

鞭毛染色ニ關スル知見補遺

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/31151

鞭毛染色ニ關スル知見補遺

(三月二十七日受附)

旅順療病院

黒 井 忠 一
河 島 常 行

目 次

- 一、免疫血清ノ鞭毛媒染トシテノ特異性並ニ胆汁ノ鞭毛媒染性
 - 二、凝集反應ニ對スル鞭毛ノ態度
 - 三、戸田氏鞭毛染色法ニ就テ
 - 四、馬鼻疽菌ノ鞭毛ニ就テ
 - 五、特異免疫血清媒染後ノ冷染法(黒井鞭毛染色新法)ト染色手技ノ變更
 - 六、總 括
- 文 獻・附 圖

緒 言

曩ニ著者ノ一人黒井ハ日本傳染病學會雜誌第二卷十二號、並ニ日本公衆保健協會雜誌第四卷十號ニ、「特異免疫血清ヲ以テ媒染スル鞭毛染色方法」トシテ新鞭毛染色法ヲ報告シ、其染色ハ血清ニ特異性ナルコトヲ附言シタリ、其後鞭毛染色法ノ媒染血清ニ特異性ナル點ニ就キ、數種ノ菌株ト他種血清ノ關係ヲ實驗シ、又鞭毛染色法ニ關スル二三ノ知見ヲ得タルト共ニ、鞭毛染色手技ニ就キ每常巧拙ナク好標本ヲ得ントスルニハ、血清媒染後冷染スルヲ可トシ、且ツ染色手技ニ幾分變更ヲ要スルコトヲ發見シタルヲ以テ、以下目次ノ項目ニ就キ報告セントス。

一、免疫血清ノ鞭毛媒染トシテノ特異性並ニ胆汁ノ鞭毛媒染性

特異免疫血清ヲ以テ媒染スル鞭毛染色法ハ、普通染色方法ニ加フルニ免疫血清ヲ以テ媒染シ、其染色ヲ容易ナラシムルニ過ギザルヲ以テ染色ノ結果ヨリ見ル時ハ、血清ノ特異性ハ之レ比較的ノモノニシテ絶對的ノモノニアラザルコト勿論ナリ、サレバ其特異性ヲ論ズルニ當リテハ、他ノ比較スベキ血清媒染ト同一條件ノ下ニ行ハザルベカラズ。依テ余等ハ一列十枚(一號ヨリ十號マデ)宛二列ノ「オブエクトグラス」ヲ採リ、同ジ番號ノ二枚ノ「オブエクト」ハ總テノ條件(菌ノ塗布、媒染、加温、染色等)ヲ等シクシテ操作シタリ、即チ「オブエクトグラス」上ニ蒸溜水滴ヲ置キ、若キ寒天培養ヲ一列一號、二列一號、一列二號、二列二號……………ノ順ニ塗布シ、自然乾燥ヲ待チ火焰固定シ、一列ニハ其菌ノ免疫血清ヲ、二列ニハ他種菌ノ免疫血清ヲ滴下シ五分ノ後水洗シ、「ツエツトノー」氏媒染劑(單寧酸吐酒石混液)ヲ注ギ加温シ、後水洗シ一度乾燥後チール氏染色又ハ鍍銀法ヲ行ヘリ、加温ノ際二枚ノ「オブエクト」ヲ同時ニ手ヲ以テ把持スルコトハ條件ヲ等シクスルコト困難ナルヲ以テ、硝子棒二本ヲ以テ二個ノ台ノ間ニ橋ヲ作り、此上ニ標本「オブエクト」ヲ置キ下ヨリ一定ノ距離ヲ以テ火焰ニテ加温スルトキハ、同一ノ條件ヲ満足シ、且ツ橋上ニ數組ノ「オブエクト」ヲ置クコトヲ得ルヲ以テ、火焰ノ數多ケレバ多數ノ標本ヲ同時ニ處理スルコトヲ得ベシ。

以上ノ方法ヲ以テ病原性菌トシテハ、「チフス」菌、「バラチフス」A菌、「バラチフス」B菌、「コレラ」菌、綠膿桿菌ニ試ミ、破傷風菌ニ就テハ其培養法ヲ異ニシタルヲ以テ後述スル所アルベシ、而シテ非病原性菌トシテハ枯草菌、大腸菌ニ試ミタリ。今染色標本ノ鮮麗ニシテ、殆ド視野ノ全部ノ菌ニ鞭毛ヲ見ルモノヲ(廿)トシ、視野中過半數ノ菌ニ鞭毛ヲ見ルモノヲ(廿)トシ、視野ヲ探シテ漸ク鞭毛ヲ有スル菌ヲ發見シ得ルモノヲ(十)トシ、標本面ヲ探シテモ鞭毛ヲ發見シ得ザルモノヲ(一)トスレバ第一表ヨリ第五表迄ノ成績ヲ得タリ。

