びたみんC加培地ニ於ケル嫌氣性菌 ノ培養ニ就テ

京都帝國大學醫學部微生物學教室 (主任 木村教授)

醫 學 士 澤 井 郁 次 郎

Ikujiro Sawai

(昭和15年9月6日受付)

【内 容 抄 録】

… びたみんC (左旋性あすこるびん酸; 以下略記 V.C) ハぶいよん培地内ニ於テ強力ナル還元能力ヲ呈スルコトヲ識リ, びたみんC加培地ニ於テハ諸種嫌氣性菌ノ好氣の培養可能ニシテ然モ他種培地ニ比シ何等遜色ナキヲ認メ, 併セテ該培地ニ於ケル破傷風菌毒素產生能力ヲ檢索セリ.

目 次

第1章 緒 言	形態學的の性状及ビ芽胞形成
第2章 實驗材料	第5節 V.C加ぶいよんノ時間的の被保存性
第3章 實驗成績	第6節 各種培地ニ於ケル還元能力比較實驗
第1節 V.C加ぶいよんニ於ケル還元能力	第7節 各種培地ニ於ケル發育比較實驗
第1項 實驗方法	第8節 V.C加ぶいよんニ於ケル破傷風菌
第2項 實驗成績	毒素產生實驗
第2節 V.C加ぶいよんニ由ル嫌氣性菌ノ發育	第1項 實驗材料並ニ實驗方法
第1項 好氣の培養	第2項 實驗成績
第2項 ばらふいん重層培養	第4章 總括並ニ考按
第3節 V.C加べふとんニ由ル嫌氣性菌ノ發育	第5章 結 論
第4節 V.C加ぶいよん培養ニ於ケル菌ノ	主要文獻

第 1 章 緒 言

嫌氣性菌ノ培養ニ當リ, 從來種々ノ還元物質特ニ新鮮ナル動物組織片ヲ培地ニ添加シ何レモ好氣的ニ培養セラレタリ. 就中 Tarozzi ノ肝肝ぶいよん或ハ Hibler ノ腦粥ハ今日一般ニ廣ク愛用セラルルモノナリ. 然レドモ當時ソノ作用機轉ニ關シテハ單ニ還元作用ノミヲ以テ説明セラルルニ止マリタルモ, 1921年 Hopkins ニヨリ生體細胞ノ酸化還元機轉ニ重大ナル意義ヲ有スル所謂自己酸化物質即チぐるたちおんヲ分離セラレ而モソノ酸化還元作用ハちす

ていんガ有スルSH基=由來スト謂ハル。細谷氏⁽¹⁾⁽²⁾ハ此ノ學說=基キ液體培地=於テちすていんヲ應用シテ嫌氣性菌ノ好氣の培養法=成功シ嫌氣性菌培養史=貢獻スルトコロアリタリ。更ニ *Frei u. Riedmüller*⁽³⁾ ハ寒天培地=於テ之ヲ追試シ好成績ヲ得タリ。尙 *Tarozzi*⁽⁴⁾, *Adam Wrzosek*⁽⁴⁾ 等ハ植物性組織ヲ液體培地=添加シ夫々好氣の培養ヲ行ヒ得タリト述ベタルモ, *Tarozzi* ハソノ發育ハ時トシテ不定ニシテ發育程度モ亦輕微ナリト謂ヒ, *Adam Wrzosek* ハ佳良ナル成績ヲ收メタリト報告セリ。

更ニ *Avery-Morgan*⁽⁵⁾ ハ果汁ヲ培地=添加シ稍々良好ナル結果ヲ得タルモ, *Bifulco*⁽⁶⁾ ハ不成功=終レリト述ブ。其他種々ノ化學的物質ノ添加=ヨリ此ノ目的=添ハント企テタルモノ少カラズ。然レドモ何レモ一長一短ニシテ未ダ前述ノ培地ノ如ク諸家=利用セラルル=至ラズ。

一般ニ嫌氣性菌培養=際ニ添加スベキ還元物質ハ其ノ還元作用強力ニシテ且ツ培養菌=對シ無毒物質タル=止ラズ, 當該菌=對シ營養素トシテ其ノ發育=好影響ヲ齎スガ如キモノナルヲ理想ナリト考ヘラル。然ルニ V.Cガ強力ナル還元作用ヲ有スル事ハ今日已ニ周知ノ事實ニシテ營=營養素トシテ培養=用ヒ得ベキノミナラズ還元劑トシテ用ヒ得ベキハ何人モ想到セシムルモノナリ。

V.Cノ嫌氣性菌ノ培養=關シテハ既ニ佐多⁽⁷⁾⁽⁸⁾, *Ehrismann*⁽⁹⁾, 中村⁽¹⁰⁾, *Kligler u. Guggenheim*⁽¹¹⁾, 井上⁽¹²⁾⁽¹³⁾, *Patocka, Francois et Ilavsky Zean*⁽¹⁴⁾ ノ諸氏ノ業績アリ。

1936年佐多氏⁽⁷⁾⁽⁸⁾ハ始メテV.Cノ還元性ヲ利シV.C(れどぐそん)ヲ添加シタルぶいよんニテ *Bac. welchii*, *Bac. tetani* ヲ好氣的ニ培養シ *ま*氏ぶいよん及ビ肝片肝臟ぶいよんニ比シ優秀ナル培地タルコトヲ實證シタリ。同年 *Ehrismann*⁽⁹⁾ ハ種々ノ嫌氣性菌ヲV.C(あすこるびん酸)ヲ添加シタル各種ノ液體培地=好氣の條件ノ下ニ數回移植培養ヲ行ヒ良好ナル成績ヲ得タリ, *Kligler*⁽¹¹⁾ 氏等モ亦略々同様ノ成績ヲ認メ更ニ培地ノ酸化還元電位ガ嫌氣性菌ノ發育=重要ナル役割ヲ演ズト報ゼリ。井上氏⁽¹²⁾⁽¹³⁾ ハ邦産びたしめんヲ用ヒV.C添加培地ノ肝ぶいよんニ比シ大體=於テ遜色ナキヲ詳細ニ亘リテ檢討シ之ヲ確認シタリ。*Patocka*⁽¹⁴⁾ 等ハあすこるびん酸ハ嫌氣性菌ノ發育ヲ促進セシメ, ソノ作用ハちすていん同様ニシテ且ツ毒素產生ヲ増強セシムト謂フ。

