

【昭和16年8月8日受付】

町 聴 の 細 菌 學 的 研 究

千葉醫科大學細菌學教室(主任 緒方 教授)

醫學士 田 島 義 男

目 次

I. 好 氣 性 菌
第1章 前 書
第2章 實 驗 方 法
第1節 實驗材料並に實驗材料採取法
第2節 分離培養法
第3節 菌株蒐集法
第3章 實 驗 成 績
第1節 釣菌株の細菌種別
第2節 各菌種群の一般生物學的性狀
第1項 顯微鏡的所見
第2項 寒天培地培養所見
第3項 ケラチン平板培地培養所見
第4項 馬鈴薯培地培養所見
第5項 血液寒天平板培地培養所見
第6項 フイヨン培地培養所見
第7項 牛乳培地培養所見
第8項 インドール反應
第9項 ケラチン液化作用
第10項 硫化水素發生試驗
第11項 瓦斯發生試驗
第12項 溶 血 作 用
第13項 菌種推定診斷
第3節 菌種檢出成績
第4章 總括並に考按
II. 偏性嫌氣性菌
第1章 前 書
第2章 實 驗 方 法
第1節 實驗材料並に實驗材料採取法
第2節 嫌氣性培養法
第3節 分離培養法
第4節 分離培養基
第5節 菌株蒐集法

第3章 偏性嫌氣性菌檢出成績
第4章 菌種群の一般生物學的性狀
第1節 Z氏平板培地培養所見
第2節 L. L. B. 培養所見
第3節 牛乳嫌氣性培地培養所見
第4節 臘粥嫌氣性培地培養所見
第5節 毒 力 試 驗
第6節 菌種群代表菌株の一般生物學的性狀並に推定菌種名
第1項 顯微鏡的所見
第2項 病 原 性 試 驗
第3項 好 氣 性 培 養
第4項 葡萄糖肝寒天高層培地培養所見
第5項 L. L. B. 培養所見
第6項 牛乳培地培養所見
第7項 臘粥培地培養所見
第8項 ケラチン液化試驗
第9項 凝固血清消化試驗反應
第10項 インドール反應
第11項 含水炭素分解試驗
第12項 推 定 菌 種 名
第7節 菌種名並に加熱抵抗試驗
第8節 町 聴 毒 性 試 驗
第1項 試 驗 方 法
第2項 試 驗 成 績
第5章 總括並に考按
III. 抗 酸 性 菌
第1章 前 書
第2章 實 驗 方 法
第1節 實驗材料並に實驗材料採取法
第2節 分離培養法並に分離培養基
第3節 菌株蒐集法

第3章 實驗成績

第1節 檢 出 率

第2節 分 離 菌 株

第3節 分離菌株の一般生物學的性狀

•第1項 Petraghani 培地上の所見

第2項 形態學的所見

第3項 抗 酸 性

第4項 抗 酒 精 性

第5項 抗 煮 沸 性

第6項 葡萄糖寒天高層培地上の所見

第7項 牛乳培地上の所見

第8項 インドール反應

第9項 カタラーゼ反應

第10項 含水炭素分解試驗

第11項 毒 性 試 驗

第4章 總括並に考按

結 論

文 獻

I. 好 氣 性 菌

第 1 章 前 書

耳聾腺は主として外聽道軟骨部に存し、特有なる分泌腺にして、之より生ずる耳聾も亦特異なる分泌物なり。

耳聾の生理作用に關しては Siebenmann に依れば新鮮なる耳聾は殺菌作用を有するものならむと、Schwalbe は耳聾中の水分の蒸發により外聽道内の空氣を絶えず濕潤ならしむるの外、或は昆虫類の侵入に對する保護裝置ならむと何れも諸家の常識的推説に止まるも、之が組成に就きては Berzelius, Lamois und Marss, Linser, Mohlendorf, Petréquin, Stöhr, 本邦に於ては中島により本邦人耳聾の化學的研究により脂肪酸、脂肪、コレステリン、セロチン酸、中性ステアリン酸、苦味素、蛋白質、硫酸ナトリウム等の存在を認めたり。

然して、耳聾の乾、軟の差は成分本質上の差異に非ずして、量的の差により生ぜるものゝ如きも、最近平山は粉末狀より油狀に至る耳聾の性狀は、外聽道壁皮脂腺の多寡及び絨毯腺機能との相互關係により略々決定せらるゝと報告せり。更に軟耳聾と腋臭症との相互關係、又は軟耳聾の遺傳的關係等の報告あるも、耳聾の細菌學的檢索は甚だ寥々たるものにして、Rohrer, Gottstein, Neufeld, Siebenmann, 埴, 平山, 諸氏により僅かに數種細菌の檢出に止まる。

人体外皮の一部をなす健常外聽道内の好氣性菌の研究も亦寥々たるものにして、古くは B. Rohrer の少數例、最近に於ては關、長尾の詳細なる研究報告ありて之が臨床諸疾患、即ち急性限局性或は廣汎性外聽道炎の起炎菌並に急性、慢性中耳炎の二次的起炎菌と報告せらる今日、之と生理解剖學的に密接なる關係にある耳聾中の細菌に關しては、前述の如く精細なる研究報告を見ず。従つて健常耳聾中の詳細なる好氣性菌の檢索は有意義にして且つ興味深き基礎的實驗と信じ、且つ偏性嫌氣性菌と共に綜合的な細菌學的研究は健常耳聾中の諸細菌類を知り、尙且つ耳聾生理作用の一端を探知し得るに非ざるかとの希望の下に本實驗を施行せるに、幸にして聊か得る所ありたるを以て茲に報告し、大方諸彦の御批判を乞はんとす。

第 2 章 實 驗 方 法

第 1 節 實驗材料並に實驗材料採取法

實驗材料として、健康なる叮嚙を使用せり。

然して、叮嚙には乾叮嚙と軟叮嚙とあり、尙軟叮嚙は腋臭症との間に相互關係あり、更に遺傳的關係ありと稱せらるゝ今日、細菌學的にも亦乾叮嚙と軟叮嚙との間に何等かの所見に差異を生ずるものにあらざるかを思ひ、併せて叮嚙生理作用の一端を探知し得ば更に興味ある事と信ず。

従つて實驗材料としての叮嚙の選擇並に採取方法の適否は本實驗成績に重大なる關係あり、依つて實驗材料選擇に際しては、先づ外聽道及び鼓膜に病變なきものを第一條件、全身的に疾患なきを第二條件となし、次ぎに叮嚙は肉眼的に或は顯微鏡的に全く健康なるを嚴密に確め、更に乾叮嚙と軟叮嚙との分類は完全に乾燥せるものを前者に屬せしめ、多少にても濕潤せるものは後者に屬せしめたり。

叮嚙採取法としては、豫め滅菌用意せる鑷子及び耳用鉗子、必要に應じ耳鏡を用ひ、一端は外聽道壁に附着し、他端は外聽道内に遊離せる叮嚙を選び、摘出に際し、絶対に他部に接觸せしめざる様細心の注意の下に可及的多量に採取せり。

第 2 節 分 離 培 養 法

豫め 10.0 cc 宛分注滅菌用意せる生理的食塩水及び P_H 7.2 ブイヨン中に採取せる實驗材料を可及的多量に混じよく混和振盪せる後、生理的食塩水中の材料は直ちに、ブイヨン中の材料は $37^{\circ}C$ の孵卵器に收め 24 時間培養の後、共に之等の 1 白金耳を普通寒天平板培地及び 2% 葡萄糖血液寒天平板培地夫々 3 個或は 4 個に Conradi 棒を以て順次稀釋塗抹をなし、 $37^{\circ}C$ に 24 時間、48 時間、場合によりては 72 時間培養後之等を檢したり。

第 3 節 菌 株 蒐 集 法

前記の普通寒天平板培地及び 2% 葡萄糖血液寒天平板培地上の聚落より、形狀、著色、表面光澤、透明度、粘稠度、周縁、構造等を觀察し、種類を異にすると思はるゝ聚落を釣菌し、寒天斜面又は血液寒天斜面に移植培養し菌株となせり。

第 3 章 實 驗 成 績

第 1 節 釣 菌 株 の 細 菌 種 別

實驗例 60 (乾叮嚙 30, 軟叮嚙 30) 中全釣菌株數 222, 之等を乾叮嚙, 軟叮嚙別に球菌, 桿菌類に分類し、併せて檢出率を示せば第 1 表の如し。

第 1 表 叮嚙中の細菌種別並に檢出率

叮嚙種類	實驗例	釣菌株總數	細菌種別	釣菌株數	檢出率(%)
乾 叮 嚙	30	132	球 菌	80	60.6
			桿 菌	52	39.39
軟 叮 嚙	30	90	球 菌	44	48.88
			桿 菌	46	51.11
叮 嚙	60	222	球 菌	124	55.85
			桿 菌	98	44.14

表に示す如く、乾耳聾に於ては球菌、桿菌に比して多数を占め、軟耳聾に於ては球菌、桿菌殆ど同数なり。總釣菌株に就て見るに球菌は桿菌に稍々優る。

表中絲狀菌なきは、本菌類により發生する外聽道菌病は絲狀菌類の外聽道に寄生して生ずる外聽道の寄生性疾患にして、確實なる診斷は菌の發見なり。依つて本疾患の場合肉眼的に診斷困難なるが如き初期に、顯微鏡的に或は培養上本菌類の陽性なる事あるは、上述の如く寄生性疾患なるが故に考へ得らるべし。故に本實驗に於ては余は耳聾中絲狀菌類陽性なるものは本實驗材料として不適當と認め、除外したればなり。

次に總釣菌株 222 菌株を、形態學的及び顯微鏡的所見並に諸性狀上の相違點を考慮して 18 菌種群に分類せり。

第 2 節 各菌種群の一般生物學的性狀

生物學的性狀は各菌種群中の各菌株により多少の差あるも殆ど一致するが故に、各菌株を個々に記述するときは重複する事のみ多く複雑するを免れざるが故に、總括して各菌種群(群)として述べんとす。

第 1 項 顯微鏡的所見

1 群 短徑 0.8-1.2 μ 、長徑 2-8 μ の桿菌にして、兩端鈍圓、多くは單在性なれど數個連鎖し又は長絲狀をなすものあり、芽胞は多くは中在性稀れに端在性にして多数の周毛性鞭毛を有し、運動性あり。Gram 染色陽性なり。

2 群 短徑 0.8-1.0 μ 、長徑 2.0-5.0 μ の桿菌にして、兩端鈍圓、數個連鎖をなし、芽胞は中在性、鞭毛を有し、運動性あり。Gram 染色陽性なり。

3 群 短徑 0.5 μ 、長徑 0.6-1.5 μ の小桿菌にして、兩端鈍圓、多くは單在性にして球菌と誤る事あるも時として連鎖をなす事もあり。周毛性鞭毛を有し、運動性ありて芽胞なく、Gram 染色陰性なり。

4 群 短徑 1.5-2.5 μ 、長徑 4.0-7.0 μ の大桿菌にして、菌体多少彎曲し、顆粒構造をなし、兩端鈍圓にして時日の経過せる培地上のものは變形膨大し、不整形となり易く、染色不良となり、不明瞭となる。多くは中在性或は多少端在性の芽胞を有し、鞭毛ありて運動性を有す。Gram 染色陽性なり。

