い場合に屢々遭遇する。それが何に起因するかは検討を要する。染色標本は検査材料の限られた1小部分を対象とするものであるから、比較的大量の材料から集菌、培養する方法に劣るのは当然ではなからうかと言ふ様な考へ方がある。又染色方法そのものが不備な爲めに検出が困難なのではないかと言ふやうな考へ方から、染色方法の改良が企てられる。それにしても染色標本の綿密な観察が成功しない時に、著しく多数の集落が發育する場合がある事は依然疑問でなければならない。上述とは逆の場合に就ても亦、考へて見なければならない。染色標本中に稍多数のコッホ桿菌を検出出来るにも拘はらず、同じ材料を培養して貧少の集落を得るに過ぎない場合、乃至は全く集落の發育を缺く場合のある事も亦考へて見なければならない。特に最近 Canetti⁽¹⁾が多数例の結核性組織を観察し、それに立脚して爲した考察は興味深く、且つ暗示に富む。氏は組織を切半して、一半を塗抹染色標本とし、他半を培養したのであるが、その際染色標本中に見出したコッホ桿菌の数に比較して發育集落数が際立つて少い事に注目し、遂に染色標本中に見出すコッホ桿菌の大多数は死菌であるのではなからうかと推測した。

上述二つの一見矛盾するかに見える事実、是等の事実はコッホ桿菌と發育集落とを強ひて直接結び付けようとする爲めに起るところの、当然の結果ではないかと言ふ事が考へられる。若しコッホ桿菌を離れて他に發育力を持つた形態的要素を求める事が出来るならば、上述の一見矛盾した事実は矛盾ではなく成るかも知れない。既報の様な發育様式の考察に立脚して、われわれは外科的結核症の膿に就て、その中に結核菌非抗酸性乃至易染性形の存在を確めやうと企てた。

実験材料並に方法。

染色法。脊椎炎の流注膿瘍及び関節腔から、穿刺に依つて無菌的に採集した膿汁を供試した。載物硝子上に1滴の食塩水を置き、それに膿汁の1滴を混和して薄く塗抹した。薄い塗抹標本を得る爲めに載物硝子を直ちに傾斜して、放置乾燥せしめた。乾燥後火焰を以て固定し、既報のチール・ハイデン⁽²⁾ハイン法(植田)で染色した。

培養法。膿汁には何等の前処置を加へる手なく、その0.1cc宛を卵培養基(上坂、友田)5本に培養した。

実験成績。

膿の塗抹標本100視野中に見出した結核菌の抗酸性形及び非抗酸性、易染性形の数、並びに卵培養基に發育した集落数(5本の平均値)は第1表の如くである。

第1表 膿中の抗酸性形、非抗酸性形と集落数

患 者 名	診 断	抗 酸 性 形	非 抗 酸 性 形	集 落 数
足 田	○ 股 関 節 結 核	0	3	49
日 井	○ 同 上	2	21	154
橋 本	○ 同 上	4	4	約 1000
松 高	○ 腰 椎 炎	2	4	14
奥 八	○ 同 上	0	5	約 800
藤 藤	○ 同 上	0	3	108
	○ 同 上	0	4	57
	○ 同 上	1	9	325
	○ 同 上	0	14	59
	○ 同 上	1	7	約 900

~非抗酸性、易染性形は供試した10例の膿汁の全例から比較的容易に検出する事が出来たが、抗酸性形は10例中5例に於て少数を見出し得たに過ぎなかつた。抗酸性形を見出した5例中1例に於ては、抗酸性形、非抗酸性、易染性形はともに同数であつたが、残りの4例に於ては、いづれも抗酸性形は僅かに1.2個を辛じて見出したに過ぎず、それぞれ同時に見出した非抗酸性易染性形に比較して稍々目立つて少数であつた。集落は全10例に於て稍々多数に發育した。此様な多数の集落を見る時、これを直ちに抗酸性形から發育したものと見做す事は困難であつて、むしろ全例から比較的容易に検出し得た非抗酸性、易染性形と發育集落との直接の關係が窺われる。