余ハ曩ニあすこるびん酸ノ結晶ヲ用ヒ, V.C加液體培地=於ケル嫌氣性菌ノ發育ニツキ實驗ヲ試ミ諸家ノ成績ト大體=於テ一致シタル結果ヲ得タリ。茲ニ其ノ概略ヲ報告セン。

第2章 實驗材料

供試菌株ハ *Bac. tetani* (教室株及ビ北研株), *Bac. welchii* (上別府株), *Bac. histolyticus*

(九大株), Bac. botulinus (九大株), Bac. sporogenes (傳研株), Bac. putrificus (傳研株)ノ6種ヲ用ヒ, 何レモ肝肝ぶいよんニ培養保存セリ。

V.C 劑ハ Roche, 左旋性あすこるびん酸結晶ヲ選ビ, 滅菌並ニ培地添加方法ハ凡テ之ヲ前編⁽¹⁵⁾ニ於テ述ベタルヲ以テ省略ス。尙詳細ナル實驗方法ハ其ノ都度之ヲ記スルコトセリ。

第 3 章 實 驗 成 績

第 1 節 V.C加ぶいよんニ於ケル還元能力

第 1 項 實 驗 方 法

内徑約1.2cmヲ有スル同等ノ試験管ニ豫メ滅菌セルぶいよん (PH 7.2) ヲ正確ニ4.4cc宛分注, 之ニ0.1%めちーれん靑水溶液0.1ccヲ添加シ再ビ100°C, 30分間滅菌, 冷却ヲ待チテV.C溶液ノ0.5ccヲ無菌的ニ加ヘ種々ノ濃度ノV.C加ぶいよんヲ得タリ。之ヲ夫々37°C, 室溫暗所(16°—18°C), 及ビ氷室(4°C) 内ニ靜置シめちーれん靑ノ還元度並ニ管底ニ於ケル還元圈境ノ高サヲ測定シ且還元能力ノ消失時間ヲ觀察セリ。尙流動ばらふいん重層ニ由リ空氣ヲ遮斷セル場合ニ於ケル還元能力ヲモ併セ檢索セリ。

第 2 項 實 驗 成 績

其成績ハ第1及ビ第2表ニ示スガ如ク, 好氣的條件ノ下ニ於テハV.Cノ還元作用ハ他ノ化學反應同様, 還元ノ割合ハ作用溫度ニ比例シ且V.C濃度大ナルニ從ヒ著明ナリ。即チ37°Cニ於テハ急速ニ其ノ作用ヲ現シ靜置15乃至24時間後ニハ強度ノ還元作用ヲ示スモ以後比較的短時日ニシテ該作用消失セリ。室溫靜置ニ於テハソノ作用ノ發現比較的緩徐ニシテ還元力前者ニ比シ稍々劣弱ナルモ比較的長時日ソノ能力ヲ保持セルヲ認ム。氷室内ニ於テハ還元力極メテ緩徐且劣弱ニシテ還元圈境前二者ニ比シ低位ニ在リ。然レドモ此レヲ37°Cニ靜置セバ再ビ強度ノ還元力ヲ呈シ強キ脱色度並ニ還元圈境ノ高位ヲ示セリ,

ばらふいん重層ヲ行フ時ハ, 37°C, 室溫, 氷室ノ何レニ靜置スルモ強度ノ還元作用ヲ示シ長期間其ノ能力ヲ保持セリ。

第 1 表 ばらふいん重層セザル場合

V.C濃度		時間的經過	15'	24'	2T	3T	4T	6T	7T	9T	12T
			5.2 ++	5.0 ++	4.8 ++	4.8 ++	4.0 +	—			
0.5%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	5.2 ++	5.0 ++	4.8 ++	4.8 ++	4.0 +	—			
	室溫	"	4.8 ++	4.0 ++	4.0 ++	4.0 ++	4.0 ++	4.0 +	4.0 +	—	—
	氷室	"	3.6 ++	3.2 ++	3.2 ++	2.5 ++	2.5 +	2.2 +			

