鶏胎加培地ニ於ケル諸種嫌氣性菌 (特ニ がす壞疽菌) ノ培養ニ關スル研究

第 2 編 鶏胎加培地ニ於ケル 毒素產生試験

京都帝國大學醫學部微生物學教室 (主任 木村教授)

醫 學 士 新 川 久 良

Hisayosi Niikawa

(昭和14年3月11日受付)

【内 容 抄 録】

鶏胎加培地ニうえるし氏菌其他がす壞疽菌ヲ移植シテ毒素產生ノ模様ヲ檢スルニ鶏胎加ふいよんニ於テうえるし氏菌ハ培養時間ノ進ムト共ニ急速ニソノ毒素ハ減弱シ鶏胎加肝々ふいよん及ビ感染鶏胎加肝々ふいよんニ於テハうえるし氏菌及ビひすととりちつくす菌ハ肝々ふいよんニ於ケルヨリモ強キ毒素ヲ產出スルコトヲ觀タ。

目 次

第1章 鶏胎加ふいよんニ於ケル <u>うえるし</u> 氏菌ノ毒素產生實驗	2. ひすととりちつくす菌ニ於ケル實驗
第1節 實驗材料及ビ實驗方法	第3節 小 括
第2節 實驗成績	第3章 感染鶏胎加肝々ふいよんニ於ケル毒素產生實驗
1. まうす靜脈内注射ニヨル毒力試験	第1節 實驗材料及ビ實驗方法
2. 溶血毒試験	第2節 實驗成績
第3節 小 括	1. <u>うえるし</u> 氏菌ニ於ケル實驗
第2章 鶏胎加肝々ふいよんニ於ケル毒素產生實驗	2. ひすととりちつくす菌ニ於ケル實驗
第1節 實驗材料及ビ實驗方法	第3節 小 括
第2節 實驗成績	總括並ニ結論
1. <u>うえるし</u> 氏菌ニ於ケル實驗	文 献

緒 論

前篇ニ於テ鶏胎加培地ニ種々嫌氣性菌ガ極メテ良ク増殖シ、且ツ本培地ヲ通過スル時ハがす壞疽菌ハ著明ニソノ毒素產生能力ヲ増強スルコトヲ述ベタノデアルガ著者ハ本篇ニ於テハ

更ニ進ンデ本培地ニ於テ毒素產生狀態ガ如何ナルカヲ檢索シタ。新鮮ナル組織特ニ當該菌ヲ以テ感染セシメタル筋肉ヲ培地ニ添加スル時ニうゑるし氏菌ノ毒素產生ハ高マルコトハ夙ニ指摘セラレテオルノデアルガ、三田氏ノ研究ニヨレバ必ずとりちつくす菌ニ於テハ新鮮ナル肉ヲ培地ニ加フル時ハ培養時間ノ進ムト共ニ肝々ぶいよんヨリハ反ツテ急速ニ毒素ガ破壊セラレルト云フ。余ハ既ニ東京醫事新誌ニ發表セル小著ニ於テ鶏胎心臓並ニ脾臓組織ニ對シテうゑるし氏菌及ビ必ずとりちつくす菌毒素ガ顯著ナル發育阻止作用ヲ發現スルコトヲ觀又後ニ發表スベキ小論文ニ於テ之等毒素ノ雛雞ニ對スル著明ナル毒性ヲ觀タノデ、之等一連ノ論文ニ關聯シテ鶏胎加培地ニ於ケル毒素產生ヲ檢シタノデアル。

第 I 章 鶏胎加ぶいよんニ於ケル うゑるし氏 菌ノ毒素產生實驗

第 I 節 實驗材料及ビ實驗方法

使用菌株ハ第 1 篇ト同一デアル。

鶏胎加ぶいよんハ直徑 3cm ノ試験管ニ 60cc ノ普通ぶいよん（照内べふとん）ヲ注ギコレニ少量ノ炭酸カルシウムヲ加ヘテ流動ばらふいんヲ 2cm 高ニ上層シテあうとくらふニテ滅菌セルモノ 12 本ヲ作り、コレニ孵化 12 日目ノ鶏胎ヲ無菌的ニ約 15% ノ割ニ添加シテ製シタモノデアル。本培地ハ豫メ 37°C ニ 1 晝夜置キテソノ無菌的ナルコトヲ確カメテ後肝々ぶいよんニ移植 18 時間培養ノ前記菌株ヲびべつとヲ用ヒテ移植シタモノデアル。實驗ハ 37°C ニ培養 6 時間、12 時間、18 時間、24 時間、36 時間、48 時間毎ニ各 2 本宛ヲ取り出シテざいつ氏濾過器ニテ菌體ヲ除去シテ濾液ヲ 18g 内外ノ南京鼠ノ尾靜脈内ニ注射シテ毒力ヲ檢シ、又同一濾液ニツキテ PH7.0 ニ修正シテ家兎血球ニ對スル溶血反應ヲ檢シタ。

