びたみんB₁及ビC加培地ニ於ケル嫌 氣性菌ノ培養

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11月26日受付)

【内 容 抄 録】

びたみんC加ふいよんニ於ケル嫌氣性菌ノ好氣的培養ニ際シ、びたみんB₁ノ一定量ヲ追加セバ、該菌ノ發育ヲ促進セシメ培地還元能力モ僅微ナガラ増強セシムルヲ認メ、併テ破傷風菌毒素產生ニ及ボス影響ヲ檢セリ。

目 次

第1章 緒 言	ル嫌氣性菌ノ好氣的培養成績
第2章 實驗材料並ニ實驗方法	第3節 びたみん混合培地ノ還元能力
第1節 實驗材料	第4節 V.B ₁ 及ビV.C加ふいよんニ於ケル
第2節 實驗方法	破傷風菌毒素產生試験
第3章 實驗成績	第4章 總括並ニ考按
第1節 V.B ₁ 添加ふいよんニ於ケル發育	第5章 結 論
第2節 V.B ₁ 及ビV.C添加ふいよんニ於ケ	主要文献

第 1 章 緒 言

凡テ生體ガ生命ヲ維持スルニ當リ、蛋白、含水炭素、脂肪、無機鹽類ノ他ニびたみんヲ必要トスルハ既ニ諸家ノ齊シク認ムルヲコロシテ、細菌ノ如キ下等植物ニモ亦其ノ發育上不可缺ノ物質ナリトセラル。然レドモ此點ニ關ンテハ諸家ノ見解未ダ全ク一致セリトハ稱シ得ズ。

今びたみんBト細菌ノ發育ニ關スル文献ヲ見ルニ、遠山氏⁽¹⁾⁽²⁾ハふいよん培地ニおりぎニんヲ添加セバ病原菌ノミナラズ非病原菌ノ増殖良好ナルヲ認メ、Pacini 及ビ Russel⁽³⁾ハちふす菌ニツイテ、Cole 及ビ Lloyd⁽⁴⁾ハ淋菌ニツイテ夫々發育ヲ促進セシムルヲ認メタリ。田中氏⁽⁵⁾ハびたみんBハ普通細菌ノ發育上必須ノ物質ニアラズト述べ、Leitner⁽⁶⁾ハ結核菌培養ニ於テハびたみんB₁ノ一定量ハ菌ノ發育ヲ促進セシムルモ必需的ノモノナラズト謂フ。細谷、黒屋氏⁽⁷⁾ハ月江氏びたみんB中ニ含有セラルル物質ニ由リ諸種細菌ノ發育増殖ヲ促進

セラル、ヲ認メ、更ニ發育上絶對必要トセルモノ並ニ然ラザルモノニ分類セリ。森氏⁽⁸⁾ハ適當ナル濃度ニ於テハ菌ノ發育ヲ促進セシムルノ傾向アリト報ズ。嫌氣性菌ノ發育ニ關シテハ、細谷、黒屋氏⁽⁷⁾ハ破傷風菌、惡性浮腫菌、鳴疽菌ノ發育ヲ促進セシムト述べ、佐々木氏⁽⁹⁾モ亦月江氏ベリベロニ中ノ物質ハ腐敗菌、破傷風菌、副氣腫疽菌ノ減壓培養ニ於テハ顯著ナル發育促進作用アリト報告セリ。要之、び타민Bハ諸種細菌ノ發育上必須ナル物質トハ稱シ難キモ、コノモノノ存在ハ菌ノ發育ヲ促進セシムルガ如シ。

醗酵生體內ニ於ケル各種び타민間ノ相互關係ニ就テハ既ニ多數ノ業績アリ。特ニび타민B₁トCニツイテハ平尾⁽¹⁰⁾ ⁽¹¹⁾ 渡邊⁽¹²⁾ 氏ノ報告アリテ何レモ協調的作用ヲ確認セリ。森氏⁽⁸⁾ハ2種以上ノび타민混加培地ニ於テハ菌ノ發育ハ多クハ阻止的ニ作用セラルト述べ。