5 群 短徑 0.3-0.4 μ 、長徑 1.5-4.0 μ の中等大桿菌にして、兩端鈍圓、單在性にして數個並列するもの、又は短連鎖をなし或は絲狀をなす等變形し易し。芽胞なく、一毛性鞭毛を有し、運動性あり。Gram 染色陰性なり。

6 群 短徑 0.5-0.8 μ 、長徑 2.0-3.0 μ の桿菌にして、兩端鈍圓、單在性又は短連鎖をなし、中在性芽胞を有し、周毛狀鞭毛を有し、運動性あり。Gram 染色陽性なり。

7 群 短徑 0.4-0.6 μ 、長徑 1.0-4.0 μ の桿菌にして、配列狀態一定せず。菌は變形し易く大小種々の菌形をなし、芽胞なく、周毛狀鞭毛を有し、運動性あり。Gram 染色陰性なり。

8 群 直徑 0.8-1.0 μ の球菌にして、葡萄狀或は地圖狀乃至肺胞狀を呈し、鞭毛及び運動性なく、Gram 染色陽性なり。

9 群 8 群と大同小異にして殆ど一致す。

10 群 8 群と大同小異にして殆ど一致す。

11 群 直徑 1.0-1.2 μ の球菌にして、2, 3 個の連鎖を作るものあり、又は散在性のもの或は不規則に集合するものあり。Gram 染色陽性なり。

12 群 直徑 0.6-0.8 μ の球菌。單在性にして、配列狀態一定せず。Gram 染色陽性なり。

13 群 直徑 0.5-0.6 μ の球菌にして、腎臟形をなし、双球菌狀をなすも、配列狀態は一定せず。Gram 染色陽性なり。

14 群 直徑 1.0-2.0 μ の球菌にして、4 乃至 8 個宛集合す。Gram 染色陽性なり。

15群 直徑 0.4-0.8 μ の球菌にして、多少橢圓形をなし、双球菌狀を呈し、短連鎖を形成するものあり。双球菌をなす菌面は互に壓迫せられたる感を呈す。Gram 染色陽性なり。

16群 直徑 0.5-0.8 μ の球菌にして、多くは双球菌狀を呈し、稀れに數個連鎖をなし、比較的厚き莢膜を形成す。Gram 染色陽性なり。

17群 直徑 0.6-0.8 μ の球菌にして、正圓形或は橢圓形をなし、短連鎖を形成す。固有運動及び莢膜なく、Gram 染色陽性なり。

18群 直徑 0.5-0.8 μ の球菌にして、正圓形或は橢圓形をなし、長連鎖を形成す。固有運動及び莢膜なく、Gram 染色陽性なり。

第 2 項 寒 天 培 地 培 養 所 見

1群 塊狀型は初め小圓形又は不正圓形、扁平にして灰白色、周縁滑澤、表面濕潤性光澤を有し、顆粒構造を呈する聚落を形成し、日を経るに従ひ乾燥し光澤を失ひ、周圍不正形となり、菌苔は稍々厚くなり、色調は汚穢灰色或は帶綠黑褐色となる。

菌芝型は初めより周縁不正にして花瓣狀或は岩石狀の厚徑、不透明、灰白色の濕潤にして稍々光澤を有する大聚落を形成し、培地全面を掩ふ事あり。日を経ると共に汚穢黑褐色となる。

共に血液寒天培地上にて溶血明瞭なる場合と然らざる場合とあり。

2群 圓形、灰白色、不透明にして表面濕潤性光澤を有する聚落を形成するも、時日を経ると共に周縁不正となり、根毛狀突起を生ず。

3群 圓形或は不正圓形、灰白色にして不透明、表面濕潤性光澤を有し、顆粒構造を呈する聚落を形成するも漸時にして中心濃き帶赤色を呈す。寒天斜面に培養せる場合は凝結水も亦赤色を呈し、濁濁を生ず。

4群 圓形或は不正圓形にして、灰白色、表面濕潤稍々光澤を有し、顆粒構造を呈する聚落を形成し、時日を経れば黃褐色となる。寒天斜面にては厚き菌苔を形成す。

5群 圓形、灰白綠色、表面平滑にして濕潤性あり、顆粒構造を有し、周縁正圓又は不規則の聚落を形成し、發育佳良なれば青綠色の厚き菌苔を形成す。

6群 圓形或は不正圓形にして、灰白色、表面滑澤なる聚落を形成し、日を経ると共に周縁不正となり表面乾燥し、縮細狀皺襞を形成するも剝離し易し。

7群 初め圓形、灰白色、不透明なる聚落を形成するも次第に周縁不規則波狀となり、遂に培地全面に擴がる。

8群 圓形、白色、不透明、表面滑澤濕潤性光澤ある半球狀の周縁圓滑なる聚落を形成す。血液寒天培地上溶血作用を有するものと然らざるものとあり。

9群 圓形、初め灰白色、後に帶黃色乃至橙黃色を呈し、不透明、表面滑澤にして濕潤性光澤ある半球狀の聚落を形成す。血液寒天培地上溶血作用を有するものと然らざるものとあり。

10群 圓形、帶黃白色、不透明にして、表面濕潤性光澤ある半球狀の聚落を形成し、時日經過と共に黃金色を呈す。血液寒天培地上溶血作用を有するものと然らざるものとあり。

11群 圓形又は橢圓形の帶黃白色、表面濕潤性光澤ある不透明にして周縁滑澤の聚落を形成す。

12群 圓形にして、白色乃至帶黃白色、不透明、表面濕潤性光澤ある周縁不正なれど區劃明瞭なる聚落を形成す。

13群 圓形にして、純白、球狀に隆起し、表面濕潤性光澤ある聚落を形成す。

14群 圓形又は類圓形、帶黃色乃至褐色の表面濕潤性光澤ある、不透明にして、周縁滑澤なる聚落を形成す。

15群 發育不良にして、僅かに灰白色、透明、菲薄なる圓形の小聚落を形成す。

16群 發育不良にして、僅かに小聚落を認め得る程度なり。

17群 發育不良にして、微細なる圓形、灰白色の透明露滴狀の聚落を形成す。

18群 發育不良にして、數日の後微細圓形なる露滴狀の聚落を形成す。

第3項 ゲラチン平板培地培養所見

1群 圓形或は不正圓形にして、灰白色或は黄褐色、表面濕潤し、色調中心濃厚にして、顆粒構造を有し、周縁放線狀菌毛を放出する扁平なる聚落を形成し、培地を液化す。

2群 圓形にして、灰白色の聚落を形成し、日を経るに従ひ、周圍に多數の毛根様突起を生じ、絲狀菌に類し、培地を液化す。

3群 圓形にして、白色表面濕潤性光澤あり、微細顆粒構造を呈し、周縁放線狀をなす聚落を形成し、培地を液化す。

4群 不正圓形にして、灰白色、表面濕潤性光澤ある顆粒構造を有する聚落を形成し、培地液化不明瞭なり。

5群 小圓形にして、表面平滑、顆粒構造を有する聚落を形成し、培地を數日後に液化し、緑色の色調を帯ぶるに至る。

6群 不正圓形、灰白色にして、表面縮細狀の皺襞を生じ、不透明にして周縁波狀を呈する聚落を形成し、培地を液化す。

7群 初め圓形、灰白色、菲薄透明にして、僅かに表面濕潤性光澤あり、微細顆粒構造を有し、漸時にして周縁に突起を生ずる聚落を形成し、發育速かにして培地上に擴がる。培地液化も亦強度なり。

8群 小圓形、灰白色、表面平滑にして、濕潤性光澤あり、稍々隆起せる聚落を形成し、培地を液化す。

9群 小圓形にして、初め灰白色、表面平滑光澤ありて隆起せる聚落を形成し、時日を経るに従ひ、稍々橙黄色を呈し、培地を液化す。

10群 小圓形にして、初め灰白色、表面平滑にして光澤あり、周縁滑澤なる聚落を形成し、時日を経過するに従ひ、黄金色を呈し、培地を液化す。

11群 不正圓形にして、黄色或は褐色を呈し、表面濕潤性にして顆粒構造を有し、周縁滑澤の聚落を形成し、培地を液化す。

12群 圓形にして、黄褐色を呈し、表面平滑顆粒構造を有し、周縁滑澤なる聚落を形成し、培地を液化す。

13群 小圓形にして、白色を呈し、表面濕潤性光澤ある周縁滑澤の聚落を形成し、培地液化不明瞭なり。

14群 圓形にして、帶黄白色、表面濕潤性光澤あり、半球狀に隆起し、顆粒構造を有する聚落を形成し、培地液化不明瞭なり。

15群、16群 發育不良なり。

17群 發育不良なるも、數日後に小圓形にして半透明、微細顆粒狀を呈する聚落を生じ、培地液化不明瞭なり。

18群 發育不良なるも、數日後に小圓形にして半透明、露滴狀の聚落を形成し、培地液化不明瞭なり。

第4項 馬鈴薯培地培養所見

1群 初め灰白色或は帶黄白色にして、時日経過と共に、汚穢灰白色或は黄褐色となりて乾燥し、皺襞を生ずる菌苔を形成す。

- 2群 灰白色にして、乳皮様濕潤光澤ある厚き菌苔を形成す。
 3群 初め白色後に薔薇色を呈し、更に暗赤色となる濕潤光澤ある菌苔を形成す。
 4群 初め灰白色にして、時日を経るに従ひ、黄褐色となる濕潤光澤ある聚落を形成す。
 5群 灰白綠色又は綠色、表面濕潤性にして、時日の経過と共に綠色を増す菌苔を形成す。
 6群 初め灰白色にして、時日を経過するに伴ひ褐色となり、表面に皺襞を生ずる菌苔を形成す。
 7群 發育不良なり。
 8群 白色にして、表面濕潤性光澤ある厚き菌苔を形成す。
 9群 表面濕潤性光澤ある厚き菌苔を形成し、次第に橙黄色となる。
 10群 表面濕潤性光澤ある比較的菲薄なる菌苔を形成し、次第に黄色を増す。
 11群 帶黄色或は綠褐色にして、表面濕潤性光澤ある聚落を形成す。
 12群 乳皮色にして、表面濕潤性光澤ある菌苔を形成す。
 13群 灰白色にして、光澤鈍き厚徑の菌苔を形成す。
 14群 黄色の光澤なき厚き菌苔を形成す。
 15群, 16群, 17群, 18群 何れも發育不良なり。

第 5 項 血液寒天平板培地培養所見

本培地に最も良好に發育し、依って本培地上の發育所見は菌種決定上重要な菌種群のみを本項に於ては記述し、本培地を以て決定せらるゝ溶血作用の有無は別項にて述ぶべし。

15群 扁平、透明、露滴狀にして、時日を経過すれば中央稍々凹める感ある聚落を形成し、聚落の周圍稍々暗綠色となる。

16群 扁平、透明、露滴狀、僅かに灰白色にして、粘稠度あり、溶血作用僅かに存し、相接近する聚落は互に融合し易し、時日を経過すれば中央より乾燥し、稍々陥没する聚落を形成す。