尙對照トシテハ 60cc ノぶいよんニ 10 分間煮沸硬化シテ細カク切りタル牛肝片ヲ 20% ノ割合ニ加ヘ少量ノ炭酸カルシウムヲ加ヘ更ニ流動ばらふいんヲ 2cm 重層シテあうとくらふニテ 110°C 30 分間滅菌セル肝々ぶいよんヲ用ヒタ。

第 2 節 實驗成績

1. まうす靜脈内注射ニヨル毒力試験

鶏胎加培地ニ於テハ培養 6 時間ニ於テ最も高キ毒性ヲ示シ、ソノ D.L.M. 0.05 デアツタガ、12 時間ニ於テハ D.L.M. = 0.1 ニ減弱シ、18 時間ニテハ 0.3、24 時間ニテハ 0.5 デアツタ。尙 36 時間ト 48 時間ニテハ 0.5cc ヲ注射スルモ、まうすヲ斃死セシメ得ナカツタ。肝々ぶいよんニ於テハ 6 時間及 12 時間ニテハ 0.3 デアツタガ 18 時間及ビ 24 時間ニテハ 0.05 デアツタ。又 36 時間

培養ニ於テハ0.1ニ減弱シテキタ。コレヲ簡單ノ爲ニ表示スレバ次表ノ如クデアル。

第 1 表 鶏胎加ぶいよんニ於ケル毒素產生

培養時間 \ 注射量	PH	0.5	0.3	0.1	0.05	0.02	0.01
6 時 間	6.8	+3	+3	+6	+12	—	—
		+3	+3	+12	+24	—	—
		+2	+3	+12	+36	+36	—
12 時 間	6.4	+3	+6	+12	—	—	—
		+3	+6	+24	+24	—	—
		+6	+6	+24	+48	—	—
18 時 間	6.2	+6	+6	—	—	—	—
		+6	+12	—	—	—	—
		+12	+24	+24	—	—	—
24 時 間	6.2	+12	+24	—	—	—	—
		+12	—	—	—	—	—
		+24	—	—	—	—	—
36 時 間	6.2	—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—
48 時 間	6.1	—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—

備 考 +n……n ハ斃死セル時間ヲ示シタ。

第 2 表 肝々ぶいよんニ於ケル毒素產生

培養時間 \ 注射量	PH	0.5	0.3	0.1	0.05	0.02	0.01
6 時 間	7.0	+6	+24	—	—	—	—
		+12	+24	—	—	—	—
		+12	+24	+36	—	—	—
12 時 間	6.8	+6	+12	—	—	—	—
		+6	+12	+24	—	—	—
		+12	+24	+24	—	—	—
18 時 間	6.2	+3	+3	+6	+6	—	—
		+3	+3	+6	+24	—	—
		+3	+6	+24	+24	+36	—
24 時 間	6.2	+1	+3	+6	+12	—	—
		+3	+3	+6	+24	—	—
		+3	+3	+12	+24	+24	—

培養時間	注射量	PH	0.5	0.3	0.1	0.05	0.02	0.01
36 時 間	6.1		+ 8	+ 9	+ 12	-	-	-
			+ 8	+ 12	+ 24	+ 24	-	-
			+ 8	+ 12	+ 24	+ 36	-	-

備 考 第1表ニ同ジ。

2. 溶 血 毒 試 験

濾液ヲ2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24倍ニ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋シテ2%家兎血球浮游液トノ間ニ溶血反應ヲ行フニ鶏胎加ふいよん濾液ニテハ6時間培養ニテハ4倍マデ12時間18時間ニテハ各3倍迄又, 24時間36時間及ビ48時間ニテハ各2倍マデ完全溶血ヲ示シタ。肝々ぶいよん濾液ニテハ6時間培養ニテハ4倍迄12時間培養ニテハ6倍迄18時間ニテハ8倍迄24時間ニテハ6倍迄, 36時間ニテハ4倍迄完全溶血ヲ示シタ。