余ハ曩ニ⁽¹³⁾ び타민C添加液體培地ニ於テ嫌氣性菌ハ好氣的ニ良好ナル發育ヲ營ムコトヲ知レリ。於茲、更ニ該培地ニび타민B₁ヲ添加セバ嫌氣性菌ノ發育ニ如何ナル影響ヲ及ボスセノナリヤヲ檢索シタルヲ以テ、之ヲ報告セントス。(以下び타민B₁及ビCヲV.B₁V.Cト略記ス)

第2章 實驗材料並ニ實驗方法

第1節 實驗材料

供試菌株 破傷風菌(北研株)、うゑるし氏菌(上別府株)、ひすとりちくす菌及びぼつりぬす菌(何レモ九大株)、すぼろげぬす菌、(傳研株)ふとりふいくす菌ノ6種ニシテ何レモ當教室ニ保存セルモノナリ。

V.C 劑 Roche 製左旋性あすこるびん酸結晶

V.B₁劑 めたぼりんB號(武田)(1.0cc中ニ0.5mgノB₁含有)

供試培養基 普通ぶいよん(PH7.2)ニV.C或ハV.B₁ヲ無菌的ニ種々ノ濃度ニ添加シタルモノニシテ各試験管内容量ヲ正確ニ5.0ccトセリ。

V.Cノ滅菌並ニ添加法ハ凡テ前編⁽¹⁴⁾ニ準ジタリ。

第2節 實驗方法

豫メ供試菌株ヲ肝々ぶいよんニ移植24時間37°Cニ培養セル試験管ヨリ其ノ1白金耳宛ヲ所要び타민添加ぶいよん培地ニ移植、37°Cノ孵卵器内ニ收メ所定時間ニ於ケル菌ノ發育狀態ヲ肉眼的ニ觀察セリ。尙必要ナル實驗方法ハ各條下ニ於テ記述セリ。

第 3 章 實 驗 成 績

第 1 節 V. B₁ 添加ふいよんニ於ケル發育

其成績ハ第 1 表ニ示ス如ク、0.001% = V. B₁ヲ添加シタル培地ニ於テハ諸種嫌氣性菌ヲ好氣的條件ニ於テ發育ヒシメ得ザルモばらふいん重層ニヨリ直接空氣ヲ遮斷シタル場合ハ培養 24 時間後ニ於テ V. B₁ヲ添加セザル對照試驗管ニ比シ其ノ發育旺盛ニシテ 著明ナル濁濁ヲ認メタリ。

第 1 表 V. B₁ 添加ふいよんニ於ケル發育
(V. B₁ 濃度 0.001%)

供 試 菌 種	好 氣 的 培 養				P. 重 層 培 養			
	V. B ₁		對 照		V. B ₁		對 照	
	濁濁	沈澱	濁濁	沈澱	濁濁	沈澱	濁濁	沈澱
Bac. tetani	-	-	-	-	+	±	-	-
Bac. Welchii	-	-	-	-	++	+	++	+
Bac. hist.	-	-	-	-	++	+	+	+
Bac. sporog.	-	-	-	-	++	+	+	±
Bac. putrif.	-	-	-	-	++	+	+	-
Bac. botul.	-	-	-	-	++	±	+	-

註 ++, +, ± 菌ノ發育程度ヲ示シ一ハ菌發育ヲ認メザルモノヲ示ス。(自第 1 表至第 7 表)

第 2 節 V. B₁ 及ビ V. C 添加ふいよんニ

於ケル嫌氣性菌ノ好氣的培養成績

余ハ前編⁽¹²⁾ニ於テ V. C 添加ふいよんニ於テ嫌氣性菌ハ何レモ好氣的培養可能ナルコトヲ認メタリ依テ更ニ V. B₁ヲ 0.001%ノ割合ニ混合添加シタル培地ニ於ケル菌發育狀態ヲ V. C 單獨添加培地ノ夫レトヲ比較觀察シタルニ其成績ハ第 2 表—第 7 表ニ示ス如シ。

第 2 表 破 傷 風 菌

添加 V.	C				B ₁ + C			
	5	15	24	48	5	15	24	48
經過時間								
V.C濃度%								
0.1	-	+	++	++	-	+	++	++
0.02	-	+	++	++	-	+	++	++
0.01	-	-	-	-	-	+	++	++
0.002	-	-	-	-	-	-	-	-
0.001	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0005	-	-	-	-	-	-	-	-