17群 小圓形、灰白色、半透明にして、表面稍々扁平、濕潤性光澤ある周縁滑澤なる聚落を形成し、聚落の周圍に不明瞭なるも綠黑色の帶を有する感を呈す。

18群 小圓形、灰白色、半透明、表面濕潤性光澤あり、周縁滑澤にして稍々隆起せる聚落を形成し聚落の周圍に僅かに褐色の溶血環を有す。

以上の各菌種群中の各菌株により多少の差あるも、何れも動物試験に際し、強烈なる毒性を認めざるも、16群は他に比し毒性強し。

第 6 項 プイヨン培地培養所見

第 7 項 牛乳培地培養所見

第 8 項 インドール反應

第 9 項 ゲラチン液化作用

第 10 項 硫化水素發生試験

第 11 項 瓦斯發生試験

第 12 項 溶 血 作 用

第 13 項 菌種推定診断

之等の諸項は總括して、一般生物學的性状と表示せり。

既述の如く、蒐集せる各菌株を 18 菌種群に分類し、諸性状上より菌種推定診断を行へば第 2 表に示せるが如し (第 2 表参照)。

第 3 節 菌 種 検 出 成 績

實驗材料 60 を乾町藤、軟町藤に分類し、且つ主なる菌種は個々に、其の他の菌種は總括して、表示すれば次の如し (第 3 表 A, B, C 参照)。

第 3 表に示せる如く、總括的には軟町藤中よりも乾町藤中に菌検出率稍々高きも、變形菌のみは軟町藤中に検出率稍々高し。

次に實驗材料番號 Nr. 36 及び Nr. 42 は第 1 回實驗に於て、好氣性及び嫌氣性菌共に陰性にして約 9 ヶ月後、第 2 回實驗を同一條件の下に施行したるに Nr. 36 は再度陰性なりしも、Nr. 42 は Bac. mesen-

第 2 表 一般生物學的性狀並に菌種推定診斷名

菌種 番 號	形 態	大 さ (μ)	グ ラ ム 染 色	芽 胞 形 成	運 動 性	プ イ ヨ ン			牛 乳		イ ン ド ー ル 反 應	ゲ ラ チ ン 液 化	硫 化 水 素 發 生	瓦 斯 發 生	溶 血 作 用	菌種推定診斷名
						菌 膜	濁 濁	沈 澱	凝 固	消 化						
1 群	桿菌	0.8-1.2 2-6	+	+	+	+	+	+	+	±	-	+	+	-	+	Bac. Subtilis
2 "	"	0.8-1.0 2-5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	Bac. mycoides
3 "	"	0.5 0.6-1.5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Bac. prodigiosus
4 "	"	1.5-2.5 4-7	+	+	+	-	+	+	+	-	±	±	+	-	-	Bac. megatherium
5 "	"	0.3-0.4 1.5-4	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	±	Bac. pyocyaneus
6 "	"	0.4-0.8 2-3	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	Bac. mesentericus vulgatus
7 "	"	0.4-0.6 1-4	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	Bac. proteus
8 "	球菌	0.8-1.0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Staphyrococcus albus
9 "	"	0.8-1.0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Staphyrococcus aureus
10 "	"	0.8-1.0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Staphyrococcus citreus
11 "	"	1.0-1.2	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	Micrococcus luteus
12 "	"	0.6-0.8	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	Micrococcus cremoideus
13 "	"	0.5-0.6	+	-	-	-	+	+	+	-	-	±	-	-	-	Micrococcus albus
14 "	"	1.0-2.0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	±	-	-	-	Sarcina flava
15 "	"	0.4-0.8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	Diplococcus pneumoniae
16 "	"	0.5-0.8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Pneumococcus mucosus
17 "	"	0.6-0.8	+	-	-	-	±	+	+	-	-	-	-	-	±	Streptococcus mitior
18 "	"	0.6-0.8	+	-	-	-	±	+	+	-	-	-	-	-	+	Streptococcus longus

tericus vulgatus のみ陽性にして以上 2 例ともに比較的美麗なる琥珀色を呈せる軟町疔に屬す。

本實驗施行に際し、實驗材料選擇には種々なる條件の略々一定せりと思はるゝ健常なる場所にあり健康にて執務せる青年層を主とし、他を從とせる關係あるも、菌檢出率に於ては特異なる年齡的差異を認めず。性別的にも亦同様總括的には大なる差異を認めざりしも上述無菌例は女性なり。

第 4 章 總 括 並 に 考 按

健常町疔 60 例 (乾町疔 30, 軟町疔 30) 中より生理的食塩水, プイヨン並に普通寒天平板培地及び葡萄糖血液寒天平板培地を用ひ、好氣性菌 222 菌株を分離し、更に之等を 18 菌種群

第 3 表 A. 菌 檢 出 表

町尊種類	材料番號	被檢者名	性	年齡	檢 出 細 菌	町尊種類	材料番號	被檢者名	性	年齡	檢 出 細 菌
乾 町 尊	1	岩 野 ○	♀	30	{白葡萄, 粘液性肺炎双球菌}	軟 町 尊	31	杉 田 ○	♂	22	枯 草 菌
	2	吉 田 ○	♂	16	白 葡 萄		32	加 藤 ○	♀	42	白 葡 萄
	3	東野○(右)	♂	15	白 葡 萄, 枯 草 菌		33	波多野○	♂	12	白 葡 萄, 變 形 菌
	4	東野○(左)	♂	15	枯 草 菌		34	田 中 ○	♀	12	白葡, 肺炎双球菌
	5	野 口 ○	♂	19	白 葡 萄, 枯 草 菌		35	岡 崎 ○	♀	20	{白葡, 黃金葡萄, 肺炎双球菌}
	6	岩 松 ○	♂	21	白葡, 黃金葡萄, 枯草菌		36	今 西 ○	♀	12	
	7	野 中 ○	♂	27	白 葡 萄, 橙 色 葡 萄		37	某 ○	♂	28	白葡, 黃金葡萄, 綠膿菌
	8	田島○(右)	♀	29	白葡, 枯草菌, 綠膿菌		38	曾 山 ○	♂	29	枯 草 菌
	9	田島○(左)	♀	29	白葡, 枯草菌, 綠膿菌		39	川 路 ○	♂	26	枯 草 菌
	10	吉 川 ○	♀	19	連鎖狀球菌		40	小 林 ○	♂	16	白 葡 萄, 黃 金 葡 萄
	11	井 村 ○	♂	21	橙色葡, 肺炎双球菌		41	佐 藤 ○	♀	40	枯 草 菌
	12	山 本 ○	♀	12	白葡, 黃金葡萄, 枯草菌		42	平 林 ○	♀	40	
	13	川 本 ○	♂	10	枯 草 菌, 綠 膿 菌		43	笹 田 ○	♂	8	白 葡 萄, 橙 色 葡 萄
	14	多賀井○	♂	12	白葡, 連鎖狀球菌		44	佐 藤 ○	♂	12	綠 膿 菌
	15	三 井 ○	♂	38	白葡, 肺炎双球菌		45	南 部 ○	♀	2	白葡, 枯草菌, 綠膿菌
	16	中 村 ○	♀	23	白葡, 連鎖狀球菌		46	笹 田 ○	♂	11	白 葡 萄
	17	建 部 ○	♂	27	白 葡 萄, 黃 金 葡 萄		47	内 田 ○	♂	36	白 葡 萄
	18	埴 部 ○	♂	17	白 葡 萄, 橙 色 葡 萄		48	大須賀○	♀	17	枯 草 菌
	19	倉 成 ○	♂	16	變 形 菌		49	米 田 ○	♀	47	變 形 菌
	20	石 井 ○	♂	23	白 葡 萄, 黃 金 葡 萄		50	村 上 ○	♀	12	枯 草 菌
	21	矢 島 ○	♀	27	白葡, 橙色葡, 枯草菌		51	萩 原 ○	♀	10	枯 草 菌
	22	阿 部 ○	♀	30	白 葡 萄		52	鈴 木 ○	♀	35	白 葡 萄, 橙 色 葡 萄
	23	谷 部 ○	♂	23	白葡, 肺炎双球菌		53	金 澤 ○	♂	25	白 葡 萄
	24	藤 井 ○	♂	12	{黃金葡萄, 綠膿菌}		54	川本○(右)	♀	22	枯 草 菌
	25	大 野 ○	♀	20	球 菌, 桿 菌		55	川本○(左)	♀	22	枯 草 菌
	26	大島○(右)	♂	24	白葡, 肺炎双球菌		56	中 川 ○	♂	23	白葡, 肺炎双球菌
	27	大島○(左)	♂	24	白 葡 萄, 枯 草 菌		57	中 尾 ○	♂	22	白 葡 萄, 橙 色 葡 萄
	28	佐々木○	♀	12	白 葡 萄, 綠 膿 菌		58	鈴 木 ○	♂	40	白 葡 萄
	29	田 島 ○	♀	2	白 葡 萄		59	小 野 ○	♂	35	白 葡 萄
	30	原 田 ○	♂	12	枯 草 菌		60	百々瀬○	♀	18	枯 草 菌

白葡は白色葡萄狀球菌, 黃金葡萄は黃金色葡萄狀球菌, 橙色葡は橙黃色葡萄狀球菌

第 3 表 B. 菌 檢 出 率

實驗材料	白 葡 (%)	黃金葡萄 (%)	橙色葡 (%)	連球菌 (%)	肺 炎 双球菌 (%)	粘肺炎菌 (%)	枯草菌 (%)	綠膿菌 (%)	變形菌 (%)
乾町尊 30	73.33	16.66	13.33	10.00	13.33	3.33	40.00	16.66	3.33
軟町尊 30	53.33	10.00	10.00		10.00		36.66	10.00	6.66
全町尊 60	63.33	13.33	11.66	5.00	11.66	1.66	38.33	13.33	5.00

連球菌は連鎖狀球菌, 粘肺炎菌は粘液性肺炎球菌

第 3 表 C. 總釣菌株數に對する各菌種の百分率

白 葡 (%)	黄金葡 (%)	橙色葡 (%)	連鎖菌 (%)	肺炎 双球菌 (%)	粘肺炎菌 (%)	枯草菌 (%)	綠膿菌 (%)	變形菌 (%)	球 菌 (%)	桿 菌 (%)
17.54	3.6	3.15	1.35	3.15	0.45	10.36	3.6	1.35	27.46	28.37

球菌, 桿菌とは表示諸菌種以外の非病原性諸球, 桿菌なり

に分類し, 尙詳細なる性狀試験により各菌種名を推定し得たり。

文献を徴するに, 野口は皮膚面上の葡萄狀球菌は白色葡萄狀球菌多しと, 又 Daranyi 等も空中菌も亦白色葡萄狀球菌多く, 當教室星も亦人体皮膚面上の葡萄狀球菌の研究をなし, 顔面に球菌多く頸部は枯草菌, 球菌に優るも大差なく上肢は球菌類多しと報告し, 本實驗成績も亦球菌多く, 殊に白色葡萄狀球菌多きは上記諸氏の實驗成績と一致し, 更に耳聾中に葡萄狀球菌に次いで枯草菌多き成績は, 星の人体皮膚面上に於て頸部は枯草菌, 球菌に稍々優り, 顔面は球菌多しとの報告と, 耳聾と頸部及び顔面との解剖學的隣接關係を併せ考察するときは一脈相通する感を呈す。