A.C濃度		時間的經過	15'	24'	2T	3T	4T	6T	7T	9T	12T
0.2%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	4.7 ++	4.8 ++	4.8 ++	4.8 ++	4.6 ++	-			
	室温	"	4.0 ++	3.5 ++	4.2 ++	4.0 ++	4.0 ++	4.0 ++	3.0 +	-	-
	氷室	"	3.0 ++	2.7 ++	1.8 ++	3.2 ++	3.2 ++	3.0 ++	2.0 +	-	
0.1%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	3.8 ++	3.2 ++	2.5 +	2.5 +	-	-			
	室温	"	3.8 ++	3.6 ++	3.2 ++	1.7 ++	2.0 ++	1.5 ±	-		
	氷室	"	3.3 ++	2.8 ++	2.7 ++	2.3 ++	2.0 ++	1.6 ++	1.6 +	0.5 ±	-
0.02%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	2.8 ++	2.5 ++	2.5 +	2.6 ±	-				
	室温	"	2.3 ++	2.1 ++	1.3 ++	1.8 ++	1.2 ++	1.4 +	0.5 +	-	
	氷室	"	3.1 ++	3.0 ++	2.5 ++	2.3 ++	2.3 ++	0.5 ++	0.5 +	-	
0.01%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	3.2 ++	3.0 ++	2.0 +	-					
	室温	"	3.4 ++	2.8 ++	2.5 ++	1.8 ++	1.3 ++	±	-		
	氷室	"	3.0 +	2.3 ++	2.0 ++	1.3 ++	1.3 ++	1.3 ++	-		
0.002%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	3.0 ++	2.6 ++	2.6 +	-					
	室温	"	2.8 ++	2.7 ++	2.2 ++	1.6 ++	1.5 ++	0.6 +	-		
	氷室	"	2.5 +	2.0 +	1.0 ++	0.5 +	-	-			
0.001%	37°C	還元圈境ノ高サ cm 並ニ脱色度	2.1 ++	1.6 ++	-						
	室温	"	2.5 ++	2.1 ++	1.8 ++	1.5 ++	0.8 ++	0.3 ±	-		
	氷室	"	1.8 +	1.6 ±	-						
對 照			-	-	-	-	-	-	-	-	-

備 考 : ++, +, ±, -ハ試験管内ニテめちーれん青ガ還元セラレ青藍ノ色調ノ消失程度ヲ示シ, ++ハ完全ニ還元セラレ淡黃色, 以下順次綠色ヨリ青藍色ニ移行ノ程度ヲ示ス。 -ハ青藍色ヲ示ス。

第 2 表 ばらふいん重層シタル場合

V.C濃度		時間の経過	15'	24'	2T	3T	4T	6T	7T	9T	12T	16T
0.5%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	5.2 H	5.2 H	5.2 H	5.2 H	5.2 H	5.2 H	5.2 H	5.0 H	4.6 +	4.0 H
	室温	"	5.0 H	4.8 H	4.8 H	5.0 H	5.0 H	5.0 H	5.0 H	4.8 H	4.3 H	
	氷室	"	4.8 H	4.6 H	4.6 H	4.6 H	4.6 H	4.5 H	4.5 H	4.5 H	4.5 H	
0.2%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	5.0 H	5.0 H	5.0 H	4.8 H	4.8 H	4.8 H	4.5 H	4.5 H	4.2 +	4.0 H
	室温	"	5.0 H	4.8 H	5.2 H	5.2 H	5.2 H	5.0 H	5.0 H	5.0 H	4.8 H	
	氷室	"	4.0 H	3.6 H	3.5 H	3.6 H	3.6 H	3.3 H	3.3 H	3.0 H	2.8 H	
0.1%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	4.7 H	4.5 H	4.3 H	4.0 H	4.0 H	3.5 H	3.3 H	3.3 H	3.2 +	2.5 H
	室温	"	5.0 H	4.7 H	4.6 H	4.5 H	4.2 H	4.0 H	3.7 H	3.3 H	3.0 H	
	氷室	"	4.2 H	4.2 H	4.0 H	4.0 H	3.5 H	3.3 H	3.3 H	2.7 H	2.7 H	
0.02%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	4.8 H	4.8 H	4.2 H	3.8 H	3.8 H	3.5 H	3.5 H	3.5 H	3.0 +	4.0 H
	室温	"	4.8 H	4.8 H	4.6 H	4.6 H	4.6 H	4.6 H	4.6 H	4.5 H	4.3 H	
	氷室	"	4.6 H	4.0 H	4.0 H	4.0 H	4.0 H	3.7 H	3.5 H	3.3 H	3.3 H	
0.01%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	4.7 H	4.4 H	4.0 H	3.5 H	3.5 H	3.5 H	3.3 H	3.0 +	2.8 +	2.4 H
	室温	"	4.7 H	4.3 H	4.3 H	4.1 H	4.0 H	3.5 H	3.2 H	3.2 H	2.6 H	
	氷室	"	4.0 H	3.5 H	3.2 H	3.0 H	3.0 H	3.0 H	2.5 H	2.2 H	1.5 H	
0.002%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	4.2 H	4.0 H	3.6 H	3.5 H	3.5 H	3.2 H	3.0 H	3.0 H	3.0 +	1.2 H
	室温	"	4.3 H	3.7 H	3.3 H	3.2 H	3.0 H	2.8 H	2.6 H	2.5 H	2.0 H	
	氷室	"	3.3 H	3.0 H	2.6 H	2.2 H	2.2 H	-	-			
0.001%	37°C	還元圈境ノ高さ並ニ脱色度 cm	4.0 H	4.0 H	3.5 H	3.3 H	3.3 H	3.2 H	3.0 H	3.0 H	3.0 +	1.7 H
	室温	"	3.8 H	3.6 H	3.3 H	3.3 H	3.0 H	3.0 H	3.0 H	2.5 H	2.5 H	
	氷室	"	2.8 H	2.4 H	2.0 H	2.0 H	1.5 H	-	-			

備考：第1表ニ同じ。

第2節 V.Cふいよんニ由ル嫌氣性菌ノ發育

第1項 好氣的培養

實驗方法 V.C濃度0.5, 0.2, 0.1, 0.02, 0.01, 0.002%ノぶいよん (PH 7.2) 5.0cc = 嫌氣性菌ノ肝肝ぶいよん37°C24時間培養ノ1白金耳宛ヲ移植, 37°Cノ孵卵器内ニ收メ以テ菌ノ發育狀態ヲ觀察セリ。