第 3 表 う える し 氏 菌

添加 V.	C				B ₁ + C			
	5	15	24	48	5	15	24	48
經過時間								
V.C濃度%								
0.1	++	++	++	++	++	++	++	++
0.02	+	++	++	++	++	++	++	++
0.01	+	++	++	++	++	++	++	++
0.002	-	±	+	++	+	++	++	++
0.001	-	-	-	-	±	+	+	+
0.0005	-	-	-	-	-	-	-	-

第 4 表 ひすとりちくす菌

添加 V. 經過時間 V.C濃度%	C				B ₁ + C			
	5	15	24	48	5	15	24	48
0.1	—	++	++	++	—	+	++	++
0.02	—	+	++	++	±	++	++	++
0.01	—	+	++	++	—	++	++	++
0.002	—	—	±	±	—	+	++	++
0.001	—	—	—	—	—	±	+	+
0.0005	—	—	—	—	—	—	—	—

第 5 表 すぼろげねす菌

添加 V. 經過時間 V.C濃度%	C				B ₁ + C			
	5	15	24	48	5	15	24	48
0.1	+	++	++	++	+	++	++	++
0.02	±	++	++	++	+	++	++	++
0.01	±	+	++	++	+	++	++	++
0.002	—	—	±	+	±	+	+	+
0.001	—	—	—	—	±	±	+	+
0.0005	—	—	—	—	—	—	—	—

第 6 表 ぼつりぬす菌

添加 V. 經過時間 V.C濃度%	C				B ₁ + C			
	5	15	24	48	5	15	24	48
0.1	—	++	++	++	—	++	++	++
0.02	—	++	++	++	—	++	++	++
0.01	—	+	+	++	—	++	++	++
0.002	—	—	±	+	—	++	++	++
0.001	—	—	—	—	—	—	—	—
0.0005	—	—	—	—	—	—	—	—

第 7 表 ふとりふいくす菌

添加 V. 經過時間 V.C濃度%	C				B ₁ + C			
	5	15	24	48	5	15	24	48
0.1	+	++	++	++	+	++	++	++
0.02	+	++	++	++	+	++	++	++
0.01	—	±	+	++	±	++	++	++
0.002	—	—	±	+	—	—	±	+
0.001	—	—	—	—	—	—	—	—
0.0005	—	—	—	—	—	—	—	—

即チ破傷風菌、うゑるし氏菌、ひすとりちくす菌、すぼろげねす菌ハ何レモ V. C 單獨添加ふいよんニ於テ好氣的ニ發育シ得ザル V. C 濃度ニ於テモ、之ニ V. B₁ヲ混合スレバ更ニ發育可能ナルヲ認ム。ぼつりぬす菌、ふとりふいくす菌ハ V. B₁ヲ混合添加スルモ發育可能ナル可キ最小 V. C 濃度ニハ影響ナキモ、何レモ V. C 單獨添加培地ニ比シソノ發育良好ナルヲ知レリ。

第 3 節 び타민混合培地ノ還元能力

余ハ前節ニ於テ嫌氣性菌ノ好氣的培養ニ際シ V. C ニ更ニ V. B₁ヲ混和セバ一層良好ナル發育ヲ示スコトヲ知レリ。茲ニ於テ V. B₁ノ添加ガ V. C 添加ふいよんニ於ケル培地還元能力ニ如何ナル影響ヲ及ボスモノナリヤヲ檢セントス。

實驗方法 内徑1.2cm ヲ有スル同等ノ試験管ニ種々ノ濃度ニ混合セル V. C 或ハ更ニ 0.001%ノ割合ニ V. B₁ヲ添加シタルふいよん 5.0ccニ滅菌セル 0.1%「めち—れん青」水溶液 0.1ccヲ混シ室温ニ放置シ試験管内ニ於ケル還元度ヲ肉眼的ニ觀察セリ。

實驗成績 第 8 表ニ示ス如ク、V. B₁ (0.001%) 加ふいよんハ室温放置 24 時間ニ於テハ全ク還元力ナク第 2 日ニシテ極僅微ニ脱色セラレタリ。V. C 加ふいよんハ 0.002%ニ於テ室温