尙健康耳聾中に葡萄狀球菌最も多く, 肺炎双球菌及び連鎖狀球菌比較的多數に存在するは諸家の唱ふる外聽道炎の起炎菌類と一致し, 殊に森川等により耳癰にありて疼痛甚しく, 之に加ふるに外聽道周圍炎更に中耳炎を合併するものゝ多數に起炎菌として多く肺炎双球菌を見ると報告せらる。之等起炎菌としての肺炎双球菌並に他種諸菌の存在を遠く求めず, 解剖學的最近距離にある耳聾中及び外聽道壁上の細菌類に求め得らるべく, 即ち之等細菌が機械的刺戟により外聽道組織内又は排泄管内に侵入し, 起炎菌となりて外聽道炎を惹起するものなるべし。

更に健康耳聾中に變形菌の存在は細菌學的並に臨床的に聊か興味ある事にして, Hesse-Körnigberg は 1931 年慢性中耳炎の細菌學的研究の結果, 本菌と他菌と共棲するときは臨床的に單獨なるときよりも危險力大なりと實驗的に本菌を鼓膜内に注入し中耳炎を起さしめて認めたりと報じ, この人工的注入と同様な作用は耳聾中に存在する變形菌が種々なる機會に必然的に自然に行はるべきを推察し得ればなり。

従つて耳聾中の各細菌に就きては亦同様な事實あるべきを推察し得れば, 急性並に慢性中耳炎の起炎菌に就き先人の業績を尋ね, 本實驗成績上の諸細菌と比較検討するも亦緊要且つ興味ある事なるべし。

急性中耳炎の起炎菌に就きては多くの研究發表あるも, 數氏の系統的研究報告を記載すれば次の如し (次表參照)。

慢性中耳炎の起炎菌は村上の葡萄狀球菌最高にして 76.7%, 次で綠膿菌の 24.6%, 變形菌の 16.1%, 他に連鎖狀球菌及び肺炎双球菌, 枯草菌少數なり。

諸氏に依る急性化膿性中耳炎の起炎菌類及び検出率

溶血性連鎖状球菌	Denker	62.10%	肺炎双球菌	高 橋	5.42%
	Mark	64.00%		伊 藤	21.00%
	高 橋	63.92%		伊 吹	29.10%
	伊 藤	79.00%		村 上	26.20%
	伊 吹	30.90%			
	村 上	45.90%	粘液性肺炎菌	村 上	13.10%
非溶血性連鎖状球菌	村 上	2.10%	葡萄状球菌	村 上	9.40%
肺炎双球菌	Denker	6.90%	變 形 菌	村 上	0.70%
	Mark	15.05%			

以上に見る如く、之等起炎菌は健常耳聾中の細菌類と一致し、諸家の唱ふる如く、中耳炎に二次的感染あり、従って耳聾中の細菌は之等疾患の起炎菌たり得べし。

次で健常耳聾中の細菌と、最近關及び長尾により報告せられたる耳聾と密接なる關係ある健耳外聽道内の細菌とを比較すれば次に示すが如し。

耳 聾 及 び 外 聽 道 内 の 細 菌

健常耳聾中の細菌	白葡 (%)	黄葡 (%)	橙葡 (%)	連鎖 (%)	肺炎 双球菌 (%)	粘肺 炎菌 (%)	枯草 菌 (%)	綠膿 菌 (%)	變形 菌 (%)	桿菌 (%)	球菌
	63.33	13.33	11.16	5	11.66	1.66	38	13.33	5	多數	多數
健耳外聽道内細菌 關	83						9			25	
長 尾	95	少數	少數	70	少數	少數	多數			多數	多數

白葡は白色葡萄状球菌，黄葡は黄金色葡萄状球菌，橙葡は橙黄色葡萄状球菌

連鎖菌は連鎖状球菌，粘肺炎菌は粘液性肺炎球菌

尙葡萄状球菌及び連鎖状球菌中溶血性あるものは葡萄状球菌に於ては關5%，長尾少數，耳聾中13.33%にして，連鎖状球菌にありては長尾の10%，耳聾中に1.33%なり。

以上の成績を通覽するに，健常耳聾及び健耳外聽道中の細菌種類殆ど一致し，検出率に於ても亦大差なきも各菌種に就き仔細に檢するに耳聾概して低率を示す。

かゝる比較検討上の成績，加ふるに菌檢出乾耳聾中に多く，無菌例いづれも軟耳聾なりし等の耳聾種類上の相異により生ずる現象あり。

斯の如く菌檢出率比較的低く，尙耳聾種類の相異に一致して細菌學的にも亦菌檢出率相違し，殊に無菌例を得たるは，或は耳聾生理作用に因するものにあらざるかに疑ひを置くものなり。

II. 偏 性 嫌 氣 性 菌

第 1 章 前 書

疳癰の細菌學的研究は専ら好氣性菌の檢出に限られ、詳細なる綜合的研究を見ず。殊に健常なる疳癰中の嫌氣性菌の檢索に至っては、其の例を見ざるも、近時嫌氣性菌が臨床上單一起炎菌とし、將又混合起炎菌として注目せられ、依つて之が基礎的實驗として、土壤を始めとし、諸種動物或は人体諸部又は各種物質を實驗材料としての嫌氣性細菌の檢出報告は枚舉に遑あらず。従つて、本實驗も亦臨床上並に健康疳癰存在の意義上にも緊要且つ有意義なるものと思ふ。

抑々嫌氣性細菌は Pasteur の *Vibrio septique* の發見以後、或は Nicolaier の破傷風菌の發見となり、或は Zeissler 及び其の一派の瓦斯浮腫が土壤中の嫌氣性菌により發病する事の發見以來、同氏並に Rassfeld 等の系統的研究となり純粹なる分離培養に一大進歩を來し、以後幾多先人諸家により追試或は研究せられたり。

余も亦健常なる疳癰中に偏性嫌氣性菌を檢出し得たるを以て茲に報告し、大方諸彦の御批判を乞はんとす。

第 2 章 實 驗 方 法

第 1 節 實驗材料並に實驗材料採取法

實驗材料としては、I. 好氣性菌檢出の場合と同様に健常疳癰を使用せり。

材料の選擇及び採取方法は本實驗に於ては特に重大にして、之が適否の本實驗成績に及ぼす影響は甚大なり。依つて細心嚴密なるを旨とし、疳癰を先づ I の場合と同様に乾疳癰、軟疳癰に分類し、肉眼的に或は顯微鏡的に健常なるを確め、然る後に之を實驗材料として選擇せり。

實驗材料採取法は、I. 好氣性菌檢出の場合の實驗材料採取法と全く同様なり。

第 2 節 嫌 氣 性 培 養 法

嫌氣性培養法には、重層法、眞空法、減壓法、空氣置換法、酸素吸收法等あるも、操作の複雑性又は危険性を伴ひ、爲に嫌氣性菌培養法の進歩は好氣性菌に比して遜色あり。

然るに當教室橋本博士により創案せられたる、ドライアイス（固形炭酸）に依る炭酸瓦斯置換嫌氣性培養法は、操作簡單にして危険性無く、然も費用低廉なる利點ありて尙且つ檢出成績良好なり。依つて余は同法を以て本實驗を施行せり。

第 3 節 分 離 培 養 法

嫌氣性菌の研究に當り、純粹分離培養法は、最も重要にして、之が適否は細菌檢出に甚大なる影響を及ぼす。故に先進諸家により或は化學的處理法或は加熱法等存するも、之等は要するに嫌氣性菌が強き抵抗力ある芽胞を形成する點に着目したるものなり。

本實驗に於ては、Hitchens, Maass, Zeissler, 佐々木等の唱導する加熱分離培養法及び重層法を應用せる非加熱分離培養法を以て分離培養を行へり。即ち採取せる材料を直ちに豫め調製し置きたる肝肝片ブイヨン 50 cc 中に投じ、良く振盪混和し、滅菌流動パラフィン重層後、75°C 30 分間加熱し、冷却後 37°C に培養し、之を可檢材料として検査の終了まで孵卵器中に放置し置き、この可檢材料の 24 時間培養のものより滅菌毛細管を以て重層せるパラフィンを通し、液をよく混和したる後吸引し、之より滴下せしめて 1 白金耳を取り、之を直接豫め調製し置きたる 2% 葡萄糖 15-20% 家兎血液肝エキスを加寒天平板 2-3 枚に連續稀釋塗布を行ひ、素焼の蓋をなして後嫌氣鐘に收め嫌氣性培養をなす。更に余は抵抗弱き無芽胞性嫌氣性菌の存在を考慮し、加熱する事なく先づ菌の増殖を圖り、然る後に嫌氣性培養を行へり。即ち實驗材料を直ちに肝肝片ブイヨン 50 cc 中に入れ滅菌流動パラフィン重層後、37°C に 2 日乃至 1 週間培養し、この 1 白金耳を夫々 2% 葡萄糖家兎血液肝エキスを加寒天平板 2-3 枚に連續稀釋塗布をなし、前同様に素焼の蓋を用ひ、嫌氣性培養を行ふ。即ち操作終りたるシャーレを橋本式嫌氣鐘内に收め、各シャーレは素焼の蓋を通じて、シャーレ内の空氣が置換され易き位置に置き、ドライアイスより昇華する CO_2 酸化炭素を鐘内に通じ、鐘内の空氣が全く驅逐するに及び活栓を閉じ、37°C の孵卵器に收め、4 日乃至 7 日間培養す。

余は試みに橋本氏の原理に基き、嫌氣鐘の蓋の中央を乾燥錘の如く周縁より高くなし、最高の部に小硝子管の突起を作り、之を排氣孔となし活栓を附し、別に普通の大試験管内に 2% ラクムス液を満し、液面を鐘内の最高シャーレの蓋より高く嫌氣鐘周縁の高さより少々低くなし置き、之を鐘内に入れ、然る後、底部の送氣孔より CO_2 酸化炭素を通ずるに鐘内のラクムス液は上層より赤變し始め、次第に下層に及び、約 30 分乃至 1 時間にして完全に赤變す。

斯くして最早 CO_2 酸化炭素を通ずるも全く色調の變化を來さざるを認め、同時に所定の時間的關係を完全に遂行後活栓を閉じ型の如く培養す。然して嫌氣鐘内にて赤變せるラクムス液は一度空氣に觸れしむれば漸次上層より青變し始む。

余は所定の法に従つて鐘内の完全置換を知るを主とし、加ふるに鐘内空氣の完全置換を上述の如く色調の變化にて知るを補助として行へり。

多數斯る操作を繰返す中僅かに數回鐘内のラクムス液が上層より中央部迄赤變さるゝも、それ以下は所定の時間或はそれ以上 CO_2 酸化炭素を通ずるも赤變せざりし例に相遇せり、斯る現象は操作上の何處にか不完全なる所ありたるものならん。