「チフス」菌鞭毛染色表

連 鎖 狀 球 菌	チ フ ス	コ レ ラ	チ フ ス	赤 痢	チ フ ス	パ ラ チ フ ス B	チ フ ス	パ ラ チ フ ス A	チ フ ス	媒 染 血 清 別
一	十	一	卅	一	十	十	卅	卅	卅	一
一	卅	一	卅	一	十	十	卅	十	卅	二
一	卅	十	一	一	一	卅	卅	十	卅	三
十	一	十	一	一	十	一	十	卅	卅	四
一	卅	十	十	一	十	十	十	一	卅	五
一	十	十	卅	一	一	十	卅	一	卅	六
一	卅	十	十	一	一	一	卅	一	卅	七
一	卅	一	卅	一	十	一	十	十	卅	八
一	卅	一	十	十	十	一	一	一	卅	九
一	十	一	十	一	十	十	卅	一	十	一〇
一		一				一		三		卅
五		三				一	五	二	六	卅
一	三	五	四	一	七	四	三	三	一	十
一	九	五	八	一	七	五	九	五	一〇	計
九	一	五	二	九	三	五	一	五	一	數不染

「パラチフス」菌鞭毛染色表

媒染血清別		標本番號									染色數計			不染數	
		一	二	三	四	五	六	七	八	九	一〇	卅	卅		十
チ フ ス	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	一 卅	十 卅		四	六	四 卅	六 卅
パラチフスA	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	十 卅	二	三	四 卅	九 卅	一 卅
パラチフスB	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅	一 卅			二 卅	九 卅	八 卅

[illegible]

第三表 「パラチフスB」菌鞭毛染色表

連鎖狀球菌	パラチフスA	赤痢	パラチフスA
++ 卅	++ ++	- 卅	
+ ++	++ 卅	- +	
+ 卅	- +	- 卅	
+ 卅	+ +	- +	
- +	- 卅	+ ++	
- 卅	- 卅	+ ++	
- -	+ +	- 卅	
+ +	- ++	- +	
+ +	- ++	++ 卅	
- 卅	- +	+ +	
五	三	四	
二	二 三	一 二	
四 四	二 四	三 四	
六 九	四 一〇	四 一〇	
四 一	六	六	

「コレラ」菌鞭毛染色表

煤染血清別					
	一	二	三	四	五
標本番號	一	二	三	四	五
	六	七	八	九	一〇
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
染色數計	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅
不染數	卅	卅	卅	卅	卅
	卅	卅	卅	卅	卅

綠膿菌鞭毛染色表

赤 綠 膿 菌 病		チ 綠 フ 膿 ス 菌		媒染血清別	
—	—	—	+	一	標 本 番 號
—	+	—	—	二	
—	+	—	+	三	
—	—	—	—	四	
—	+	—	—	五	
—	+	+	—	六	
—	+	—	+	七	
—	+	—	+	八	
—	+	—	+	九	
—	—	—	—	一〇	
				卅	染 色 數
	一		一	卅	
	六	一	四	十	
一	七	一	五	計	
一〇	三	九	五	不染數	

綠膿菌	コレラ	綠膿菌	連鎖狀球菌
+	-	+	-
+	-	+	-
+	+	+	-
+	-	+	-
+	-	+	-
+	-	+	-
+	+	+	-
+	-	+	-
+	-	+	-
+	-	+	-
二			
七	二	九	
九	二	九	
一〇	八	一	

即チ第一表ノ「チフス」菌株ニテハ、特異免疫血清ヲ使用セルモノ五十枚中不染數六枚ナルニ對シ、非特異性血清ヲ使用シタルモノ五十枚中三十三枚不染アリ、而シテ染色ハ一般ニ特異性血清使用ノモノハ鮮明ナルモ、非特異性血清使用ハ鮮明ヲ缺ク傾向ヲ有ス。

第二表「バラチフス」A菌株ニテハ、特異免疫血清ノ五十枚中不染數二枚ナルニ對シ、非特異性血清ハ三十二枚ノ不染數アリ。

第三表「バラチフス」B菌株ハ、特異性血清ノ分ハ五十枚中不染數全然無ク、非特異性ニハ二十七枚ノ不染數アリ、即チ本菌株ハ最モ染色シ易キヲ示スモノナリ。

第四表「コレラ」菌株ハ、特異性免疫血清ノ分ノ不染數八枚ナルニ對シ、非特異性ノ不染數四十一枚ニシテ、其染色シタル標本モ卅ノモノ六枚、(廿九枚ニ過ギズ難染性ナルヲ知ルベシ)。