實驗成績 第3表ニ示ス如ク, 供試菌種ハ何レモ本培地ニ於テ好氣的条件ノ下ニ極メテ良好ナル發育ヲ示シ, 殊ニ *B. welchii* ハ培養5時間ニシテ既ニ著明ニ, *B. sporogenes*, *B. putrificus* ハ輕度ニ濁濁ヲ認メタリ。而シテ何レノ菌モ培養15乃至24時間ニシテ最大ノ發育ヲ示セリ。尙ソノ發育ハ培地V.Cノ濃度ニヨリ多少ノ相違ヲ認ムルモ一般ニ0.1%以上ノ濃度ニ於テハ肉眼の所見ニハ著變ナク何レモ良好ナル發育ヲ示シ, 0.1%以下ノ濃度ニ於テハ稍々劣レルモ0.02—0.01%ニ於テモ尙發育可能ナリ。0.002%ニ於テモ *B. welchii* ハ中等度ニ, 爾餘ノ菌株ハ僅微ノ發育ヲ示セリ。但シ *B. tetani* ハ0.02%以下ノ濃度ニ於テハ發育シ難シ。

第3表 V.C加ぶいよんニ於ケル發育成績

培地V.C濃度%		0.5	0.2	0.1	0.02	0.01	0.002
供試菌種	時間	濁沈	濁沈	濁沈	濁沈	濁沈	濁沈
<i>B. welchii</i>	5	++ -	++ -	++ -	+ -	+ -	- -
	15	+++ +	+++ +	+++ +	++ +	++ +	± -
	24	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+ -
	48	+++ ++	+++ ++	+++ ++	+++ +	+++ +	++ -
<i>B. botulinus</i>	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	++ +	++ +	++ +	++ +	+ ±	- -
	24	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	± -
	48	++ ++	++ ++	++ +	++ +	++ +	+ -
<i>B. tetani</i>	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	++ +	+ +	+ +	+ +	- -	- -
	24	++ +	++ +	++ +	++ +	- -	- -
	48	++ +	++ +	++ +	++ +	- -	- -
<i>B. sporogenes</i>	5	+ -	+ -	+ -	± -	± -	- -
	15	++ +	++ +	++ +	++ ±	+ ±	- -
	24	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	± -
	48	++ ++	++ +	++ +	++ +	++ +	+ +
<i>B. histolyticus</i>	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	++ +	++ +	++ +	+ ±	+ ±	- -
	24	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	± -
	48	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	± -

培地V.C濃度%		0.5	0.2	0.1	0.02	0.01	0.002
供試菌種	時間	濁濁	沈濁	濁濁	沈濁	濁濁	沈濁
B. putrificus	5	+	-	+	-	+	-
	15	++	+	++	+	++	+
	24	++	+	++	+	++	+
	48	++	++	++	++	++	++

第 2 項 ばらふいん重層培養

ばらふいん重層=ヨリ空氣ヲ遮斷セル場合ハ第4表=見ル如ク、好氣的培養成績=比シ其ノ發育一層速カニシテ、培養5時間=シテ B. welchii, B. tetani ハ何レモ著明ノ濁濁ヲ認メタリ。而シテ其ノ發育ハV.Cヲ添加セザル對照=比シV.C濃度0.01%以上=於テ促進セララルヲ認ム。

第 4 表 ばらふいん重層培養

培地V.C濃度%		0.5	0.2	0.1	0.02	0.01	0.002	對 照
供試菌種	時間	濁濁	沈濁	濁濁	沈濁	濁濁	沈濁	濁濁
B. welchii	5	++	-	++	-	++	-	++
	15	++	+	++	+	++	+	++
	24	++	+	++	+	++	+	++
	48	++	++	++	++	++	++	++
B. tetani	5	++	-	++	-	++	-	++
	15	++	+	++	+	++	+	++
	24	++	+	++	+	++	+	++
	48	++	+	++	+	++	+	++

第 5 表 V.C加べふとん水=於ケル發育成績

培地V.C濃度%		0.5	0.2	0.1	0.02	0.01	0.002
供試菌種	時間	濁濁	沈濁	濁濁	沈濁	濁濁	沈濁
B. welchii	5	±	-	±	-	±	-
	15	++	+	++	+	++	+
	24	++	+	++	+	++	+
	48	++	++	++	++	++	++
B. botulinus	5	-	-	-	-	-	-
	15	+	±	+	±	+	±
	24	+	+	+	+	+	+
	48	++	+	++	+	++	+

培地V.C濃度%		0.5	0.2	0.1	0.02	0.01	0.002
供試菌種	時間	濁濁 沈澱	濁濁 沈澱	濁濁 沈澱	濁濁 沈澱	濁濁 沈澱	濁濁 沈澱
B. tetani	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	+ ±	+ ±	+ ±	± -	- -	- -
	24	+ ±	+ ±	+ ±	+ ±	- -	- -
	48	+ ±	+ +	+ +	+ +	- -	- -
B. sporogenes	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	+ ±	+ ±	+ ±	+ ±	± ±	- -
	24	+ ±	+ ±	+ ±	+ ±	± ±	- -
	48	+ +	+ +	+ +	+ +	+ ±	- -
B. histolyticus	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	+ ±	+ ±	+ ±	± -	± -	- -
	24	+ ±	+ ±	+ ±	+ ±	+ -	- -
	48	+ +	+ +	+ +	+ +	+ ±	- -
B. putrificus	5	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	15	+ ±	+ ±	+ ±	+ -	± -	- -
	24	+ +	+ +	+ +	+ ±	± -	- -
	48	+ +	+ +	+ +	+ +	+ -	- -

第3節 V.C加ふべとんニ由ル嫌氣性菌ノ發育

照肉べとんヲ以テ調製セル1.0%べとん水ニ種々ノ濃度ニV.Cヲ添加シ之ニ嫌氣性菌ヲ移植培養シタルニ、第5表ニ示ス如ク、其發育ハ前述セシふいよん培地ニ於ケル成績ニ比シ劣弱ナルモV.Cノ0.01%以上ノ濃度ニ於テハ好氣的條件ニ於テ發育可能ナル事ヲ知レリ。