次に 3 日乃至 4 日間培養の可檢材料より 0.5 cc を 10 cc の肝臟肝片ブイヨン中に移植し、80°C の水槽中に 20 分間加熱し冷却後、37°C に 48 時間培養したるものゝ 1 白金耳を前記平板培地に連續稀釋塗布を行ひ、嫌氣性培養を行ふ。

6 乃至 7 日間培養の可檢材料より前同様の移植を以て、100°C に 5 分間加熱後、前同様に、培養を行ふ。

9 乃至 10 日間培養の可檢材料より同様に 100°C に 20 分間加熱。

12 乃至 13 日間培養のものより 100°C に 35 分加熱。

15 乃至 16 日間培養のものより 100°C に 60 分加熱。

18 乃至 19 日間培養のものより 100°C に 120 分加熱後、各前同様の操作を行ひ、嫌氣性培養を行ふ。

9 乃至 10 日及び 22 乃至 23 日間培養の可檢材料より直接 1 白金耳を平板培地に塗布後嫌氣性培養をなす。

第 4 節 分 離 培 養 基

1) 肝臟肝片ブイヨン製法

鮮なる豚の肝臟 1 個を取り、脂肪、筋膜を除き、必要量のみ小賽子狀にきり、他は細挫し、之に常

水 3000 cc を加へ、100°C に 2 時間蒸氣釜にて浸出し、フラスコにて濾過し、之を常水と看做し、普通アイヨンの製法に従って製造するも、 P_H は肝臓の還元性により時日と共に下降す、依って、 P_H 7.6 に修正し、豫め充分水洗し、乾燥せる前の糞子狀の肝片數個滅菌試験管に入れ置き、之に約 10.0 cc 宛分注し、型の如く滅菌使用に供するも使用時には必ず P_H を再検するを要す。此の場合 P_H 7.4-7.2 に下降したるを常とす。

2) Zeissler 氏平板培養基 (變法) の製法

新鮮なる豚の肝臓 1 個を取り、前のアイヨン製造の場合と同様の操作をなして、全部を細挽し、3000 cc の常水を加へ浸出液を作り、之を常水と看做し、3% 寒天培養基を P_H 7.2 として製し以後型の如く 2% の割合に葡萄糖を加へて滅菌し、用に臨みて 10 乃至 20% の割合に脱纖維家兎血液を加へ、平板培養基を作製す。

以下 1) を L. L. B., 2) を Z 氏平板と略稱す。

第 5 節 菌 株 蒐 集 法

分離培養基上に發生せる聚落より肉眼或は聚落顯微鏡を用ひ、精細に觀察し菌種の相異せりと思はるゝものゝみを釣菌し、Z 氏平板に塗布し、一つを嫌氣性に他を好氣性に培養し、偏性嫌氣性菌のみを L. L. B. に移植し、滅菌流動パラフィン重層後 37°C に 2 日間培養し、實驗菌株となし、同時に塗抹標本をも作製せり。

第 3 章 偏性嫌氣性菌檢出成績

實驗材料 100 例 (乾肝 50, 軟肝 50) 中より初め 78 菌株を分離釣菌し得たれども、實驗の進むにつれ、同一菌種のものにして種々なる條件により聚落或は菌型に多少の異變を來し、爲に同一材料より同一菌種を數回釣菌せる事判明し、菌株實數は 55 菌株となり、更に之等を相類似せる諸點より 7 菌種群に分類するを得たり。

次に實驗材料を乾肝、軟肝に分け、檢出し得たる偏性嫌氣性菌を各群別に表示すれば第 1 表の如し (第 1 表参照)。

表示の如く、乾、軟肝各 50 例中乾肝 21 例に菌陽性即ち 42%。軟肝 17 例陽性即ち 34%。故に 100 例中に菌陽性 38、即ち陽性率 38% なり。

更に各群別に數的關係を見れば第 2 表の如し (第 2 表参照)。

第 2 表に示す如く、菌檢出數乾肝中になんぞ優るも大差なく、各菌種群に就きて見るに 4 群は軟肝中にのみ檢出す。

然して檢出成績を通覽し、特記すべきは表示の如く、全實驗例中軟肝 2 例に偏性、通性嫌氣性菌、更に I の實驗に於て好氣性菌も亦共に陰性にして、無菌例なりし事なり。

第 4 章 菌種群の一般生物學的性狀

蒐集せる偏性嫌氣性菌株は新鮮なる P_H 7.2 の L. L. B. 培養 37°C に 18 時間乃至 24 時間のものを用ひ、一般生物學的性狀試驗を行へるも、各菌種群中の各菌株により多少の差あるも殆ど一致するが故に個々菌株に付きて記述せず、各菌種群別に主なる性狀のみを記述し、他は各菌種群中の代表菌株を選び、それが性狀を表示せんとす。

第 1 表 叮嚙中の偏性嫌気性菌種群検出表

叮嚙種類	材料番號	被検者名	性	年齢	検出菌種群		叮嚙種類	材料番號	被検者名	性	年齢	検出菌種群	
乾	1	大野○	♂	12	I 群	II 群	軟	3	大野○	♀	5	II 群	III 群
	6	宮崎○	♂	26	II 群			4	田中○	♂	18	I 群	
	7	谷部○	♂	23	I 群			5	曾山○	♂	29	II 群	III 群 IV 群
	9	木暮○	♂	17	I 群	II 群		8	本間○	♂	26	I 群	
	11	鈴木○	♂	16	I 群			13	田中○	♂	23	VII 群	
	14	福喜○	♂	25	II 群	III 群		17	某○	♂	29	V 群	IV 群
	18	三井○	♂	35	I 群			25	坂口○	♂	24	I 群	I 群
	21	内山○	♂	29	I 群			36	長野○	♀	23	IV 群	
	22	目黒○	♂	20	VI 群			46	藤井○	♂	12	I 群	II 群
	29	高井○	♂	20	II 群	VI 群		50	佐々木○	♀	12	III 群	
	32	宮副○	♂	50	II 群			54	河村○	♂	23	III 群	VI 群
	37	中村○	♀	22	I 群	II 群		56	早川○	♂	8	I 群	II 群
	38	鈴木○	♀	23	V 群			62	小林○	♂	16	I 群	
	39	中尾○	♀	27	III 群			64	細谷○	♂	25	V 群	
叮嚙	41	菅澤○	♀	26	II 群	VII 群	嚙	78	深澤○	♂	22	I 群	
	44	矢島○	♀	28	II 群	III 群		80	池田○	♂	33	II 群	
	52	大島○	♂	25	I 群			95	青田○	♂	21	I 群	
	55	秋永○	♀	40	VI 群								
	63	秋永○	♀	8	III 群	VII 群							
	69	松本○	♂	21	I 群								
嚙	73	吉田○	♀	19	I 群	III 群							

第 2 表 叮嚙 100 例中の偏性嫌気性菌種群検出率

菌種群別	乾 叮 嚙	軟 叮 嚙	總 計	検 出 率 (%)
I 群	10	8	18	18
II 群	9	6	15	15
III 群	5	4	9	9
IV 群		3	3	3
V 群	1	2	3	3
VI 群	3	1	4	4
VII 群	2	1	3	3

全 實 験 例 中 の 無 菌 例

叮嚙種類	材料番號	被検者名	性	年 齡	検 出 菌	
					偏性嫌気性	延性嫌気性
軟	36	今西○	♀	12	—	—
軟	42	平林○	♀	40	—	—

第1節 Z氏平板培養所見

I群 聚落は灰白綠色、不透明、鉤狀に隆起し、光澤あり、表面平滑にして少々扁平、正圓形をなし、周縁滑澤或は不整、溶血は聚落に一致する場合、或は大なる溶血暈を有する場合とあり。聚落の大きさは比較的大にして、一般菌の如く平板上の聚落數に逆比例す。培地は褐色又は綠色を呈す。特有なるは聚落が空氣に觸るゝと直ちに或は數時間後に美麗なる綠色を呈す。

II群 聚落は黃白色或は灰白色にして、中央疣狀に隆起し、この部を中心として山脉狀突起を出し、更に毛狀突起を放出し、培地に嵌入し、多數相集りて全培地に擴り、表面僅かに光澤を有し、溶血性ありて鉤菌少々困難なり。培地は黃赤色を呈し、特有の臭氣を有す。

III群 聚落は灰白色或は透明、大小不定の圓形又は類圓形の菲薄扁平にして、表面少々光澤あり、中央又は偏在性に小なる出臍樣突起を有し、周縁滑澤或は毛狀突起を放出す。本菌は塊狀型を作り易く、地圖狀又は分葉狀を呈し、比較的鉤菌し易し、培地不變なり。

IV群 聚落は透明或は僅かに灰綠色、不透明の地圖狀又は分枝狀を呈し、毛狀突起を放出するもの、又は纖弱微細なる毛を束れたるものが多數集りて平板上に擴がれるが如き狀をなすものあり。溶血作用なく、培地不變なり。

V群 聚落は灰白色又は淡灰綠色、類圓形、大小比較的小にして、個々に溶血は判明せざれども、數個相集る場合溶血暈を示す。聚落或は分葉形又は地圖狀を呈し、毛狀突起を生ずるも余の場合には二重蹄係をなすものなし。

VI群 聚落は灰白色、不透明、中央高き圓形、表面光澤あり、周縁滑澤にして、大小大なるものは個々に溶血暈を有し、小なるものは相集りて、溶血作用を現はす。培地は不變なり。

VII群 聚落は白色又は灰白色、不透明、低き半球狀を呈する圓形表面少々光澤あり、周縁滑澤なれども、培地は聚落に一致して帶狀に少々陥没せる觀を呈す。培地は淡赤褐色不變なり。

以上記述の檢出諸偏性嫌氣性菌は一般の偏性嫌氣性菌の如く、本培地上にては聚落形狀は甚だ不安定にして、變形を生じ易し。

第2節 L.L.B. 培養所見

I群 培養10時間にして瓦斯發生あり、濁濁を呈し、漸次旺盛となり、24時間乃至48時間目に高潮に達し、以後次第に衰へ、瓦斯發生は約5日後に於ても尙輕く振盪後には輕度存在するも以後消失し、濁濁は漸次に透明化し、肝片周圍に沈澱を生じ、終に透明となる。

II群 瓦斯發生、濁濁を生ずるも、I群の如く強烈ならず、特有なるは時日經過と共に惡臭を發し、肝片は消化されて黑褐色細片となり、培地下半分は黑色を呈し中に褐色の肝片を混す、消化は時日の經過に伴ひ旺盛となり、全培地黑色を呈す。

III群 瓦斯發生及び濁濁はII群に類するも、肝片消化力は少々劣る。然れども長時日の後にはII群と同様肝片は消化せられて細片となり、液は僅かに黑色を呈するも、少數は比較的速かに綠黑色を呈す。

IV群 培養24時間にして多少濁濁を生じ、2乃至3日目に中等度となり、之を最高として、長時日後には透明となる。瓦斯は發生せざるものと、培養24時間にして、輕度に發生し、第2日目以後消失するものとあり。共に浮游狀の沈澱を生ず。