放置第2日ニテ辛ウジテ輕度ノ脱色ヲ認ムルモ0.001%以下ノ濃度ニ於テハ全ク其ノ作用ヲ認メ難シ。然ルニ之ニ V. B₁ヲ0.001%ニ添加スレバ0.001%ノ V. C 濃度ニ於テモ尙輕度ノ脱色ヲ認メタリ。而シテ0.0005%ニ於テ第2日ニ僅微ナガラ脱色セラレタルモ V. B₁單獨ノ作用ニ基クモノナラン。

第 8 表

V. C 濃度 %	0.02	0.01	0.002	0.001	0.0005	-
經過日數	I II	I II	I II	I II	I II	I II
添 加 V.	I II	I II	I II	I II	I II	I II
V. C+V. B ₁ (0.001%)	++ ++	++ ++	± +	± +	- ±	
V. C	++ ++	++ ++	- +	- -	- -	
V. B ₁ (0.001%)						- ±

註 表中++, ++, +, ±, -ハめち-れん青ノ脱色程度ヲ示シ, ++ハ完全脱色, 以下順次其ノ程度減少シ-ハ非脱色, 青色ヲ呈ス。

第 4 節 V. B₁及ビ V. C 加ふいよんニ於ケル

破傷風菌毒素產生試験

第9表 V. B₁及ビV. C 添加ふいよん
(好氣的培養)

注 射 毒 素 量	觀 察 日 數				備 考
	1	2	3	4	
0.2×10 ⁻²	+				
	+				
	-	+			
0.5×10 ⁻³	-	+			
	-	+			
	-	+			
0.2×10 ⁻³	+				
	-	-	+	+	
	-	-	-	-	
0.5×10 ⁻⁴	-	-	-	-	生存試験 ハ5日目 ニ斃死セ リ
	-	-	-	+	
	-	-	-	+	
0.2×10 ⁻⁴	-	-	-	-	
	-	-	-	-	
	-	-	-	-	

註 自第9表至第11表表中+ハ斃死,-ハ生存ヲ示ス

實驗方法 豫メ内徑約3cmノ試験管ニ分注滅菌シタルふいよん(PH; 7.0)ニ V. C(0.1%)並ニ V. B₁(0.001%)ヲ無菌的ニ添加シ各管ノ内容ヲ何レモ80.0ccトセリ。而シテ内1本ハ更ニばらふいん重層ヲ行ヒ, 他ハ之ヲ行ハズ。別ニ V. B₁ノミヲ添加シタル試験管ヲモ調製セリ。以上ノ各試験管ニ破傷風菌ノ肝々ふいよん48時間培養液ノ0.5ccヲびへつとヲ用ヒテ移植, 37°C 3日間培養シタル後ざいつ氏濾過器ヲ以テ菌體ヲ除去シ其ノ濾液ヲ體重15g内外ノ健常ふらんすまうすノ右大腿部皮下ニ注射, 定型的症狀ニ注意シツ、4日間其ノ生死ヲ觀察セリ。

實驗成績 普通ふいよん並ニ V. C

加ぶいよん培地ニ於ケル成績ハ既ニ報告スレトコロアリタルヲ以テ之ヲ省略センモ本實驗ハ
上記實驗ニ並行シテ行ヒタルコトヲ附記ス。

ソノ成績ハ第9, 10, 11表ニ示ス如ク, V. C = 更ニ V. B₁ヲ混和スルモ或ハ V. B₁ヲ單
獨添加スルモ破傷風菌毒素產生ニ關シテハ著明ナル影響ヲ認メ難ク, D. L. M. ハ何レモ 0.2×10^{-3} ナリキ。

第10表 V. B₁及ビV. C 添加
ぶいよん(ばらふいん重層)

注 射 毒 素 量	観 察 日 数				備 考
	1	2	3	4	
0.2×10^{-2}	+				
	+				
	+				
0.5×10^{-3}	-	+			
	-	+			
	-	+			
0.2×10^{-3}	-	-	+		
	-	-	-	+	
	-	-	-	+	
0.5×10^{-4}	-	-	-	+	
	-	-	-	-	
	-	-	-	-	
0.2×10^{-4}	-	-	-	-	
	-	-	-	-	
	-	-	-	-	

第11表 V. B₁添加ぶいよん
(ばらふいん重層)