第4節 V.Cふいよん培養ニ於ケル菌ノ形態學的性状

及ビ芽胞形成

前節ニ述ベタル6菌株ヲ0.1%ノV.C加ふいよんニ接種シ好氣的ニ37°C、24時間培養ヲ行ヒ發育セル菌ニ就キめちーれん青及ビぐらむ染色標本ヲ作成シ、其ノ形態、配列、ぐらむ染色性ヲ檢鏡ニ肝肝ふいよん培養菌ノ夫レト比較セリ。更ニ別ノ培養試験管ニヨリ芽胞形成狀態ヲ逐日檢鏡觀察セリ。

ソノ結果、何レノ菌モ菌形態正常ニシテ單在セルモノ多ク稀ニ連鎖セルモノヲ認メタルモ長キ連鎖ヲナスモノ無ク菌體ノ膨大型ヲ認メズ。輪廓比較の明瞭ナルモ肝肝ふいよん培養菌ニ比シ染色性不良ト覺シキモノ稍々多數ニ認ム。

尙ぐらむ染色ニテ陽性中少數ノ陰性ノモノヲ認メタリ。

芽胞形成ハ何レモ可能ニシテ肝肝ふいよん同様、48時間培養ニテ何レモ少數ナガラ芽胞ノ存在ヲ認メタリ。但シ *Bac. welchii* = 於テハ培養7日ニテモ芽胞ヲ證明シ得ザリキ。

第5節 V.C加ふいよんノ時間的保存性

實驗方法 豫メ試験管=4.5cc宛分注滅菌シタルふいよん (PH 7.2) =1.0%ノV.C液0.5ccヲ無菌的ニ添加シ調製後直ニ37°Cノ孵卵器内、室温(16—18°C)明所及ビ暗所、氷室(4°C)内ニ夫々保存シ一定期間ヲ經テ之ニ嫌氣性菌ノ肝肝ふいよん24時間培養ノ1白金耳ヲ夫々移植培養ヲ行ヒ以テ菌ノ發育ノ可否ヲ觀察セリ。

實驗成績 第6表ニ示ス如ク、菌種ニヨリ多少ノ相違ヲ認ムルモ培地調製後之ヲ37°Cニ靜置セバ2—3日ニシテ既ニ培養能力消失スルモ室温(16—18°C)ニ於テハ稍々其ノ効力延長セラレ明所ニ保存セル場合8日、暗所ニ於テハ5日ニシテ効力ヲ失ヒタリ。反之氷室内ニ保存セシ培地ハ比較的長期間使用ニ堪ヘ保存後10日以後ニ於テハ其効力稍々劣レルガ如キモ15日後ニ於テ尙菌培養可能ナリキ。

第6表 V.C加ふいよんノ時間的保存性

供試菌株	V.C 濃度	培地保存日數		1	2	3	5	8	10	15	21
		保存場所									
Bac. tetani	0.1%	37°C		++	++	-	-	-	-	-	-
		室温	明所	++	++	++	-	-	-	-	-
			暗所	++	++	++	++	-	-	-	-
		氷室		++	++	++	++	++	++	+	-
Bac. welchii	0.1%	37°C		+++	+++	+++	-	-	-	-	-
		室温	明所	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
			暗所	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
		氷室		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-
Bac. histolyticus	0.1%	37°C		+++	+++	-	-	-	-	-	-
		室温	明所	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
			暗所	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
		氷室		+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-

第6節 各種培地ニ於ケル還元能力比較實驗

供試培地 0.1% V.C加ふいよん、ちすていんふいよん(結晶鹽酸ちすていんニテ調製)、まんといふえる氏硫化曹達ふいよん、肝肝ふいよん(肝片添加2g)ノ4種ヲ用ヒ何レモ所定ノ製法ニヨリ調製シ各試験管=5.0cc宛分注滅菌セリ。各培地ノPHハ7.0トス。

實驗方法 各培地ノ5cc=0.1%めち-れん青溶液ノ0.1ccヲ加ヘ直ニ室温(16—18°C)

靜置シめちーれん青ノ還元度ヲ比較觀察セリ。

實驗成績 第7表=見ル如ク、V.C ぶいよんハめちーれん青添加後還元速度緩徐ニシテ5時間後=於テハ他ノ培地=比シ稍々劣レルモ、以後一定時間以内=於テハちすていんぶいよん或ハ肝肝ぶいよん=比シ優劣ヲ認メ難ク、主氏ぶいよん=比シ稍々優レルガ如シ。

第7節 各種培地=於ケル發育比較實驗

前節=述ベタル各種培地=種々ノ嫌氣性菌ノ肝肝ぶいよん24時間培養ノ1白金耳宛ヲ移植、

第7表 各種培地=於ケル還元能力比較

培地	經過時間	5'	20'	48'	72'
0.1% V.C ぶいよん		++	+++	+++	++
ちすていんぶいよん		+++	+++	++	++
硫化曹達ぶいよん		+++	++	++	++
肝肝ぶいよん		+++	+++	+++	+++

備考 ++, ++ 第1表=同ジ。

37°Cノ孵卵器内=收メ各培地=於ケル菌ノ發育狀態ヲ比較觀察シタルニ、第8表=示ス如ク、0.1%ノV.C添加ぶいよん=於ケル菌發育ハまんといふゑる氏硫化曹達ぶいよん=比シ一般=良好ニシテちすていんぶいよん、