考 察。

上記の染色及び培養による所見を比較、対照する時、抗酸性のコツホ桿菌と發育集落とを直接結び付けて、前者から後者が發育、形成せられると言ふ考へ方には、無理のある事が明らかである。むしろそれよりは非抗酸性、易染性の形と發育集落との關係を考へる方が、無理が無く自然であらう。此様に考へると、上述の如くコツホ桿菌を見出し難いにも拘はらず、發育集落数が意外に多いと言ふ事実も、も早や特別に奇異とするには当らない事が分る。即ち此様にして膿を材料として選んだ事によつて、易染性の形こそ發育力を持つた結核菌そのものであるとするわれわれの見方、考へ方を確める一つの機会が同時に與へられた。

結核性の膿汁中にはコツホ桿菌が殆んど見出されないにも拘はらず、非抗酸性、易染性乃至易染性の形が比較的容易に見出されると言ふ事実が何に起因するか、又どのやうな意義を持つかと言ふ様な

点に就て、多少考察を加へ度い。それは膿の由來する病巢に於ける結核菌の状態、惹いてはその組織学的な状態を示すものと見てよいのではないかと考へる。その爲めには、著者の一人植田⁽³⁾が人及び動物の組織に就て爲した觀察を参照する事が出来る。そのやうな觀察に立脚して上述の膿所見を考へるならば、膿の由來する病巢の状態がどのやうなものであるかと推測出来るのではないかと考へる。結核菌が發育の極期を過ぎて崩壊、減少し、抗酸性形は既に殆んどその姿を没し、易染性形のみが少数殘存する如き状態に在る事が推測出来る。組織学的にも亦それに対応する状態に在る事が推測出来る。

(附) 結核菌の抵抗性から見た現行培養法の欠陥に就て。

上述膿の培養に際して、何等前処置を加へない材料をその儘直ちに培養基に移したのは、一つには膿が無菌的に採集出来る材料であつたからであるが、一つには前処置に用ひる硫酸の影響を顧慮したからである。今各濃度硫酸の影響を検討した成績を附記すれば下記の如くであつて、その影響は決して輕視出来ない。

材料並に方法。

上記実験と同様、脊椎炎の流注膿瘍から穿刺に依つて無菌的に採集した膿を主な材料としそれと対照する意味にて結核性の喀痰、人型結核菌 F 株から作つた菌浮游液を用ひた。更に結核菌と比較する意味にて、大腸菌及び葡萄球菌のブイヨン培養を供試した。膿、喀痰、結核浮游液、大腸菌及び葡萄球菌の培養は、いづれもその 1cc 宛を遠心管にとり、各濃度の硫酸水 (対照は生理食塩水) 4cc 宛を加へ、強く振盪、混和して後、37 °C に 30 分間放置した。4000 廻轉 30 分間遠心沈澱して上清を棄て、沈渣には食塩水を加へて、2 回遠心沈澱して洗滌した。最後に得た沈渣は白金スパーテルを以て管壁にてよく磨碎しつつ 1cc の生理食塩水に浮游し、その 0.1cc 宛を上記同様の卵培養基 5 本宛に培養した。7 週間餘觀察して、發育集落数を数へ、5 本の培養基に就て平均値を算出した。

成 績。

先づ膿に就て見ると、対照として食塩水を混和したものから發育した集落数と、それぞれの濃度の硫酸水で前処置したものから發育したそれとを比較すれば、硫酸濃度の増加に伴れて、集落数が減少した。0.5% 硫酸にて既に集落数の減少が見られ、中には半減したものもあつた。2% 硫酸では集落数は更に減少し、5% 硫酸では対照に比較して稍々顯著に減少し、中には 1/4 内外に減少した例もあつた。