第 3 表 溶 血 毒 試 験

	培養時間	稀釋倍數								
		1	2	3	4	6	8	12	16	24
鶏胎加ふいよん	6	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	-
	12	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
	18	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-
	24	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-
	36	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-
	48	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-
肝々ぶいよん	6	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	+	±
	18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
	24	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
	36	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	-

第 3 節 小 括

私ハ既ニ前篇ニ述ベタル如クうゑるし氏菌ガ鶏胎加ふいよんニ極メテ旺盛ナル増殖ヲ營ムニ鑑ミ本培地ニ於ケル毒素產生モ相當強度ナラント秘カニ期待シテ居ツタノデアアルガ實驗ノ結果ハ案ニ相違シテ培養短時間ニ就テハ即チ6時間及ビ12時間培養ニ於テハ肝々ぶいよんニ優ル毒素產生ヲ觀タノデアアルガ培養時間ノ進ムト共ニ毒素ハ急激ニ減弱シテ來ルノヲ觀タ。之ニ反シテ肝々ぶいよんニ於テハ18時間及ビ24時間ニ於テ毒素ハソノ最高値ヲ示シタノデアアルツタ。斯ノ如ク鶏胎加ふいよんニテ培養短時間ニ於テ毒素產生力旺盛ナルニ拘ラズ培養時間ノ進ムト共ニ急激ニ減弱スルハ如何ナル理由ニ基クカハ將來更ニ研究ヲ要スル。

溶血反應ニ於テモ鶏胎加ぶいよんニテハ培養時間ノ少イモノ即チ6時間ニオイテ完全溶血價ハ大デアツテ培養時間ノ進ムト共ニコレ亦減弱スルノデアル。之ニ反シテ肝々ぶいよんニ於テハ18時間培養ニテ最高値ヲ示シ12時間及ビ24時間ガ之ニ次イダノデアツタ。

溶血毒ハ鶏胎加ぶいよんニ於ケルヨリモ肝々ぶいよんニ於ケル方ガ遙カニ強ク產生サルルノヲ觀タ。

第 2 章 鶏胎加肝々ぶいよんニ於ケル毒素產生實驗

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

使用菌株ハ前章ニオケルト同一デアル。

前章對照ニ使用セル如ク肝々ぶいよんヲ作り2cm流動ばらふいんヲ重層シテ滅菌セルモノニ更ニ孵化12日目ノ鶏胎ヲ無菌的ニ取り出シ、コレヲコマカニ截ツテ10%位ノ割合ニ添加シテ之ニ上記菌株ヲ移植シテ18時間37°Cニオキテ後遠心沈澱シざいつ氏濾過器ニテ濾過シテ濾液ヲ生理的食鹽水ヲ以テ種々ニ稀釋シテ、まうす尾靜脈内ニ注射シテ毒力ヲ檢シタ。

第 2 節 實 驗 成 績

1. うえるし氏菌ニ於ケル實驗成績

まうす靜脈内注射ヲセルニ0.1cc注射セル3匹ハ1時間以内ニ斃死シ、0.05cc注射セルモノハ1匹ハ3時間ニ他ノ2匹ハ12時間以内ニ斃死シタ。又0.02ccヲ注射セルモノ1匹ハ12時間ニテ斃死シ他ノ2匹ハ各24時間及48時間以内ニ斃死シタ。0.01ccヲ注射セルモノハ1匹ハ24時間ニテ斃死シ、他ノ2匹ハ96時間ニ尙全ク健在デアツタ。コレヲ簡單ノ爲ニ表示スレバ次ノ如クデアル。

第 4 表 うえるし氏菌ニオケル實驗成績

斃死時間 注射量	1 時間	3 時間	12 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間
0.1	+						
	+						
	+						
0.05	-	+					
	-	-	+				
	-	-	+				
0.02	-	-	+				
	-	-	-	+			
	-	-	-	-	+		

注射量 \ 斃死時間	1 時間	3 時間	12時間	24時間	48時間	72時間	96時間
0.01	-	-	-	+	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-