第五表綠膿菌株ハ、四十枚中特異性免疫血清使用ノ分ハ不染數十枚ニシテ、非特異性三十七枚ナルヲ以テ、殆ド染色セズト看做シテ可ナリ。

而シテ本菌株ハ最モ難染性ニシテ(卅ノ好標本ハ全クナク、(廿ニ相當スルモノ四枚ニ過ギズ)。

第六表破傷風菌株ハ培養ノ過程前述ノ方法ニ據ラズシテ、「ブリオオン」培養ニテ極メテ簡單ニ好染色標本ヲ製スルヲ得タルヲ以テ一應記述スベシ。

元來鞭毛染色ニ使用スル菌ハ、寒天培養ヲ本則トシ液體培養ヲ避ク、之レ媒染ニ使用スル單寧酸ト蛋白含有液ト結

合シ、視野ヲ不潔ニスルヲ以テナリ、余等モ此原則ニヨリ最初北里氏嫌氣性培養ヲナサントシタルガ、北里氏培養器ナカリシヲ以テ、平板培養ヲ大ナル水盆上ニ置キタル數段ノ針金製棚ニ置キ、之ヲ大ナル硝子圓筒ヲ以テ被ヘ圓筒内ニ黃磷ヲ入レ、以テ酸素ヲ燃燒スル近藤氏法ヲ試ミシモ、磷燃燒ノ際水滴ヲ飛バシ培養不純トナリ成功セザリシヲ以テ、單ニ葡萄糖「ブリオ」ヲ加熱シテ空氣ヲ除去シ急ニ冷却シ、之ニ破傷風菌ヲ靜ニ試験管壁ニ接シテ培養シ、殺菌流動「バラヒン」ヲ上層ニ置キ、二十四時間培養後、毛細硝子管ヲ以テ、「バラヒン」層ヲ通過シテ培養液ヲ吸出シ、「アルコール」綿ヲ以テ、毛細硝子管ノ外側ニ附着セル「バラヒン」ヲ除去シタル後、「オブエクト」上ニ吹キ出シ之ヨリ白金耳ヲ以テ「オブエクト」ニ塗布シ、乾燥後火焰固定シ、之ヲ十倍破傷風血清(傳研製馬血清)ヲ以テ處理シ、後ニ述ブレ冷染法ノ媒染劑タル石炭酸、單寧酸、明礬混液ヲ以テ冷染四―五分間後、水洗、乾燥シ、鍍銀法ヲ行ヒタルニ極メテ好成績ヲ得タリ、即チ第六表ニ示ス如クニシテ、四十枚ノ標本中特異免疫血清ヲ使用シタルモノノ不染四枚ニシテ、非特異性血清ヲ使用シタルモノハ不染數十八枚ナリ、而シテ破傷風菌ノ鞭毛ニ就テハフリードベルゲル、バイヘル氏ハ兩端ニ多數ヲ有スルコトヲ記シ、コツレ、クラウス、ウーレンフートノ記載ニハ運動弱キモ多數ノ鞭毛ヲ有ストシ、志賀、綿引氏ノ記載モ又數十條アリトシ、シュツルフ氏ハ菌端ニ一條ヲ見タリトシカンターリ、コンネル氏ハ三十條ノ鞭毛ヲ檢シ、ボツテレル氏ハ五十乃至百條ヲ見タリト雖モ、余等ノ染色法ニテハ二乃至三條ノモノ最モ多ク五乃至六條ノモノ又可ナリニ存セリ、而シテ破傷風菌ノ液體培養ハ三日目ニ至ルモ尙鞭毛ヲ染色シ得タルガ、其數少ナク一乃至二條ヲ見ルノミニシテ、一端膨大シ、芽胞形成狀態ヲナスモノアリ、文獻ニ見ル鞭毛數ニ比シ余等ノ染色法ニヨル鞭毛數ノ少ナキハ培養法ノ差ニ依ルモノナルヤモ知ルベカラズ、只余等ノ經驗ニヨリ液體培養「ブリオ」ノ如キ蛋白質含有培養ヨリ直接ニ本方法ニヨリ鮮明ニ鞭毛ヲ染色シ得ルコトヲ報告スルニ止メン、破傷風菌以外ニ「コレラ」菌ノ「ペプトン」水培養ニテモ明ニ鞭毛ヲ染色シ得タリ、「コレラ」菌ハ八時間培養ヲ使用シタリ。

第六表 破傷風菌鞭毛染色表

[illegible]

以上六種ノ病原菌ニ特異免疫血清ト、非特異免疫血清トヲ作用セシメタル、鞭毛染色ノ結果ハ第七表ノ如クニシテ二百八十枚ノ標本中特異免疫血清ヲ使用シタルモノハ、二百五十枚八九・二%ノ染色率ヲ示シ、非特異性免疫血清ヲ使用シタルモノハ九十二枚三二・八%ノ染色率ニ過ギズ、即チ比較的ナルモ特異性ノ存スルヲ認メ得ベシ、而シテ染色標本ノ鮮麗ナルモノハ特異性血清使用ノ標本ニ多ク、非特異性血清使用ノモノハ鮮明ヲ缺キ、特ニ鞭毛周圍ニ混濁多ク鍍銀力弱シ。

菌種別	チフス	パラ A	パラ B	コレラ	綠膿菌	破傷風	標本總數	染色數	染色百分率
特異血清媒染	四四	四八	五〇	四二	三〇	三六	二八〇	二五〇	八九・二
非特異血清媒染	一七	一八	二三	九	三	二二	二八〇	九二	三三・八

表中數字ハ染色數ヲ示シ、綠膿菌、破傷風菌ハ特異性、非特異性各四十枚ノ標本ニシテ其他ハ各五十枚宛ナリ。

第八表 枯草菌鞭毛染色表

第九表 大腸菌鞭毛染色表

更ニ黃疸患者血清ハ大腸菌ヲ凝集スルコトアル事實ヲ考ヘ、大腸菌ヲ固定後牛胆汁ヲ以テ媒染、染色シタルニ、第十表ノ如ク頗ル好成績ヲ得、胆汁媒染ハ好標本ヲ得タルニ反シ、胆汁媒染セザルモノハ染色スルモ視野極メテ不潔ナリ、「バラチフス」B菌ニテモ胆汁媒染ニヨリ染色シ好染色標本ヲ得タルモ、血清媒染ニ比シ鞭毛著シク細シ。而シテ鍍銀法ニヨル染色ハ脱色シ易キ傾向ヲ有シ一ヶ月餘ヲ經過シタル標本ハ判然明視シ得ザルモノアリ。