第 2 表 硫酸に対する結核菌の抵抗性

	患 者 名	診 断	硫 酸 の 濃 度			
			対 照	0.5%	2 %	5 %
膿	松 ○	腰 椎 炎	108	68	68	42
	高 ○	〃	57	48	27	17
	奥 ○	〃	325	235	200	180
	八 ○	〃	59	55	47	46
	藤 ○	〃	約 900	700	650	400
喀 痰	大 ○	肺 結 核		雑 菌	同 左	約 1000
	難 ○	〃		〃	〃	182
菌 液	結 核 菌		約 2500	約 1100	630	500
	大 腸 菌		∞	0	0	0
	葡 萄 球 菌		∞	0	0	0

表中の数字は發育集落数 (培養基 5 本の平均値)

此様な硫酸の顯著な影響が、或は膿中に在る結核菌の抵抗性の低下の爲めかとも疑はれたが、対照の結核菌浮游液の成績を見れば、特別な抵抗性の低下の爲めでない事が分る。浮游液中の結核菌に対する硫酸の影響は一層顯著であつて、集落数は0.5%では対照のその2分の1に、2%では3分の1以下と成り、5%では実に5分の1に減少した。対照の大腸菌及び葡萄球菌は0.5%で既に完全に殺滅せられた。即ち廣く好んで用ひられる5乃至10%硫酸による前処置培養法が不安なものである事は明らかである。

茲で別な興味を惹く点は、膿中の結核菌、培養結核菌ともに、一樣の抵抗性を有しない事である。

0.5硫酸によつて既に大腸菌及び葡萄球菌と同様に殺滅せられる如き抵抗性の弱い形態を略々半数含む事が知られる。残りの比較的抵抗性の強い形態も硫酸濃度の高まるに伴われて次第に影響せられるが、5%硫酸によつても尙影響せられ難い形態が常に残存する事は興味を惹く。

考 察。

結核菌を分離培養するためには、病原材料を予め硫酸或はアルカリを以て前処置する方法が、今日廣く賞用せられる。而て卵培養基の考案は此方法を一層有利なものとした。是等の方法に依る時は、病原材料を均質化する事が出来ると同時に、材料中に混在する雜菌を殺滅する事が出来る。而も結核菌を傷害する事なく集菌して、培養する事が出来る。例を硫酸にとれば、5%が廣く用ひられるが、又時には10乃至15%と言ふ如き高濃度が用ひられる。そして結核菌は此様な直接作用の強い高濃度の酸によく抵抗するものと考へられてゐる。

それではそのやうな特別な抵抗性の拠りどころは果して何であるかと言ふ疑問が直ちに起るが、此点に就ては、結核菌は特殊な蠟質被膜を持つ爲めに、或は脂質を豊富に含有するが爲めに、そのやうな特別な抵抗性を示すのであらうと言ふやうな考へ方が一般である。併乍ら此様な考へ方は憶測の範圍を出ないものであつて、事實蠟質被膜の考へ方は今日次第に顧みられなく成り、われわれも最近其存在を形態學的に否定した。いづれにしても此様な考へ方は、抗酸性のコツホ桿菌即ちわれわれの見地からすれば、既に發育力を失ひ変性した形態に就て爲されたものであるから、結核菌の發育形が示すところの特別な抵抗性を説明する拠りどころとは成り得ない。發育形は非抗酸性、易染性物質を持つた形態であるから、此物に就て、特別な抵抗性の拠りどころを求めなければならない。蓋しその拠りどころは容易に求める事が出来る。即ち絲狀形の基部が成熟して分節を生じる。此分節即ち桿狀形は成熟形と見做すべきものであつて、次で發芽する迄は、一種の發育休止期の形態とも見る事が出来る。即ち生活物質が凝縮した此様な發育休止期の形態は孢子にも擬すべきものであつて、その抵抗性が大であらう事は容易に推測出来る。