注 射 毒 素 量	観 察 日 数				備 考
	1	2	3	4	
0.2×10^{-2}	+				
	+				
	-	+			
0.5×10^{-3}	-	+			
	-	-	+		
	-	-	-	+	
0.2×10^{-3}	-	-	+		
	-	-	+		
	-	-	-	+	
0.5×10^{-4}	-	-	-	-	凡テノ試 獸ハ6日 目ニ斃死 セリ
	-	-	-	-	
	-	-	-	-	
0.2×10^{-4}	-	-	-	-	
	-	-	-	-	
	-	-	-	-	

第 4 章 總括並ニ考按

以上ノ成績ヲ總括考按スルニ, V. B₁ぶいよんニ於テハ嫌氣性菌ヲ好氣的ニ發育増殖シ得
ザルモ, ばらふいん重層ヲ行ヘバ V. B₁ヲ添加セザル對照ニ比シ著明ナル發育促進作用ヲ認
ム。

更ニ V. B₁ノ一定量ヲ V. C 加ぶいよんニ添加シ好氣的培養ヲ行ヒタルニ, V. C 加ぶい
よんニ於テ最早菌ノ發育シ得ザル V. C 濃度ニ於テモ僅微乍ラ發育ヲ認メ, 而モ該培地ニ於
ケルめちーれん青ニ對スル還元能力ヲ檢スルニ, V. C 加培地ニ比シ稍々増強セラル、ノ傾
向ヲ示セリ。最近森氏⁽⁸⁾ノ報告ンタル, V. C 加ぶいよんニ菌ヲ培養スルニ當リ V. B₁ヲ之
ニ添加セバ V. C ノ消失ヲ幾分減少セシムルノ事實ヲ茲ニ想起シ此間ノ消息ヲ一部窺知シ得

ンカ。

余ノ成績ヲ以テ、培地中ニ於ケル V. B₁及ビ C ノ相互關係ヲ論ジ得ザルモ、V. B₁及ビ C ハ少クトモ抵抗作用ヲ呈セザルモノト斷シ得ベシ。

尙破傷風菌毒素產生ハ培地内ノ V. B₁ニヨリ影響ナキヲ知レリ。

第 5 章 結 論

- 1) ビタミン B₁ハ嫌氣性菌ノ發育ヲ促進セシム。
- 2) ビタミン C 加ぶいよん[※]ニ於ケル好氣的培養ニ際シ、ビタミン B₁ノ一定量ヲ添加セバ其ノ發育一層良好ナリ。
- 3) ビタミン C 加ぶいよんノ還元能力ハビタミン B₁ノ添加ニヨリ增強セラル、ノ傾向ヲ示ス。
- 4) ビタミン B₁ハ破傷風菌ノ毒素產生ニ影響ヲ及ボサズ。

擧筆ニ臨ミ御懇切ナル御指導ト御校閲ヲ賜リタル恩師木村教授ニ滿腔ノ謝意ヲ表ス。

主 要 文 献

- 1) 遠山; 細菌學雜誌, 第226號, 586, 大正3年.
- 2) 遠山; 細菌學雜誌, 第241號, 787, 大正4年.
- 3) Pacini u. Russel; J. Biol. Chem., Vol. 34, R. 43, 1918.
- 4) Cole u. Lloyd; J. Path. Bact. Vol. 21, P. 267, 1917..
- 5) 田中; 京都府立醫大誌, 第67號, 38頁, 大正13年.
- 6) Leitner; Klin. Wschr., Jg. 15, Nr. 6, S. 190, 1936.
- 7) 細谷. 黒屋; 實驗醫學誌, 第8卷, 第2號, 101頁, 大正13年. 實驗醫學誌, 第8卷, 第10號, 905頁, 大正13年.
- 8) 森; 日微生物誌, 第34卷, 第9號, 742頁, 昭和15年.
- 9) 佐々木; 十全會誌, 第36卷, 第5號, 1040頁, 昭和6年.
- 10) 平尾; 大阪醫學會誌, 第36卷, 第5號, 617頁, 昭和12年.
- 11) 平尾; 大阪醫學會誌, 第38卷, 第3號, 525頁, 昭和14年.
- 12) 渡邊; 海軍軍醫會誌(會報), 第27卷, 第3號, 266頁.
- 13) 澤井; 日微生物誌, 第34卷, 第12號, 967頁, 昭和15年.
- 14) 澤井; 日微生物誌, 第34卷, 第12號, 967頁, 昭和15年.