第十表 胆汁媒染大腸菌鞭毛染色表

胆汁媒染 非胆汁媒染	標 本 番 號										染色 數計	不染 數
	一	二	三	四	五	六	七	八	九	一〇		
胆汁媒染	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	五	卅
非胆汁媒染	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	四	卅
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	一	卅
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	六	卅
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	七	卅
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	一〇	卅
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	三	卅

二、凝集反應ニ對スル鞭毛ノ態度

鞭毛ヲ有スル菌ガ特異免疫血清ニ對スル凝集反應ニ際シ、其鞭毛ハ如何ナル態度ヲナスヤハ興味アル問題ニシテ、其態度ニヨリ凝集反應機轉ノ一部ヲ説明シ得ルニアラザルヤノ考ヘヲ以テ之ヲ試ミタリ。

此現象ヲ明カニ染色スルニハ、最モ染色シ易キ菌種ナルヲ要スルヲ以テ、「バラチフス」B菌ヲ撰ビタリ、而シテ凝集反應ノ各時機ニ於テ鞭毛ヲ染色シ、其像ニヨリテ判斷セント企テ、「オブエクトグラス」上ニ「ビベット」ヲ以テ百倍ノ「バラチフス」B血清一滴ヲ置キ、之ニ「バラチフス」B菌寒天培養ノ「コンデンス・ワツサー」ヨリ一白金耳ヲ採リ靜ニ混ジ、之ヨリ時間的ニ直後、三分、五分、十分、二十分、三十分、一時間（一時間ニ至ルニハ乾燥スルヲ以テ中途食鹽水ヲ大白金耳ニテ補足ス）ト「オブエクト」ニ塗布シ、少シク加温シテ速ニ乾燥セシメ、後十倍ノ免疫血清ヲ以テ處置シ、後ニ述ブル冷染色法ヲ行ヒタリ。

本方法ニテ行ヒタル標本ノ所見ハ、時間ノ短キモノニ於テハ鞭毛ハ甚シク迂曲シ、互ニ錯綜シテ菌體ニ纏絡セントスルノ像アリ、又何等變化ナキ像ヲ呈スルモノアリ、而シテ之等ノ菌ノ集合シタルモノハ菌體間ニ鞭毛ノ叢ヲ夾ミ、凝集ヲ防グル如キ像ヲ呈スルモノアリ、鞭毛ヲ有セザル菌體ハ密接ニ凝集シ群ヲナス、長時間ヲ經タルモノニ在リテハ鞭毛ヲ有セズ其像明カナラズ、凝集反應ニ對スル態度ノ大要ヲ判斷スル能ハズ、之レ菌ノ塗布後加温乾燥シテ自然

ノ状態ヲ變化シタルニアラズヤノ疑アリ、又同一ノ材料ヨリ幾度モ白金耳ヲ以テ材料ヲ採取スルハ、凝集ノ狀ヲ破壊シ鞭毛ヲ損スル理ナルヲ以テ、之等ノ缺點ヲ除キ更ニ試ミタリ、即チ「オプエクトグラス」上ニ百倍血清滴ヲ豫定ノ標本數ニ等シキ數ダケ取り、之ニ一白金耳ノ「コンデンスワツサー」ヲ混ジ、各所定ノ時間ニ達スレバ其一白金耳ヲ靜ニ取りテ、豫メ付ケ置キタル「オプエクトグラス」ノ蒸溜水滴ニ移シ、靜ニ擴ケ塗布シ、後、室温ニテ乾燥シタリ、從テ時間的ニハ標本ノ像ハ所定ノ時間ニ乾燥ニ至ル時間ヲ加ヘタルモノトノ誤差ヲ生ズルモ、自然ノ状態ヲ檢スルヲ得ベシ。

其所見像ハ凝集直後ノモノニアリテハ、菌ノ一群ノ内外ニ鞭毛ヲ見ルモ、三分乃至五分間後ニ於テハ、鞭毛ハ菌群ノ間ニアリテ群ノ外ニ見ルモノ稀ナリ、而シテ一群ト他ノ群トハ鞭毛ニヨリテ連絡シ、恰モ索引スル状態ヲ示スモノアリ、個々ノ菌ニアリテモ鞭毛ハ互ニ纏絡シテ、他ノ菌ノ鞭毛ニ連絡シ索引状態ト認メラルモノ多シ。

十分、二十分ヲ經過シタルモノハ、各菌群ノ間ニ鞭毛ヲ見ルモノ少ナク、一群ノ菌間ニ叢狀ヲ呈ス、三十分、一時間ヲ經過シタルモノハ、全ク菌群ノ外部ニ鞭毛ヲ延バスモノヲ見ズ、全ク菌ト菌トノ間ニ密接ニ凝着ス。

以上ノ所見象ハ鞭毛ハ菌體ト等シク特異免疫血清ニ對シ凝集力ヲ有シ、凝集反應ノ一部ヲ組成スルモノト説明シ得ベク、菌體相互ノ凝集ニ伴ヒ鞭毛ハ互ニ連絡シ、相觸シタルモノハ索引シテ群ヲナシ、菌體間ニ凝集スルモノト認メニ於テ菌體密着スルニ拘ラズ、鞭毛ヲ多ク有スルモノハ菌體間ニ鞭毛ノ叢ヲ作り、密着スル迄ニハ長時間ヲ要スル點ヨリ、寧ロ障害スルニアラズヤト思ハル點アリ。菌體ヨリ分離シタル鞭毛ハ鞭毛ノミ集合シテ凝集スルモノアリ、之等凝集ノ時間ノ經過ニ伴フ變化ノ状態ハ附圖ニ示スガ如シ。