2. ひすとりちつくす菌ニ於ケル實驗成績

D. L. M. ハ 0.05 デアツテ 0.2cc ヲ注射セルモノハ 1 時間ニテ斃死シ 0.1cc ヲ注射セルモノハ 1 匹ハ 3 時間ニ他ノ 2 匹ハ 12 時間ニテ斃死シタ。0.05cc 注射セルモノハ 1 匹ハ 12 時間ニ他ノ 2 匹ハ 24 時間以内ニ斃死シタ。0.02cc ヲ注射セル 3 匹ハウチ 1 匹ダケガ 48 時間以内ニ斃死セルノミニシテ他ハ 96 時間ニ到ルモ全ク健在デアツタ。0.01cc デハ斃死セルモノヲ見ナカツタノデアル。對照トシテ鶏胎ヲ添加セザル肝々ぶいよんニテ毒素產生ヲ檢シタルトコロまうすニ對スル D. L. M. = 0.05 デアツテ、上記鶏胎加肝々ぶいよんニ於ケルト異ルトコロガナカツタ。

第 5 表 ひすとりちつくす菌ニ於ケル實驗

注射量 \ 斃死時間	1 時間	3 時間	12時間	24時間	48時間	72時間	96時間
0.2	+						
	+						
	+						
0.1	-	+					
	-	-	+				
	-	-	+				
0.05	-	-	+				
	-	-	-	+			
	-	-	-	+			
0.02	-	-	-	-	+		
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
0.01	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-

第 3 節 小 括

鶏胎ヲ肝々ぶいよんニ添加シタル場合ニ毒素產生ハ如何デアラウカ。此ノ考ヘニヨリ 18 時間培養ヲ以テまうすニ對スル毒力ヲ檢シタルトコロえりし氏菌ニ於テハ、肝々ぶいよんニ

オケルヨリモ稍々強キ毒素產生ヲ示シ D. L. M. = 0.02デアツタ。

ひすとりちつくす菌ニ於テハ、0.05 デアツテ肝々ぶいよんニ於ケルト異ラナカツタノデア
ル。

第 3 章 感染鶏胎加肝々ぶいよんニオケル

毒素產生試験

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

使用菌株ハ前章ト同ジイ。

孵化12日目ノ鶏卵ノ鈍端ヲ沃度丁幾ニテ滅菌シ少孔ヲ穿チテ肝々ぶいよんニ培養18時間ノ
うえるし氏菌及ビひすとりちつくす菌ヲ長キ注射針ヲ以テ0.1 及ビ0.2 宛鶏胎内ニ注射シ孔ヲ
塞ギ孵籠内ニ納ム。前章ニ使用セルガ如キ肝々ぶいよんヲ作りオキ、コレニ前記感染鶏胎ヲ
無菌的ニ添加シテ18時間37°Cノ孵籠ニオキテ後ざいつ氏濾過器ニテ菌體ヲ除去シテ後まうす
靜脈内注射法ニヨリテ毒力ヲ檢シタ。

第 2 節 實 驗 成 績

1. うえるし氏菌ニ於ケル實驗

0.2ccヲ注射セルモノハ12時間ニ鶏卵ハ破裂シテ鶏胎逸脱シ 使用シ得ナカツタ。0.1cc 注射
セルモノニテハ鶏胎ヲ無菌的ニ取り出スニ鶏胎ハ尙生キテキテタダ血管ノ稍々努脹セルヲ認
メタ。

コレガまうすニ對スル D. L. M. = 0.01デアツタ。

第 6 表 うえるし氏菌ニオケル實驗成績

注射量 \ 斃死時間	1 時間	3 時間	12時間	24時間	48時間	72時間	96時間
0.1	+						
	+						
	-	+					
0.05	-	+					
	-	+					
	-	+					
0.02	-	+					
	-	-	+				
	-	-	+				
0.01	-	-	-	+			
	-	-	-	-	+		
	-	-	-	-	+		

注射量 \ 斃死時間	1 時間	3 時間	12時間	24時間	48時間	72時間	96時間
0.05	-	-	-	+	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-

2. ひすとりちくす菌ニ於ケル實驗成績

0.2ccヲ注射セル鶏胎ハ既ニ死ンデキタ。0.1cc注射セル鶏胎ヲ12時間後取り出シテ見ルニ頻死状態ニアリ血管ノ努張著シキヲ認メタ。此ノ場合ニ於ケル毒素產生ハ D. L. M. = 0.1デアツタ。

第 7 表 ひすとりちくす菌ニ於ケル實驗成績

注射量 \ 斃死時間	1 時間	3 時間	12時間	24時間	48時間	72時間	96時間
0.5	+						
	+						
	+						
0.2	+						
	+						
	+						
0.1	-	+					
	-	-	+				
	-	-	-	+			
0.05	-	-	-	+			
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
0.02	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-