肝肝ぶいよん=對シ何等ノ遜色ヲモ認メズ。

第8表 各種培地=於ケル發育比較

培地種類		0.1% V.C ぶいよん		ちすていんぶいよん		硫化曹達ぶいよん		肝肝ぶいよん	
供試菌種	時間	濁濁	沈澱	濁濁	沈澱	濁濁	沈澱	濁濁	沈澱
B. welchii	15	+++	+	+++	+	+	±	+++	+
	24	+++	+	+++	+	++	+	+++	+
	48	+++	++	+++	+	++	+	+++	++
B. botulinus	15	++	+	++	+	+	-	++	+
	24	++	+	++	+	+	+	++	+
	48	++	+	++	+	+	+	+++	+
B. tetani	15	+	+	++	+	+	-	+	±
	24	++	+	++	+	+	±	++	+
	48	++	+	++	+	+	±	++	+
B. histolyticus	15	++	+	++	+	+	-	++	+
	24	++	+	++	+	+	-	++	+
	48	++	+	++	+	+	-	++	+
B. putrificus	15	++	+	++	+	+	-	+	+
	24	++	+	++	+	+	-	++	+
	48	++	++	++	+	+	-	+++	+

第 8 節 V.C 加ふいよんニ於ケル破傷風菌毒素產生實驗

第 1 項 實驗材料並ニ實驗方法

供試菌株 破傷風菌 (北研株)

直徑約 3cm ノ試験管數本ヲ準備シ之ニふいよん (照内べふとん) (PH 7.2) ヲ夫々 80cc 宛分注滅菌シ、更ニ V.C ヲ 0.1% ノ割合ニ無菌的ニ添加シ内 1 本ノ試験管ニハ更ニ滅菌流動ばらふいんヲ 2cm ノ厚サニ重層セリ。尙別ニ對照トシテばらふいん重層普通ふいよんヲ實驗ニ供シタリ。

上述ノ 3 種ノ培地ニ破傷風菌ノ肝肝ふいよん 48 時間培養液ノ 0.5cc ヲびべつとヲ用ヒテ移植。37°C ニ培養シ 3 日及ビ 9 日後ニ夫々ソノ 1 本宛ヲ取出シ Seitz 濾過器 („EK“ Grösse 3) ヲ以テ菌體ヲ除去シ其ノ濾液ヲ體重 12gr 内外ノ健常ふらんす・まうすノ右大腿部皮下ニ注射シ定型ノ一側性破傷風性痙攣ニ注意シツツ 4 日間生死ヲ觀察セリ。

毒素注射量。濾液ヲ生理的食鹽水ヲ以テ 10^2 , 10^3 , 10^4 ノ如ク十進法ニヨリ稀釋シ夫々ソノ 0.5 及ビ 0.2cc ヲ注射セリ。即チ 10^2 稀釋液ヲ 0.2cc 注射セバ注射毒素量ハ 0.002cc ナリ。

第 2 項 實驗成績

培養 3 日ニ於テハ第 9 表ニ示ス如ク、0.1% V.C 加ふいよんノ好氣的培養或ハ流動ばらふいん重層ヲ行フモ其ノ毒素產生ハばらふいん重層普通ふいよんノ夫レト大差ナク何レモソノ D.L.M ハ 0.0002cc ナリキ。

培養 9 日ニ於テハ對照ノばらふいん重層普通ふいよんノ D.L.M ハ 0.00002cc ナルニ反シ V.C 加ふいよんニ於テハ毒性著明ニ減弱シ、0.002cc ニシテ尙全試獸ヲ斃死セシメ得ズ。蓋シ好氣的條件ノ下ニ於テハ V.C ノ還元能力ノ急速ナル消失ニ伴ヒ菌ノ發育停止ニヨル當然ノ歸結ナリ。ばらふいん重層 V.C 加ふいよんニ於ケルソノ D.L.M ハ 0.0002cc ニシテ 0.00005 及ビ 0.00002cc 注射ニヨリ何レモ試獸 3 頭中 2 頭ノ斃死セルヲ認メタリ。(第 10 表)

第 9 表 V.C 加ふいよんニ於ケル毒素產生 (3 日培養)

	注射毒素量 cc	觀察日數				感染致死動物數 實驗動物數
		1	2	3	4	
	0.005	+				3/8
	0.002	+				3/8

(998)

び타민C加培地=於ケル嫌氣性菌ノ培養ニ就テ

	注射毒索量cc	観察日数				感染致死動物數 實驗動物數
		1	2	3	4	
V.C加ぶいよん	0.0005	+				5/8
		-	+			
		-	+			
	0.0002	-	+			3/3
		-	-	+		
		-	-	+		
	0.00005	-	-	+		1/8
		-	-	-	-	
		-	-	-	-	
ばらふいん重層 V.C加ぶいよん	0.005	+				5/8
		+				
		+				
	0.002	+				5/8
		+				
		+				
	0.0005	+				3/8
		+				
		-	-	+		
	0.0002	-	+			3/3
		-	+			
		-	-	+		
	0.00005	-	+			1/8
		-	-	-	-	
		-	-	-	-	
ばらふいん重層 ぶいよん	0.005	+				3/8
		+				
		+				
	0.002	+				3/8
		+				
		-	+			
	0.0005	+				3/8
		+				
		-	+			
	0.0002	-	+			3/3
		-	-	+		
		-	-	+		

	注 射毒素量cc	観察日数				感染致死動物 数	實驗動物數
		1	2	3	4		
	0.00005	-	-	-	-		9/8
		-	-	-	-		
		-	-	-	-		