三、戸田氏染色法ニ就テ

奉天醫科大學ノ戸田博士ハ、余ノ鞭毛染色法ノ發表ニ先立チ、馬鼻疽菌ノ研究ヨリ得タル新方法ヲ發表シ、馬鼻疽菌ノ鞭毛ノ有無ヲ論斷セラレタリ、氏ノ方法ハ飽和明礬液、5%、石炭酸、二〇%、單寧酸・「フクシン」飽和「アルコール」溶液ヲ夫々二・五、二・一ノ比ニ使用直前ニ混ジ、濾過シタル液ヲ菌塗布自然乾燥シ、固定セズ直ニ注ギ、一分乃至五分間作用セシメ水洗乾燥スル方法ニシテ極メテ簡單ナリ。

余等モ同方法ヲ試ミ比較スルニ各々一長一短アルヲ知レリ、同氏法ハ方法ノ簡單ナル點ト、染色シタル鞭毛ノ異常ニ太クシテ著明ナル點ニ於テ、余等ノ復試シタル鞭毛染色法中群ヲ抜クモノト云フモ過言ニアラザルガ、方法中染色毎ニ混液ヲ作り濾過セザルベカラザル不便ヨリ、連續的研究方法トシテハ稍不便ノ感アルト共ニ、飽和「フクシン」液ヲ使用スルヲ以テ甚シク器具ヲ汚染ス、而シテ染色ハ每常成功スルモノニアラザルト共ニ、視野ハ「フクシン」附着シ不潔ニシテ、「スメーヤー」中探シテ好染色部ヲ求メザレバ發見スル能ハズ。

余等ノ方法ハ稍複雑ナルモ、一度準備スレバ數日ニ亘リ使用スルコトヲ得ルト共ニ、視野鮮明ニシテ冷染法ニヨレバ殆ド每常染色シ得、然レドモ染色鞭毛ノ細キハ戸田氏法ニ及バザル點ナリ、戸田氏法ニヨル「バラチフス」B菌ト「コレラ」菌トノ染色率ハ第十一表ノ如シ。

第十一表 戸田氏法鞭毛染色表

染色菌種	標本番號										染色數	不染數
	一	二	三	四	五	六	七	八	九	一〇		
バラチフスB	卅	卅	—	—	+	—	—	卅	—	—	二	六
バラチフスB	卅	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	一	四
バラチフスB	卅	—	卅	—	—	+	+	—	—	—	二	六
コレラ	—	+	+	+	—	+	+	卅	+	卅	一	三
コレラ	—	—	—	—	卅	—	—	卅	卅	卅	二	四
コレラ	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	卅	三	六
コレラ	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	卅	五	四
コレラ	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	卅	七	六
コレラ	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	卅	七	四

四、馬鼻疽菌ノ鞭毛ニ就テ

戸田氏ハ前項ノ染色方法ヲ以テ、馬鼻疽菌ノ鞭毛ヲ染色シ、定型のト非定型トニ分類シ其他ノ細菌學の差別ヲ明カニシ、非定型の馬鼻疽菌ニハ鞭毛ヲ有シ其他ハ有セザルコトヲ、微生物學會雜誌第二十二卷第十一號ニ發表セラレタリ、同一菌種ニシテ鞭毛ノ有無ノ差アルハ、其差餘リニ大ナルコトハ戸田氏モ附言セラレタルガ、余等モ又其重大題目ナルヲ感ジ、本病ハ間接的ニ公衆衛生ニ關係シ、其菌種問題ハ將來行政上ノ方針ヲ左右スベキコトアルベキヲ思ヒ之ヲ余ノ方法ニヨリ復試シタリ。

使用シタル菌種ハ、大連滿鐵衛生研究所坂本氏ノ好意ニヨリ、同氏保存ノ北研系、在來系、大連系I、II、IIIノ五種ニシテ、同時ニ其免疫血清ノ分與ヲ受ケ頗ル便宜ヲ得タリ。

其染色ノ結果ハ第十二表ノ如クニシテ、北研系、在來系ハ明カニ鞭毛ヲ有シ、而モ戸田氏ハ單ニ鞭毛ノ有無ヲ報告セラレタルガ、余ノ染色方法ニテハ北研系ハ一菌一條ノ鞭毛ヲ見ルモノ多キニ反シ、在來系ハ周圍ニ數條ノ鞭毛ヲ有シ、北研系ト聊カ其狀ヲ異ニスルヲ發見セリ、大連系ハ表ニ示ス如ク、再度復試シタルモ明カニ鞭毛ト認ムベキモノナク、只第一回ニ大連II系ニ一枚、III系ニ一枚、第二回大連I系ニ一枚ノ鞭毛ニアラザルヤト思ハルモノヲ見タリ、同輩ハ之ヲ鞭毛ナリト斷定セラレタルモ、余ハ未ダ之ヲ鞭毛ナリト主張スル勇氣ナク、現在ノ方法ニ於テハ戸田氏ノ報告ヲ是認シ、北研系鞭毛ト在來系鞭毛ノ狀ニ、差アルコトヲ追加スルニ止メントス。