併乍ら此様な形態は非抗酸性、易染性乃至易染性の形の發育、成熟、發芽の過程中的一个の段階に過ぎない。發育、成熟、發芽の過程に伴れて、その形、構造が変化する。それに伴れて抵抗性も亦漸次変化する事が考へられる。發育形である絲狀形は最も抵抗性が弱く、その抵抗性は一般細菌、菌類のそれと逕庭のないものではないかと推測せられる。併乍ら顧てその基部が成熟して生活物質が次第に凝縮するに伴れて、その抵抗性も亦漸次強く成り、分離して分節即ち桿狀形と成るに至つて、最も強い抵抗性を示すやうに成るのではないかと考へる。此様な桿狀形が發芽するに至れば、抵抗性は再び次第に弱まる事が考へられる。上掲の成績は此様な考へ方をよく裏書きする。5%硫酸にもよく抵抗する形態がある一方で、0.5%のそれにも堪へ得ない形態がある事を見逃してはならない。

いづれにしても上述の結果から見る時は、多量の結核菌を含有する材料から唯單にそれを培養、証明すれば事足りる場合は、現行の方法でも差支えないかも知れないが、併乍ら菌含有の少い材料から培養しやうとする場合、或は菌含有量を正確に知らうとする目的で培養する場合には、現行の硫酸処

置法……アルカリ処置法も同様であらう……は仮令低濃度の硫酸を用ひるとしても、不備である事は争はれない。何等の前処置を加へる事なしに培養する事が最も安全であるが、さうする事の出来ない材料に就ては、抵抗性の弱い形態を傷害する事なしに、而も材料中に混在する雑菌を避けて培養する新しい方法の考案が要請せられる。

文 献

1. Canetti, G., Rev. Tuberc., 10 : 26, 1946.
2. 植田三郎, 前出.
3. 植田三郎, 山田 修, 前出.

結核菌検査に於ける染色陰性、培養陽性或は 染色陽性、培養陰性例の考察

植 田 三 郎

(本考察の要旨は日本臨牀結核10巻2号36頁に発表した。)

非抗酸性、易染性乃至易染性の形態を結核菌の發育形とし、抗酸性にのみ染色せられる形態をその変性形とする見方からすれば、表題の如き結核菌検査上の疑問にもよく解答が與へられる。

結核菌に及ぼすストレプトマイシン影響、特に その易染性形の変化に就て

兒 玉 得

(本稿の要旨は結核病学会近畿地方會に於て述べた。尙整形外科学雑誌に発表の予定である。)

流注膿瘍中の結核菌がストレプトマイシンの作用に依つて如何なる影響を蒙るか、主としてその形態及び染色性の変化を追求した。

(1) Slide culture method を用ひて、結核菌を塗抹した載物硝子をキルヒナー培養基中に浸して4日間培養した後、ストレプトマイシン(830~3300r)を含有する同培養基に移して6日間培養した。

テール・ハイデンハイン染色法(植田)で染色するに、易染性形中の易染性物質は2乃至4個の大小不同のある顆粒と成つて並び、時には顆粒以外の部分は淡く赤染するものもある。

(2) 被覆硝子培養法を利用して、上記同様6日間培養した場合(ストレプトマイシン210~3300r)も亦略々類似した所見を得た。

(3) ストレプトマイシン治療を続けた患者の流注膿瘍中の易染性形も亦、略々上記同様の形態染色性の変化を起した。

即ちストレプトマイシンの影響によつて、結核菌の抗酸性の形には殆んどその形、染色性に変化を見ないが、易染性の形は顯著な影響を蒙り、易染性物質は急ぎ凝縮して顆粒状と成る。此様な顆粒は時日の経過とともに抗酸性の顆粒に変化した。此様な時期の菌は卵培養基に移植しても、も早發育しなかつた。此事は他の面から見れば、易染性物質を持つた形態こそ結核菌の發育形であるとする考へ方を裏書きするものとも見られる。