V群 培養24時間にして、中等度の濁濁を生じ、輕度に瓦斯發生あるものと、初めより瓦斯發生なきものとも共に浮游狀の沈澱少量を生ず。

VI群 培養24時間にして、輕度に發育し、48時間にて中等度の濁濁を生じ、時日經過するに従ひ漸次濁濁の度を減じ終に透明となり、少量の浮游狀沈澱を生ず。瓦斯發生は最初少々旺盛にして漸次微弱となり、培養第4日目以後は消失す。

VII群 培養24時間にては發育せず、培地に何等變化を認めざるも第2日目に至り多少の潤濁を生じ、以後肝片上、少量に浮游狀の沈渣を認め、潤濁は漸次消失し、終に透明となる。

第3節 牛乳嫌氣性培地培養所見

牛乳約10.0 cc 滅菌試験管に分注し、更に滅菌流動パラフィンを重ねし、型の如く滅菌新製せる牛乳培地内に、L. L. B. 37°C 24時間培養の各菌種夫々2乃至3滴を移植し、37°Cに培養、2週間に亘って觀察せり。

I群 速かに旺盛なる瓦斯發生をなして發育し、カゼインを凝固せしめ、培地を透明化し、所謂急激凝固を行ひ、強酸性を呈し、凝固せるカゼインは消化せず。

II群 比較的速かに發育し、消化して培地を上部より透明化し始め、培養6日目最高潮となる。惡臭を發し、アルカリ性を呈す。

III群 比較的速かに發育し、消化して培地を上部より透明化し、惡臭を發し、アルカリ性を呈し、II群に類す。

IV群 殆ど變化なし。

V群 殆ど變化を認めざるもの及び培地上部僅かに透明化せるものあり。

VI群 培地全体として多少凝固せる觀を呈す。

VII群 殆ど變化を認めざるもの及び培地上部僅かに半透明部を生ぜるものあり。

第4節 腦粥嫌氣性培地培養所見

新製腦粥培地を滅菌試験管に10.0 cc宛分注し、流動パラフィンを重ねし、型の如く滅菌し、更に2分の鐵針を灼熱滅菌して、1本宛投入す。之にL. L. B. 培養の各菌種を各々0.5 cc宛移植し、37°Cに培養、2週間に亘って觀察せり。

I群 瓦斯發生、潤濁あるも、黒變せず。培地上部僅かに透明となり、底部は稍々黄色を呈す。

II群 瓦斯發生、潤濁を以て發育するも、培地上部のみ透明化し、培地全体黄色となり、時日を経るに従ひ、底部より黑色となり始め、惡臭を發し、更に時日を経過すれば全培地縁黑色となる。

III群 瓦斯發生、潤濁を以て發育し、時日を経過と共に培地は黑色を呈し、惡臭を放つも、II群に比して程度弱し。

IV群 殆ど變化なきもの及び培地底部僅かに褐色を呈するものあり。

V群 瓦斯發生、潤濁を以て發育し、培地底部黄色となる。更に培地中央部に帶黒褐色の輪を生ずるものあり。

VI群 輕度瓦斯發生、培地上部半透明化し、培地全体稍々不動となり僅かに凝固せるが如き觀を呈すもの及び殆ど變化なきものあり。

VII群 培地稍々不動となり、上部僅かに透明化し、同時に培地僅かに黄赤色を呈す。

第5節 毒 力 試 驗

實驗動物として13乃至15 gのマウスを使用す。實驗菌株は夫々L. L. B. 24時間乃至48時間培養のものを菌液となし、對照として無菌検査を終りたるL. L. B.を使用す。

菌液を初め0.3 cc次ぎに0.5 ccを各菌株に付き2匹宛腹腔内に注射し、對照としてL. L. B.を同量同様腹腔内注射を行ひ、10日間に亘り觀察せり。

I群中のNr. 11 鈴木株、Nr. 14 田中株、Nr. 46 藤井株は2、3日目にマウスを斃死せしめたるも、對照は變化なく、V群即ちNr. 17 某株、Nr. 38 鈴木株、Nr. 64 細谷株は數回本試験を反覆せるも多少局所硬結あるのみにして斃死せず。依ってV群は非病原性菌種なり。他の全菌株はマウスに何等の變化をも認め

第 3 表 代表菌株の一般

菌 種 群	形 態 (Z 氏 平 板)					芽 胞		鞭 毛	莢 膜	運 動 性	グ ラ ム 染 色	病 原 性	好氣培養		葡 萄 糖 瓦 斯 發 生	L. L. B.	
	長 さ (μ)	幅 (μ)	排 列	曲 直	菌 端 形	部 位	形 狀						普 通 寒 天 板	Z 氏 平 板		瓦 斯 發 生	消 化
I 群	2-9	1-1.5	單 2 個並立	真直	鈍	—	—	—	—	—	+	+	—	—	卅	卅	—
II 群	3-7	0.5-0.8	單 在	真直	鈍	偏在	橢圓	+	—	+	+	—	—	—	卅	卅	+
III 群	3-7	0.8-1.0	單 2 個並立	真直	鈍	偏在	橢圓	+	—	+	+	—	—	—	+	+	+
IV 群	4-12	0.4-0.6	單 2 個並立	曲, 直	鈍	端位	正圓	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—
V 群	1.6-5	0.6-0.8	單 2 個並立	曲, 直	鈍	偏在	橢圓	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—
VI 群	0.3-0.4		双 葡 萄 球 狀	球菌		—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—
VII 群	0.8-1.0		双 連 鎖 球 狀	球菌		—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—

す。従って毒性なきものと認む。

第 6 節 菌種群代表菌株の一般生物學的性状並に推定菌種名

顯微鏡的所見, 病原性試験, 好氣性培養, 葡萄糖肝寒天高層培地培養所見
L. L. B. 培養所見, 牛乳培地培養所見, 腦粥培地培養所見, グラチン液化試験
凝固血清消化試験, インドール反應, 含水炭素分解試験, 推定菌種名
以上の 12 項に就きて表示す (第 3 表参照)。

第 7 節 菌種名並に加熱抵抗試験

I 群は全く *Bac. Welchii* に一致し, Nr. 11, Nr. 14, Nr. 46 の各菌株は病原性を有し, 他の菌株は非病原性なり。

分離培養に際しては非加熱及び加熱分離培養 75°C 30 分乃至 80°C 20 分にて最大數に分離し得たり。

加熱抵抗試験成績 100°C 29 分間加熱後培養試験に於て尙僅かに生存す。

II 群は全く *Bac. putrificus verrucosus* に一致す。

分離培養に際しては 100°C 5 分乃至 35 分にて最大數に分離し得たり。

加熱抵抗試験成績 100°C 60 分間加熱後培養試験に於て尙僅かに生存す。

III 群は全く *Bac. putrificus tenuis* に一致す, 分離培養は II 群と同様なり。

加熱抵抗試験成績 II 群に比し稍々低く, 100°C 40 分間加熱後培養試験に於て僅かに生存するのみなり。

IV 群 Nr. 17 菌株は菌型稍々狭小長型。Nr. 5, Nr. 36 の各菌株は弱くグラチンを液化及び Saccharose を僅かに分解するの諸點相違するも, 他の諸性状全く *Bac. tetanomorphus* と一致す。依って *Bac. tetanomorphus* と推定せり。

分離培養に際しては加熱分離培養 100°C 5 分乃至 35 分にて分離し得たり。

加熱抵抗試験成績 100°C 60 分間加熱後培養試験に於て尙僅かに生存す。

生 物 學 的 性 狀 並 に 推 定 菌 種 名

牛 乳 凝 固	脂 肪 消 化	黒 臭 變 氣	ゲ ラ チ ン 液 化	凝 固 血 清 消 化	イ ン ド ー ル 反 應	含 水 炭 素 分 解 試 験										推 定 菌 種 名
						Glycerin	Mannit	Isodulcit	Glucose	Galaktose	Lävulose	Saccharose	Laktose	Maltose	Inulin	
卅	—	—	—	+	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	—	Bac. Welchii
+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Bac. putrificus verrucosus
+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+	—	Bac. putrificus tenuis
—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	Bac. tetanomorphus
+	—	±	±	+	—	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—	Bac. Novyi
+	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+	—	Diplococcus anaerobius
—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	—	Streptococcus anaerobius

V 群 Nr. 17, Nr. 38, Nr. 64 の各菌株共に脂質培地の底部初め黄色, 時日経過と共に培地中央部に輪状の黒褐色帯を生じ, 多少臭氣を感じ, Glycerin を分解せず Mannit を分解する諸點相違するも, 他の諸性狀全く Novyscher Bacillus と一致し, 再三の毒力試験成績も陰性なりしにより非病原性の Bac. Novyi と推定せり。

分離培養に際しては非加熱及び加熱 80°C 20 分の間に於て分離し得たり。

加熱抵抗試験成績 100°C 5 分間加熱後培養試験に於て尙僅かに生存す。

VI 群 相集りて葡萄狀配列をなすも, 各菌は必ず双球菌狀をなし, 他の諸性狀 Diplococccen に類似す, 依って Diplococcus anaerobius と推定せり。

分離培養に際しては非加熱及び加熱 75°C 30 分にて分離し得たり。

加熱抵抗試験成績 80°C 15 分間加熱後培養試験に於て僅かに生存す。

VII 群は配列比較的長連鎖をなし, 他の諸性狀 Streptococccen に類似す。依って Streptococcus anaerobius と推定せり。

分離培養に際して非加熱及び加熱 75°C 30 分にて分離し得たり。

加熱抵抗試験成績 80°C 15 分間加熱後培養試験に於て尙僅かに生存す。

第 8 節 町 藤 毒 性 試 験

健康なる町藤が健康なる動物に對し, 何等か特異性を有するに非ざるかとの考への下に本試験を行へり。

第 1 項 試 験 方 法

1. 試験材料: 健康町藤 35 例 (乾町藤 20, 軟町藤 15)。
2. 試験動物: 10 g - 15 g の健康マウス。
3. 町藤水 (重曹 1.0, Glycerin 5.0, 蒸餾水 15.0)。

4. 試験注射材料: 1, 2, 3を豫め用意し, 4は健常町嚙0.05g-0.1gを滅菌乳鉢中に入れ, 之に町嚙水全量5.0ccを少量づゝ注ぎつゝ可及的細碎せる後軽く遠心沈澱を行ひ, 生ぜる上清を試験注射材料となし用意す。先づ豫備試験として町嚙水のみを注射材料とし試験マウス2匹宛尾静脈内に0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1ccを夫々注射し, 同時に同一條件の下に試験マウス2匹宛腹腔内注射を行ひ, 疑しき例は反覆同試験を施行し, 次ぎの如き成績を得たり。

豫 備 試 験 成 績 表

試験材料	試験動物	静 脉 注 射 量 (cc)	轉 歸	
			静脉注射によるもの	腹腔内注射によるもの
町 嚙 水	健 康 マ ウ ス	0.5	死	死
		0.4	死	死
		0.3	死	生
		0.2	死, 生	生
		0.1	生	生

静脉注射に依るものは0.5, 0.4, 0.3cc共に注射直後斃死し, 0.2ccにては注射直後斃死せるもの並に注射直後痙攣様状態となり約30分以内に斯る状態消失し斃死せざるもの及び殆ど變化を認めざるものを生じ, 0.1ccにては殆ど變化を認めず。