備考：＋ハ斃死，－ハ生存ヲ示ス。

第 10 表 V.C加ぶいよん＝於ケル毒素產生（9日培養）

	注 射毒素量cc	観察日数				感染致死動物 数	實驗動物數
		1	2	3	4		
V.C 加ぶいよん	0.002	-	-	+	-		2/8
		-	-	-	-		
		-	-	-	+		
	0.0005	-	-	-	+		1/8
		-	-	-	-		
		-	-	-	-		
	0.0002	-	-	-	-		9/8
		-	-	-	-		
		-	-	-	-		
	0.00005	-	-	-	+		1/8
		-	-	-	-		
ばらふいん重層 V.C 加ぶいよん	0.0002	-	+				3/3
		-	+				
		-	-	+			
	0.00005	-	-	+	+		2/8
		-	-	-	-		
		-	-	-	-		
	0.00002	-	-	-	+		2/8
		-	-	-	+		
		-	-	-	-		
	0.000005	-	-	-	-		9/8
		-	-	-	-		
	0.000002	-	-	-	-		9/8
		-	-	-	-		
		-	-	-	-		

(1000)

びたみんC加培地＝於ケル嫌氣性菌ノ培養＝就テ

	注射毒素量cc	観察日數				感染致死動物數 實驗動物數
		1	2	3	4	
ばらふいん重層 ぶいよん	0.0002	—	+			3/8
		—	+			
		—	+			
	0.00005	—	+			3/8
		—	+			
		—	—	+		
	0.00002	—	—	+		3/3
		—	—	+		
		—	—	+		
	0.000005	—	+	—	—	1/8
		—	—	—	—	
		—	—	—	—	
	0.000002	—	—	—	—	0/8
		—	—	—	—	
		—	—	—	—	

備考：第9表＝同ジ。

第4章 總括並ニ考按

以上ノ實驗成績ニ就キ之ヲ總括考按スルニ、

1) 培地中ノ酸素ニ對スル還元作用ノ標示藥トシテめちーれん青ノ好適ナルハ Smith, Gates⁽¹⁶⁾ 等ニヨリ認メラレ諸家ノ廣ク利用セラルトコロナリ。余モめちーれん青ヲ標示藥トシテぶいよん培地ニ於ケルV.C(左旋性アスコルビン酸)ノ還元力ヲ檢シタルニ、ソノ作用ハ培地中ノV.C量及ビ作用溫度ニ比例スルモ消失速度ハ溫度高キ程速カナリ。即チ37°Cニ於テハ速カニ還元作用ヲ現スモ短時間ニシテソノ作用ヲ消失ス。室溫(16—18°C)ニテハ比較的長時間還元能力ヲ保持シ、氷室内ニ於テハ還元速度緩徐ニシテ且其ノ程度前二者ニ比シ劣レルモ之ヲ37°Cニ放置セバ再ビ強力ナル還元作用ヲ示セリ。尙ばらふいん重層ニヨリ空氣ヲ遮斷スレバ一層著明ナリ。

2) 各種ノ嫌氣性菌ヲV.Cヲ添加シタルぶいよん培地ニ接種シ、好氣的培養ヲ行ヒタルニ、何レモ良好ナル發育ヲ示シ培養15乃至24時間ニシテ最大ノ發育ヲ認ム、而シテV.C濃度0.1%以上ニ於テ特ニ顯著ナル發育ヲ認ムルモ0.01%ニテモ尙發育可能ニシテ0.002%ニ於テモ亦僅微ナガラ發育ヲ認メ得タリ。但シ破傷風菌ノミハ0.02%以下ノ濃度ニ於テハ發育シ得ズ。ばらふいん重層セル場合ハ發育一層著明ナリ。

べふとん培地ニ於テハ其ノ發育狀態前者ニ比シ稍々劣ルモ何レノ菌モ發育可能ナリ。

上述ノ余ノ成績ハ嫌氣性菌ノ發育可能ナルベキ培地V.C濃度ノ限界ニ關シテハ佐多⁽⁷⁾、井上⁽¹²⁾氏等ノ夫レト稍々懸隔ヲ示ス。例ヘバ佐多氏ハ破傷風菌ハれどきそ⁽¹⁾ノ0.04%ニテ、がすぶらんと菌ハ0.02%ニテ既ニ發育ヲ認メズト報ズ。之レ恐ラク供試V.C劑ノ還元力ノ相違ニ因ルトコロ大ナラント考フ。横山氏⁽¹⁷⁾ハ市販V.C劑ノ還元力ヲ比較シ、一般ニV.Cノ結晶劑ハ水溶あんぶれ入ニ比シ還元能力強ク水溶劑ニ比シ8—16倍ノ還元能力ヲ有スト謂フ。

3) V.C加ふいよん24時間培養ノ菌ハ肝肝ふいよん培養菌ニ比シ形態學的ニ著變ナク、僅カニ染色性ニ於テ稍々不良ノ嫌ヒヲ認ムルノミ。芽胞ノ形成モ亦可能ニシテ供試菌種ハうえるし菌ヲ除キ何レモ培養48時間ニシテ少數ナガラ芽胞形成ヲ認メタリ。芽胞形成ニ關シ井上⁽¹³⁾、Ekrismann⁽⁹⁾ハ多少遷延セラルルノ傾向ヲ認メ、中村氏⁽¹⁰⁾ハ反對ニ破傷風菌ハ早期ニ之ヲ認メタリト報ジタルモ、余ハ肝肝ふいよんニ比シ差異ヲ認メ得ザリキ。

4) V.C加ふいよん培地ノ保存能力ヲ檢スルニ、ソノ0.1%添加ニ於テハ氷室内ニ保存シタルモノハ比較的長期間使用ニ堪ヘ約2週間保存可能ニシテ室溫暗所ハ約5日間可能^{明所ニ於テハ3日}、37°Cノ孵卵器内ニ於テハ速カニ其ノ能力ヲ消失ス。勿論添加V.C量ニヨリ保存能力ニ増減ヲ來スハ言フ俟タズ。