第 3 節 小 括

感染鶏胎ヲ肝々ぶいよんニ添加セルニウエるシ氏菌ニ於テハ D. L. M. = 0.01cc ニテ96時間内ニ全部ヨウスヲ斃死セシメ得タ。茲ニ使用セル肝々ぶいよんハ前章ニ於ケル實驗ト同時ニ作ツタモノデアツテ從ツテ對照實驗ハ行ハナカツタ。即チ肝々ぶいよんニオケル毒素產生ガ D. L. M. 0.05 ナルコトヨリ見レバ感染鶏胎加肝々ぶいよんニ於テハ可成リ著明ニ毒素ノ產生ハ増加スルモノデアルト考ヘラレル。

ひすとりちくす菌ニ於テハ毒素產生ハ D. L. M. = 0.1デアツテ寧ロ低下スルヲ認メ

ル。

總 括 並 に 結 論

鶏胎ヲぶいよんニ添加スル場合ニ於テ、本培地内ニ嫌氣性菌ガ極メテ旺盛ニ増殖シ且ツ本培地ヲ通過セシムル時ハ菌ハ急速ニ毒素產生能力ヲ上昇スルコトヲ前篇ニ觀タノデ本篇ニテ本培地ニ於ケル毒素產生ヲ檢シタルニ毒素產生ハ短時間培養ニテハ肝々ぶいよんニオケルヨリモ著シク強力デアルガ、培養時間ノ進ムト共ニ急速ニ減弱スル。恐ラクハ折角生産セラルル毒素ガ破壊サレタデアラウ。此點ニ何等カノ方法ヲ講ジ得レバ更ニ強力ナル毒素ヲ得ラルルノデハナイカト考ヘル。

茲ニ於テ肝々ぶいよんニ鶏胎ヲ加ヘテ、コレニうえるし氏菌ヲ培養スルニソノ毒力ガ強ク D. L. M. = 0.02デアツタ。又ひすとりちつくす菌ニ於テハ、肝々ぶいよんニ於テモ鶏胎加肝々ぶいよんニ於テモ變ラナカツタ。

更ニ感染鶏胎ヲ肝々ぶいよんニ添加シタル場合ニ於テハうえるし氏菌ハ極メテ高イ毒素產生ヲナシ、ソノ値ハ D. L. M. = 0.01デアツテ、肝々ぶいよんニ於ケルヨリモ遙カニ優レテキタ。然ルニひすとりちつくす菌ニ於テハ寧ロ肝々ぶいよんニ於ケルヨリモ低下シテ D. L. M. = 0.1デアツタ。

毒素產生ヘノ鶏胎ノ有スル意義ニ於テハ尙今後實驗ヲ重ネナケレバナラナイ。又うえるし氏菌及ビひすとりちつくす菌ニ對スル意義ヲ正シク把握センガ爲ニハ他ノ嫌氣性諸細菌或ハ好氣性菌ヲ本培地ニ培養ヲ試ミルヲ要スル。

稿ヲ終ルニ臨ミ御指導御校閲ヲ辱フセル恩師木村教授ニ深謝ス。

文 獻

- 1) Tizzoni, Cattani u. Baquis : Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path. 7, 597, 1890.
- 2) Smith : Zbl. f. Bakt. I. Orig. 7, 502, 1890.
- 3) Smith : J. Boston. Soc. Med. Sc. 3, 340, 1899.
- 4) v. Hiber : Zbl. f. Bakt. I. Orig. 25, 593, 1899.
- 5) Tarozzi : ebenda, 38, 619, 1905.
- 6) Wrzosek : W. kl. W. 18, 1268, 1905. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 44, 637, 1907, 53, 476, 1909.
- 7) Noguchi : J. exp. med. 1911, XIV, 99.
- 8) 細谷 : 實驗醫學雜誌, 1卷, 3號, 231, 大15年.
- 9) Frei u. Riedmüller : Zbl. f. Bakt. I. Orig. 119, 282, 1930.
- 10) Chrismann : Z. Hyg. 118, 544, 1936.
- 11) Ganslmayer : Zbl. f. Bakt. I. Orig. 133, 143, 1935.
- 12) Sachs, Ephrussi et Rapkine : C. r. Soc. Biol. 113, 706, 1933.
- 13) 三田 : 實驗醫學雜誌, 17卷, 10號, 1263, 昭8年.
- 14) 新川 : 東京醫事新誌, 3121, 348, 昭14年.
- 15) 新川 : 東京醫事新誌, 3122, 420, 昭14年.
- 16) 新川 : 未發表 (瓦斯壤直ときしんノ雛鶏ニ對スル毒性ニ就テ)