腹腔内注射に依るものは0.5cc, 0.4ccにては注射直後及び注射後約30分より1時間以内に斃死す。0.3ccにては斃死するものと斃死せざるものとを生じ, 0.2cc及び0.1ccにては斃死せず。

本試験 新製せる試験注射材料0.3, 0.2, 0.1ccを試験マウス2匹宛尾静脈内に夫々注射し, 腹腔の場合に於ては0.4, 0.3, 0.2, 0.1ccを腹腔内に夫々注射し, 同時に同條件の下に對照として町嚙水のみをマウス尾静脈並に腹腔内に夫々注射す。

第 2 項 試 験 成 績

全例中次ぎに表示する静脉注射法に依る1例のみは對照及び豫備試験成績と相違し, 試験マウスを注射直後斃死せしめ, 他の静脉注射法及び腹腔内注射法に依る全例は對照と一致し, 陰性に終る。斃死せるマウス剖検体より病原性細菌を培養し得ず。

町 嚙 の マ ウ ス に 對 す る 毒 性

試験材料 番 號	材料種類	静脉注射量 (cc)	轉 歸	對照試験 材 料	静脉注射量 (cc)	轉 歸
11	乾 町 嚙	0.3	死	町 嚙 水	0.3	死
		0.2	死		0.2	死
		0.1	死		0.1	生

第 5 章 總 括 並 に 考 按

健常なる町嚙100例(乾町嚙50, 軟町嚙50)中よりL. L. B. 及びZ氏平板培地を用ひ, 非加熱重層法及び加熱分離培養法を應用し, 橋本式ドライアイスを用ふる嫌氣性培養法を以て

培養を行ひ、偏性嫌氣性菌 55 菌株を検出し得、更に各種性狀試験成績上 *Bac. Welchii*, *Bac. putrificus verrucosus*, *Bac. putrificus tenuis*, *Bac. tetanomorphus*, *Bac. Novyi*, *Diplococcus anärobius*, *Streptococcus anärobius* の 7 菌種群に分類し得たり。

耳聾中の細菌學的檢索は専ら好氣性菌の數種に限られたるも、文献を徴するに外傷殊に戰時外傷に於て死亡率高き瓦斯浮腫の原因菌が嫌氣性菌たるは諸家の認むる處にして、更に高死亡率を示すは之に *Anaeroben Streptococcen* による瓦斯フレグモネを混ざる場合ならんと稱せられ、又 *Marwedel* は *Anaeroben Streptococcen* による瓦斯壞疽を報告し、尙注射時或は種々なる手術時に嫌氣性菌により惹起せらるゝ諸疾患あるは屢々報告せらるゝ處なり。

然るに耳鼻咽喉科領域に於ては嫌氣性菌に關する報告は好氣性菌に比し未だ甚だ寥々たるものにして、更に基礎的實驗たる健常耳聾中の偏性嫌氣性菌の詳細なる研究報告は余の寡聞其の例を知らず。故に本實驗成績と比較検討し能はず。依つて、本實驗上の諸成績を仔細に検討するに、瓦斯浮腫の原因菌たる *Bac. Welchii* を初めとして、嫌氣性連鎖狀球菌、嫌氣性双球菌及び *Bac. putrificus verrucosus*, *Bac. putrificus tenuis*, *Bac. Novyi*, *Bac. tetanomorphus* 等の健常耳聾中に存在せるを認め、尙且つ之等諸細菌は單獨に或は相互に又は好氣性菌と共に、生理解剖學的隣接關係より外聽道並に二次的に中耳疾患の起炎菌たり得るものと思ふ。

次に菌檢出率を見るに、總括的には比較的抵率を示すに拘らず球菌のみは比較的高檢出率を示す。

更に耳聾種類の相異に伴ひ、細菌學的にも亦相違し、乾耳聾中に菌陽性率 42% に對し、軟耳聾中菌陽性率は 38% なり。従つて菌檢出率は軟耳聾に比し乾耳聾中に稍々高率を示す。

然るに *Bac. tetanomorphus* のみは本實驗に於て檢出例僅かなりしも、乾耳聾中に檢出せず軟耳聾中にのみ存在せしは佐々木並に本教室夫馬等に依る *Bac. Welchii* を除き、日光の照射し乾燥せる處に嫌氣性菌少く、殊に *Bac. tetanomorphus* 類似の破傷風菌の檢出なしとの報告及び *Bac. tetanomorphus* が人間唾液中に證明せられたりとの報告等を對照し、加ふるに實驗材料 100 例中 2 例即ち美麗なる琥珀色の軟耳聾に偏性、通性嫌氣性菌の唯一をも檢出せざりし事等を併せ考察するときは聊か興味ある事なり。

翻つて I 及び II の實驗成績を綜合し、之を按ずるに、檢出せられたる嫌氣性菌並に好氣性菌の依つて來る原因を自然界中に求むるならば耳聾は人体外皮と同様常に外界と接觸し、且つ之と密接不離の關係にある外聽道内には耳聾等ありて常に濕潤し、一定溫度を保ち細菌の温床ならんと稱する諸家あるに拘らず本實驗成績に示す如く、無菌例を生じ、尙且つ菌檢出率比較的的低く、健常耳聾が動物に對し毒性を有する 1 例を生ぜるは、耳聾生理作用の一端が機械的且つ化學的に殺菌作用或は菌發育阻止作用にあるに非ざるか。

更に耳聾種類に依り菌檢出率に相違を生ぜるは、或は *Flemming* の稱する *Lysozym* なる

ものが耳聾中にも亦含有すると稱せらるゝ現状なれば、或は之の含有量の多寡が原因の一部をなすに非ざるかと推定す。

III. 抗 酸 性 菌

第 1 章 前 書

耳科方面に於ては 1883 年 Eschle に依り初めて耳漏内にも結核菌ある事を認められ、1886 年 Nathan も亦之を發見し、1884 年 Gottstein、1903 年 Neufeld 等は外聽道内に非病原性抗酸性菌を發見し、殊に Neufeld は耳聾内に恥垢菌に類似せる抗酸性菌を發見せり。

本邦に於ても亦中村、小室等は耳漏検査に際し、結核菌と非病原性抗酸性菌と誤る事あるを注意し、更に諸家に依り非病原性抗酸性菌の耳漏内迷入をも唱えらるゝに至れり。

斯の如く耳漏中結核菌検査に際しての迷入並に急性、慢性中耳炎に際しての二次的感染あるを思へば、健常耳聾中の抗酸性菌の存在は生理解剖學的關係より最も有意義なるに拘らず、耳聾中の抗酸性菌の研究は甚だ寥々たるものにして、殊に健常なる耳聾中本菌の詳細なる研究報告は之を見ず。依つて本實驗を行ひ、聊か得る所ありたるを以て茲に報告し、大方諸彦の御批判を乞はんとす。

第 2 章 實 驗 方 法

第 1 節 實驗材料並に實驗材料採取法

I 及び II の場合と同様先づ外耳及び外聽道並に中耳に病變なく、全身的に疾患なきを認め、次ぎに健常なるを確定せる耳聾を實驗材料とし、之を乾耳聾と軟耳聾とに分類し、材料採取法は I、II の場合と全く同様なり。

第 2 節 分離培養法並に分離培養基

分離培養法は Löwenstein 法を應用し、培養基としては Petragnani 培地を用ひ、本實驗を行へり。

分離培養法 實驗材料を滅菌遠心沈澱管に入れ、豫め滅菌作製せる 5-10% 硫酸水 5 cc を加へよく混和するも平等に混和する事なきにより、出来るだけよく振盪しつゝ室温に約 40 分、次いで之を 1 分間 3000 廻轉を以て遠心沈澱する事約 30 分間、其の上清を棄てゝ沈澱を白金耳を以て豫め調製し置きたる Petragnani 培地 3 本に成る可く平等に塗布し、37°C に培養せり。

分離培養基の製法 先づ牛乳 150.0 cc 及び馬鈴薯澱粉 6.0 g、ペプトン 1.0 g をコルベン中に入れ、別に良質馬鈴薯 1 個を石鹼水にて良く洗ひ、發芽點及び腐敗點を除き外皮を去りて鶏卵大となし、昇汞水中に浸漬消毒したる後良く水洗し、更に之を細切して後水洗水の乳白色の無くなる迄良く水洗したるものを先のコルベン中に加へ、之等を重盪煎上にて振盪しつゝ約 30 分間煮沸し 50°C に冷却したる後、更にこの中に外殻を良く消毒したる鶏卵 5 個、内 4 個は全卵 1 個は卵黄のみを滅菌漏斗を用ひて注加し、尚グリセリン 12.0 cc 及び 2% マラヒット綠 10.0 cc を加へ良へ混和したる後、滅菌ガーゼにて濾過しつゝ試験管に約 7.0 cc 宛分注し、血清凝固器内に斜面に置き、第 1 日目 85°C に 30 分間、第 2 日目及び第 3 日目 80°C に 15

分間加温凝固滅菌して製す。

第 3 節 菌 株 蒐 集 法

培養せる Petraghani 培地上の聚落發生の有無を毎日検査し、聚落出現せば塗抹標本を作製し、Ziel-Neelsen 法を以て染色し、聚落の一部を取り、新製せる Petraghani 培地に接種培養保存し、他日の要に供すると共に元の培地は其の儘 37°C に培養し、約 4 週間聚落の状態を観察せり。

第 3 章 實 驗 成 績

第 1 節 検 出 率

健常町嚙 110 例中より抗酸性菌を 9 例検出し、8.18% の陽性率を得たり。細別すれば乾町嚙 60 例中 5 例陽性にして即ち 8.33%，軟町嚙 50 例中より 4 例即ち 8% 陽性率なり。

第 2 節 分 離 菌 株

分離したる 9 菌株に就き、更に之等を聚落状態及び形態學的所見並に諸性狀上より第 1 菌種群 (1 群) 並に第 2 菌種 (2 群) 及び第 3 菌種 (3 群) に分類し得、之等諸菌株を實驗材料種類に依り分類し、詳述すれば第 1 表に示すが如し。

第 1 表 分 離 菌 種

町嚙種類	材料番號	被 檢 者 名	性	年 齡	菌 株 名	菌 種 別
乾 町 嚙	5	田 中 ○	♀	20	田 中 株	I 群
	11	田 尻 ○	♀	18	田 尻 株	I 群
	13	川 上 ○	♂	15	川 上 株	II 群
	17	中 村 ○	♀	16	中 村 株	I 群
	37	多 山 ○	♂	20	多 山 株	I 群
軟 町 嚙	14	長 瀬 ○	♂	41	長 瀬 株	III 群
	20	佐 藤 ○	♀	30	佐 藤 株	I 群
	49	中 尾 ○	♂	10	中 尾 株	I 群
	104	二 瓶 ○	♂	24	二 瓶 株	I 群

第 3 節 分離菌種の一般生物學的性狀

第 1 菌種群中の各菌株により多少の差はあれど殆ど一致するが故に總括して 1 群とし、他を夫々第 2 菌種 (2 群)、第 3 菌種 (3 群) として述べんとす。