5) 肝肝ふいよん、ちすていんふいよん、硫化曹達ふいよんと還元能力並ニ菌ノ發育狀態ヲ比較スルニ、V.Cノ0.1%添加培地ニ於テハめちーれん青添加後一定時間ハ還元能力上述ノ3種ニ比シ稍々劣レルモソノ以後ハ何レモ大差ナク硫化曹達ふいよんニ比シ稍々勝ル。菌ノ發育成績モ亦還元能力ニ大體ニ於テ一致シ硫化曹達ふいよんニ優リ、肝肝ふいよん、ちすていんふいよんニ比シ遜色ヲ認メズ。

6) 毒素產生ニ關シテハ、杉原氏⁽¹⁸⁾ハ培地ニV.Cノ添加ハちふてりあ菌毒素產生ヲ抑制スルモノニ非ズシテ寧ロ鼓舞スルモノニシテ強力毒素ヲ得ンニハ一定量ノV.Cノ添加ヲ要スト説キ、Patočka, Francois⁽¹⁴⁾等ハ嫌氣性菌ノ毒素產生能力ヲ上昇セシムト報ズ。余ハV.C加ふいよん培養ニ於ケル破傷風菌毒素產生狀態ヲ檢シタルニ、3日培養ニ於テハばらふいん重層ノ有無ニ關係ナクV.Cヲ添加セザル普通ふいよん同様何レモソノD.L.Mハ0.0002ナリ。

更ニ9日培養ニ於テハV.Cヲ添加セザルばらふいん重層ふいよん培養濾液ノD.L.Mハ0.00002ナルニ反シV.C加ふいよんニ於ケル夫レハ0.0002ニシテ一見スレバ毒素產生ヲ抑制セシムルガ如キモ之ヲ仔細ニ觀察セバ毒素注射量0.00005及ビ0.00002ccニ於テモ試獸3頭中ノ2頭ハ完全ニ致死セシメ得ルモノニシテ、其毒力ノ差ハ僅微ナリト言ヒ得。但シ余ノ成績ニ徴スレバ、少クトモV.Cハ破傷風菌毒素產生ニ好影響アリトハ斷ジ得ズ。

- 1) ビタミンC(左旋性アスコルビン酸)ハぶいよん培地内ニ於テ強力ナル還元能力ヲ示ス。
- 2) ビタミンCハ嫌氣性菌ノ發育ヲ促進セシメ、且好氣的條件ニ於テ培養可能ニシテ而モ微量ノ添加ニテモ培養シ得。
- 3) ビタミンC添加ぶいよんノ24時間培養ノ菌ノ形態、配列、染色性、芽胞形成等ハ肝々ぶいよん培養ニ比シ著差ヲ認メズ。
- 4) ビタミンC添加培地ヲ氷室内ニ保存セバ相當期間使用シ得。
- 5) ビタミンC添加ぶいよんハ肝々ぶいよん、ちすていんぶいよんニ比シ菌發育上優劣ヲ付シ難シ。
- 6) ビタミンCハ破傷風菌ノ毒素產生ニ好影響ヲ及ボストハ云ヒ難シ。

摘筆ニ臨ミ終始御懇切ナル御指導ト御校閲ヲ賜リタル恩師木村教授ニ満腔ノ謝意ヲ表ス。

主 要 文 献

- 1) 細谷; 實驗醫學雜誌, 第10卷, 第3號, 231頁, 大正15年.
- 2) 細谷; 日新醫學, 第16卷, 第9號, 1539頁, 大正15年.
- 3) Frei u. Riedmüller; ZbL. f. Bakt., Orig. Bd. 119, S. 282, 1930/31.
- 4) Wrzosek; ZbL. f. Bakt., Orig. Bd. 43, S. 17, 1907.
- 5) Avery, Morgan; J. of Exp. Med., Vol. 39, P. 289, 1924.
- 6) Bifulco; ZbL. f. Bakt., I. Abt., Referate, Bd. 89, S. 182, 1928.
- 7) 佐多; 日微生物誌, 第30卷, 第2號, 232頁, 昭和11年.
- 8) 佐多; 兒科雜誌, 會報, 第433號, 915頁, 昭和11年.
- 9) Ehrismann; Zeitschr. f. Hyg. u. Inf-Kht., Bd. 118, S. 544, 1936.
- 10) 中村; 千葉醫學誌, 第16卷, 第3號, 623頁, 昭和13年.
- 11) Kligler & Guggenheim; J. Bact., Vol. 35, P. 141, 1938.
- 12) 井上; 十全會雜誌, 第44卷, 第1號, 67頁, 昭和14年.
- 13) 井上; 十全會雜誌, 第44卷, 第5號, 1449頁, 昭和14年.
- 14) Patocka, Francola et Hlavsky Zean; Ann. Inst. Pasteur., 62, 296, 1939. ZbL. f. Bakt., I. Abt., Referate, Bd. 134, S. 142, 1939.
- 15) 澤井; 日微生物誌, 第34卷, 第12號, 967頁, 昭和15年.
- 16) Smith, Gates & Ohitsky; J. of Exp. Med., Vol. 33, P. 51, 1921.
- 17) 横山; 細菌學雜誌, 第508號, 395頁, 昭和13年.
- 18) 杉原; 日本醫科大學雜誌, 第10卷, 第3號, 533頁, 昭和14年.
- 19) Zeissler; Kolle u. Wassermann, II. Aufl., S. 46, 1930.
- 20) 佐々木; 嫌氣性細菌學.
- 21) Manteufel; ZbL. f. Bakt., Orig. Bd. 89, S. 248, 1922.