余等ハ單ニ鞭毛染色ノ復試ニ止マルモ、斯ノ如ク大ナル菌種ニ差アル病原菌ハ、感染機轉、流行ノ狀ニ差ナキモノナリヤ否ヤ、從テ豫防治療方法ハ一樣ニシテ可ナルヤ否ヤ、調査攻究ノ餘地アルコトヲ思フト共ニ本菌ヲ病巢ヨリ分離培養スルニ當リテハ細心ノ注意ヲ要スルコトヲ感ズルモノナリ。

第十二表 馬鼻疽菌鞭毛染色表

染色菌株	標本番號										染色數計				不染數
	一	二	三	四	五	六	七	八	九	一〇	卅	卅一	卅二	卅三	
北研系	卅	+	—	卅	卅	+	+	卅	卅	+	—	三	一	七	三
在來系	卅	+	卅	卅	+	+	+	卅	卅	+	—	二	三	一〇	—
大連I系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連II系	—	—	—	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連III系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連I系	—	—	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連II系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連III系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連I系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連II系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連III系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連I系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連II系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大連III系	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(?) ハ極メテ幽ニ鞭毛ヲシク其狀コレヲ菌鞭毛ニ似テ風曲ノ少ナキモノヲ見タルモノニシテ二乃至三個ヲ見タリ。

五、特異免疫血清媒染後ノ冷染方法並ニ手技上變更事項

特異免疫血清ヲ以テ媒染スル鞭毛染色方法ハ、血清媒染後ツエツトノー氏媒染劑ヲ以テ、媒染スル際ニ加温スルコトハ其程度如何ニヨリ、吐酒石ノ沈着ヲ來シ標本ノ鮮麗ナラザルモノヲ生ズルコトアリ、爲メニ每常好標本ヲ得ルニハ冷染ヲ可トスルノ考ヘヨリ、戸田氏染色法ヨリ「ヒント」ヲ得テ、ツエツトノー氏媒染液ニ代フルニ、五%石炭酸水一〇〇・〇ccニ單寧酸一五・〇ccヲ混ジ、加温溶解シタルモノニ飽和シ明礬液五〇・〇ccヲ混ジタルモノヲ使用、良ク冷染ノ目的ヲ達シ得タリ、即チ火焰固定後十倍乃至二十倍ノ特異免疫血清ヲ以テ五分間處置シ、水洗後媒染液ヲ注ギ四乃至五分間ニシテ水洗シ、乾燥後「アンモニア」銀液ヲ以テ鍍銀法ヲ行フ、此ノ方法ヲ黒井鞭毛染色新法ト稱セントス、本法ニヨレバ舊法ニ比シ遙ニ染色率多ク、「バラチフス」B菌ニテハ殆ド失敗スルコトナク視野極メテ鮮麗ナリ、但シ舊法ニ比シ鞭毛細ク菌體ノ膨大少ナキ缺點アリ。

更ニ染色手技標本作成上既報ノ舊法ニ比シ、變更ヲ加フル點ヲ述ベシニ、舊法ニ於テハ鍍銀法ノ前後ノ水洗ハ蒸溜水ヲ使用スベキコトヲ注意シ、永久標本ヲ作ラントスルトキハ一〇乃至二〇%ノ次亞硫酸「ソーダー」液ヲ以テ處理スベキコトヲ記載シタルガ、其後ノ經驗ニヨリ「アンモニア」銀液ニテ、鍍銀シ徐々ニ加温シ「スメヤー」稍黑色ニ變ズルヲ待チ、標本ヲ傾ケ銀液ヲ捨ツルト同時ニ、次亞硫酸「ソーダー」液ヲ以テ十乃至二十秒間處置シ、後水洗スレバ蒸溜水ヲ使用スルニ及バズ永久標本ヲ得（次亞硫酸「ソーダー」ニテ處理セザレバ漸次ニシテ脱色シ鏡見シ得ザルニ至ル）、而シテ本處置ニヨリ視野脱色シ鞭毛ハ明カトナル、爲メニ細キ鞭毛特ニ「コレラ」菌、綠膿菌等ノ菌株ノ古キ變形狀態ニアルモノハ、本法ニヨリ判然視野ト區別スルコトヲ得、尙永久標本ヲ作ルニ當リ特ニ「カナダバルサム」ニテ封ズルニ及バズ、「ツエーデル」油ニテ鏡見後好標本ナレバ、其上ニ直ニ「デツキクラス」ニテ封ズレバ可ナリ、作成ノ日ハ「デツキガラス」移動スルモ二三日ヲ經過スレバ固定シ、鏡見其他送付等ニ何等ノ支障ヲ認メズ。

六、總括

一、特異免疫血清ノ鞭毛染色ノ媒染劑トシテノ特異性ハ、比較的ニシテ病原性菌「チフス」、「バラチフス」A、B「コレラ」菌、綠膿菌、破傷風菌ノ六種ノ菌ニ付キ、特異免疫血清、非特異免疫血清、各々二百八十枚ノ標本ヲ作り實驗セシニ、前者ハ八九・二%、後者ハ三三・八%ノ染色率ヲ示シタリ。

非病原性菌、枯草菌、大腸菌ニ健康人血清、山羊血清ヲ以テ媒染セルモノハ、血清ノ媒染ニヨリ特ニ認ムル所ナキモ、大腸菌ニ於テハ少シク染色率多シ。

二、黃疸患者血清ハ大腸菌ヲ凝集スル事アルニヨリ、胆汁ヲ大腸菌鞭毛染色ニ媒染セシニ好結果ヲ得タリ。

三、凝集反應ニ對スル鞭毛ノ態度ヲ、「バラチフス」B菌ヲ以テ百倍特異免疫血清ニ混ジ時間的ニ染色検査セシニ、反應ノ直後ニ於テハ菌ノ集群ノ内外ニ見ルモ、三分乃至五分ニ於テハ菌群ノ菌間ニ多ク存シ、且ツ他ノ菌群ノ鞭毛ト

圖 一 第

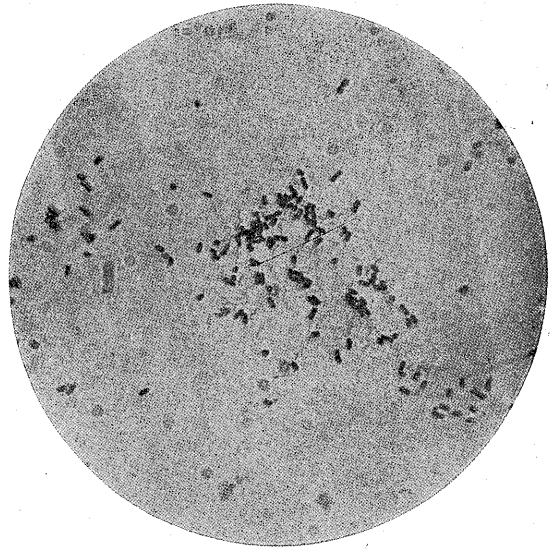


圖 二 第

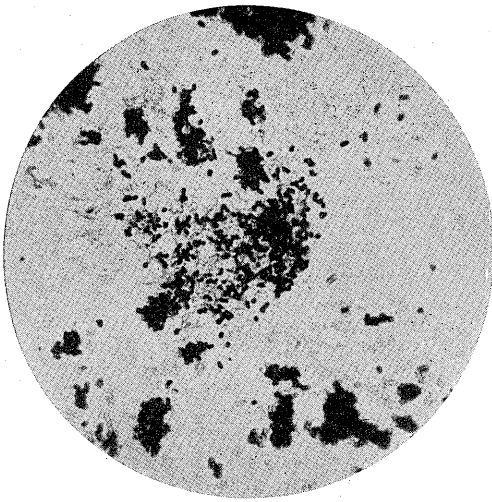


圖 三 第

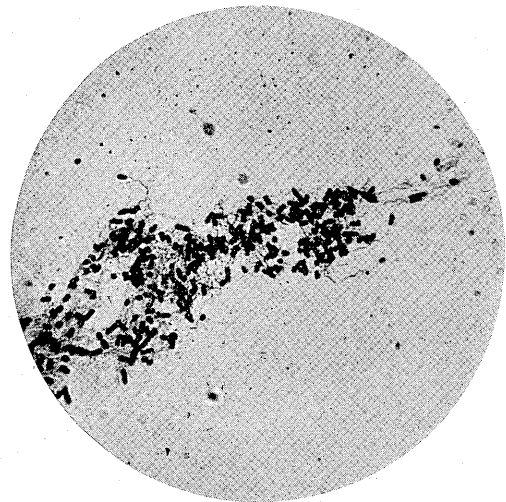
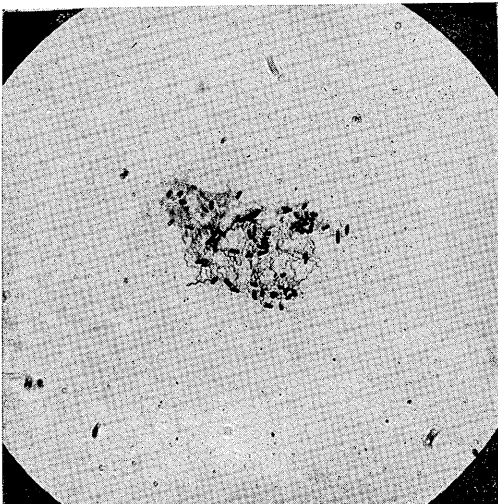
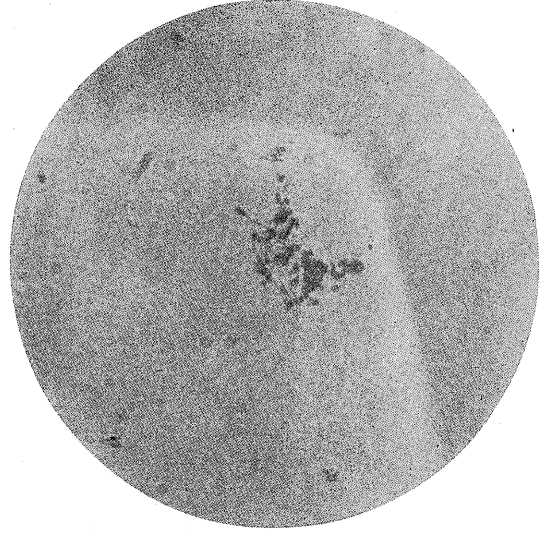


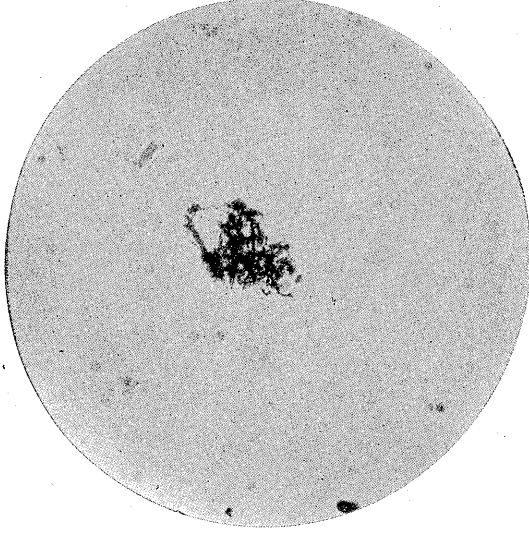
圖 四 第



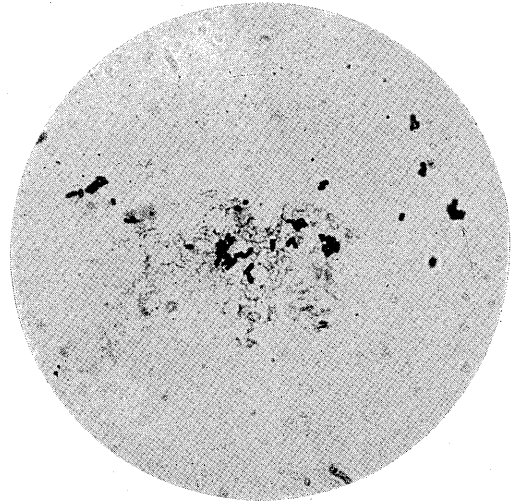
第五圖



第六圖



第七圖



附圖說明

- 第一、二圖 凝集直後
第三、四圖 凝集十五分以内
第五、六圖 凝集卅分以後
第七圖 鞭毛ノミノ凝集狀態

連絡シ互ニ索引スルノ象ヲ呈ス、三十分乃至一時間ヲ經過シタルモノハ鞭毛ハ菌間ニ密着スルノ狀ヲ呈ス鞭毛ヲ保有スル菌群ト、鞭毛ヲ失ヒタル菌群トハ、凝集密着ノ度ヲ異ニシ、後者ハ前者ヨリモ早ク凝集ス。脱落シタル鞭毛多キ時ハ鞭毛ノミヨリ成ル凝集塊ヲ見ル、即チ鞭毛ハ凝集反應ニ特異ノ意義ヲ有ス。

四、戸田氏鞭毛染色法ハ其方法簡單ニシテ鞭毛ハ異常ニ太ク染色スルノ特色アリ、只染色液ノ毎常作製ノ繁ト視野鮮明ナラザル點アリ、余ノ方法ハ幾分複雑ナルモ毎常作ルニ及バズ、視野鮮明ニシテ染色手技ニ失敗少ナシ。

五、馬鼻痘菌トシテ取扱ハルル北研系ハ多ク一條ノ鞭毛ヲ有シ、在來系ハ數條ノ鞭毛ヲ有シ、大連I系、II系、III系ハ鞭毛ヲ證明スル能ハズ、戸田氏ノ報告ニ一致ス。

六、從來鞭毛染色ノ菌培養ハ寒天培養ニ限ラレタルガ、破傷風菌ノ「ブリオン」液體培養ヨリ、黒井新法ニヨリ鞭毛ヲ染色シ好結果ヲ得、「コレラ」菌ノ液體培養(八時ヨリ培養)ヨリモ好染色標本ヲ得タリ。

七、既報ノ特異免疫血清ヲ以テ媒染スル鞭毛染色法ハ、ツエットノー氏媒染劑ヲ使用シテ加温スルトキニ、其程度ニヨリ失敗ヲ來スコトアルヲ以テ血清ヲ以テ處理後、左ノ媒染劑ヲ以テ四乃至五分鐘冷染シ後鍍銀法ヲ行ヒ好結果ヲ得タリ、而シテ染色手技上ニ幾分ノ變更ヲ加ヘ此方法ヲ黒井鞭毛染色法ノ新法ト稱セントス。

五%石炭酸水一〇〇・〇ccニ單寧酸一五・〇ccヲ混ジ加温溶解ス。

以上ノ液ニ飽和明礬液五〇・〇ccヲ加フ。

文 獻

- 1) Lehn, d. mikrobiologie. F. Friedberger, u. k. Pfeiffer. 1919.
- 2) Handb. d. pathog. mikroorg. Kolle, Kraus, Uhlenhuth. 1928.
- 3) 細菌學。病原微生物學下巻。
- 4) 志賀潔。臨床細菌學傳染病論後編。
- 5) 淺川範彦。臨床應用實驗細菌學各論上。
- 6) 近藤喜一。余ノ嫌氣性菌平板培養法ニ就テ。東京醫事新報第二二六八號。
- 7) 戸田忠雄。極メテ容易ナル余ノ鞭毛染色法ニ就テ。日本醫事新報二八三號。
- 8) 戸田忠雄。馬鼻痘菌ノ菌型ニ就テ。日本微生物學病理學雜誌二十二卷十一號。