第 1 項 Petraghani 培 地 上 の 所 見

1 群及び 2 群は本培地に比較的發育旺盛にして 3 群は 1 群及び 2 群に比して稍々劣る。

1 群 白色にして雪片を培地表面上に置きたるが如き狀をなし、周縁不規則なる聚落を培養第 3 日目前後に發生し、時日を経るに従って發育旺盛となり、長時日經過すれば乾燥す。

2 群 白色にして 1 群に比して稍々塊狀、表面僅かに平滑、周縁不規則なる聚落を形成し、發育狀態 1 群と同様なり。

3 群 淡黄色にして牡蠣殻狀に隆起し、不透明、周縁不規則、表面光澤なき聚落を形成し、約 1 週間後より發生し、徐々に發育す。

第2項 形態學的所見

1 群 短徑 0.5-0.8 μ , 長徑 2.0-5.0 μ の桿菌にして輕度彎曲或は根棒型をなし, 顆粒 1-3 個を有し, 配列不整なれども, 單在或は並列するもの又は短連鎖を思はしむるもの多し。

2 群 短徑 0.4-0.8 μ , 長徑 2.0-5.0 μ の桿菌にして, 輕度彎曲し, 顆粒 1-3 個を有し, 配列不整なれども, 單在性のもの多く, 比較的幅狭く, 長さ短きもの多し。

3 群 短徑 0.3-0.5 μ , 長徑 1.5-3.0 μ の桿菌にして, 輕度彎曲, 兩端鈍圓にして, 配列不整なれども, 連鎖なく, 顆粒 1-2 個を有す。

第3項 抗 酸 性

先づ Petraghani 培地上の聚落より 1 白金耳を取り礪腦の乳鉢中に入れ, 之に滅菌生理的食鹽水全量約 1.0-2.0 cc を少量づゝ注ぎつゝ細挫し可及的平等に混和せしめ, 之を遠心沈澱管に移し, 約 5 分間強く遠心沈澱を行ひ, この上清より 1 白金耳を取り塗抹標本作製す。斯くして比較的平等なる塗抹標本を得, 之を型の如くチール氏石炭酸フクシン液にて加温染色し, 水洗後よく乾燥せる標本を 3% 塩酸アルコール液を充滿せる水槽中に浸し置き, 時間的に之を取り出し, よく水洗後メチレン青にて後染色を施し檢鏡す。

實驗成績 1 時間後にては全菌株尙脱色せず。12 時間後にては尙全菌株脱色せず。15 時間後に始めて, 2 群即ち川上菌株脱色し, 1 群中僅か 2 菌株のみ稍々赤色感を殘すも, 他菌株は全部脱色す。3 群即ち長瀬菌株は尙脱色せず。24 時間後に於ては全菌株脱色す。

第4項 抗 酒 精 性

Petraghani 培地上の聚落より可及的平等なる塗抹標本作製し, チール氏石炭酸フクシン液にて型の如く加温染色を行ひ, 水洗後よく乾燥せる標本を無水酒精を充滿せる水槽中に浸し置き, 時間的に之を取り出し, よく水洗後メチレン青にて後染色を行ひ檢鏡す。

實驗成績 12 時間後變化なく, 24 時間にて尙脱色せず。48 時間更に 60 時間後にては尙全菌株脱色せず。72 時間後にては尙全菌株脱色せざるも, 長瀬菌株のみは他菌株に比し稍々變色せる感を呈す。

第5項 抗 煮 沸 性

K. Preis は抗酸性菌が普通細菌に比して煮沸により脱色せられ難く, 即ち抗煮沸性を有すとの事より各種抗酸性菌に就き煮沸脱色試験を行ひ, 病原性抗酸性菌は非病原性抗酸性菌に比して, 抗煮沸性强しと報告し, 戸田も亦本試験を行ひ, 大道, 占部等も亦之を追試し, 本菌類に抗煮沸性あるを認め, 更に病原性抗酸性菌は非病原性抗酸性菌に比して, 抗煮沸性强しとの同様成績を得たり。

實驗方法 Petraghani 培地上の聚落より可及的平等なる塗抹標本作製し, 型の如く, チール氏石炭酸フクシン液にて加温染色し, 水洗後, 重湯煎内の沸騰水中に浸し, 時間的に之を取り出し, 水洗後, メチレン青にて後染色をなし檢鏡す。

實驗成績 第2表に示すが如きも, 長瀬菌株のみは他菌株に比し, 抗煮沸性稍々強し。

第6項 葡萄糖寒天高層培地上の所見

1% 葡萄糖寒天高層培地に各菌株を穿刺し, 37°C に 3 週間培養し, 觀察するも全菌株瓦斯發生せず。

第7項 牛乳培地上の所見

新鮮なる各菌株を本培地に接種し, 37°C に 3 週間培養するも, 全菌株カゼインを凝固せず。陰性なり。

第 2 表 抗 煮 沸 試 驗 成 績

煮沸時間 菌 株 名	5"	10"	15"	20"	25"	30"	35"	40"	45"	50"	55"	1'
田 中 株	+	+	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—
田 尻 株	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
中 村 株	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
佐 藤 株	+	+	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—
多 山 株	+	+	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—
中 尾 株	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
二 瓶 株	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
川 上 株	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
長 瀬 株	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	—

(+) 脱色せざるもの, (±) 脱色せるものとせざるものと混ざるもの, (—) 脱色せるもの

第 8 項 イ ン ド ー ル 反 應

1%ペプトン水にパラフィンの小片を浮べ、之に新鮮菌を附着せしめ、37°Cに3週間培養し、Kitsato-Salkowski 法にて検査せしめ、全菌株悉く陰性なり。

1群及び2群は細心の注意の下に接種すれば液面に浮ぶも沈下し易く、3群は始めより沈下するに依りパラフィン片を用ひたり。

第 9 項 カ タ ラ ー セ 反 應

戸田は抗酸性菌の本反應に關して詳細なる研究を施行し、非病原性抗酸性菌は病原性抗酸性菌たる結核菌に比して、本反應は強盛なる結果を得、従つて、カタラーゼ作用の測定は病原性抗酸性菌と非病原性抗酸性菌との鑑別の補助法たり得るとなし、占部、末吉等の諸家により、追試せられ、確認せられたり。

カタラーゼ反應には簡單なる定性法と過マンガン酸加里液の脱色性を應用せる定量法の2法あり。

實驗法 定性法: Petagnani 培地上の聚落の少量を載物硝子に移し、之に過酸化水素液を滴下し、肉眼或は顯微鏡を以て觀察すれば、陽性なるときは過酸化水素分解して分子狀態の酸素を遊離し、氣泡を生ず。

定量法: 過酸化水素は硫酸存在の下に、過マンガン酸加里液を脱色す。この化學作用を應用せるものなり。

實驗に先だち次の諸液を豫め準備す。

1. 菌浮游液: Petagnani 培地上の聚落1mgが1ccの滅菌生理的食塩水に均等に浮游する如く、菌塊を滅菌乳鉢を用ひて細挫し、所定量の滅菌生理的食塩水を加へて調製す。
2. 過マンガン酸加里液: $1/1000$ 定規液を調製す。
3. 過酸化水素液: $1/1000$ 定規過マンガン酸加里液1.0ccが過酸化水素液1.0ccに相當する如くオキシフルを用ひて稀釋滴定して製す。
4. 硫酸水: 10% 硫酸水を調製す。

操 作 先づ10本宛の小試験管にて管列を作り、最初の第1管に各菌浮游液0.5ccを入れ、之を原液となして生理的食塩水を以て逐次倍數稀釋の下に0.5cc宛注下し、更に之に0.5cc宛の調製過酸化水素液を追加し、尙別に小試験管2本宛を用意し、1本に菌浮游液及び生理的食塩水各0.5cc宛注加し、他の1本に調製過酸化水素液及び生理的食塩水各0.5cc宛を注加し、夫々對照第1管、第2管とせり。次ぎによ

く振盪混和したる後 37°C の孵卵器に収め、時々振盪して 2 時間後に取り出し、各試験管に夫々 10% 硫酸水 1 滴を加へ更に過マンガン酸加里液 0.5 cc 宛を注加し、よく振盪す。

カタラーゼ存在すれば、過酸化水素分解せられて、過マンガン酸加里液の色調は脱色せられず、存在せざれば色調脱色さる。

對照第 1 管は脱色せられず、第 2 管は脱色す。

實驗成績 定性試験に於ては、全菌株悉く氣泡を生じ、陽性なり。

定量試験に於ては、第 3 表に示す如く、全菌株稀釋倍數により多少の差あれど悉くカタラーゼ反應陽性なり。

第 3 表 カタラーゼ反應實驗成績

稀釋順 菌株名	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	對照 1	對照 2
田中株	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
田尻株	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	+	—
中村株	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
佐藤株	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
多山株	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
中尾株	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
二瓶株	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
川上株	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	+	—
長瀬株	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—

(+) 脱色せざるもの、(±) 稍々退色せるもの、(—) 脱色せるもの

第 10 項 含水炭素分解試験

pH 7.0 の Pepton 水中に、0.5% の割に Glukose, Galaktose, Arabinose, Saccharose, Maltose, Laktose, Raffinose, Mannit, Inulin を溶解し、標示薬として、Bromthymolblau を用ひて滅菌小試験管に 3.0 cc 宛分注し型の如く滅菌し、之等に夫々各可検菌を浮遊せしめ、37°C の孵卵器に収め、3 週間培養して觀察し、同時に對照として、菌を移植せざるもの、含水炭素を入れざるものを用ひ、判定に便ならしめたり。

實驗成績 中村株、多山株、中尾株及び川上株は僅かに Glukose を分解し、他菌株は各種含水炭素を悉く分解せず、陰性なり (第 4 表参照)。

第 11 項 毒性試験

實驗方法 1. 實驗動物: 300-400 g の健康なる海獺の雄。

2. 菌浮游液: Petragani 培地上の聚落 0.5 mg を滅菌生理的食塩水 0.5 cc 中に可及的平等に浮遊せしむる様調製す。

之等を豫め用意し、先づ各株菌浮游液 0.5 cc を實驗海獺夫々 2 匹宛内股皮下に注射し、1 ヶ月間經過を觀察せり。

實驗成績 全菌株に毒性を認めず。

第 4 表 含水炭素分解試験成績

菌 株 名 含水炭素名	田中株	田尻株	中村株	佐藤株	多山株	中尾株	二瓶株	川上株	長瀬株
グルコース	—	—	+	—	+	+	—	+	—
ガラクトーゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
アラビノーゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
サッカローゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
マルトーゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ラクトーゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ラフィノーゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
マンニット	—	—	—	—	—	—	—	—	—
イヌリン	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(+) は分解せるもの, (—) は分解せざるもの

第 4 章 總 括 並 に 考 按

健康なる町藤を實驗材料とし, Löwenstein 法を應用し, Petragnani 培地を以て分離培養を行ひ, 實驗材料 110 中より抗酸性菌 9 菌株を分離し, 之等を性狀に依り第 1 菌種群, 即ち田中, 田尻, 中村, 多山, 佐藤, 中尾, 二瓶の各菌株及び第 2 菌種, 即ち川上菌株並に第 3 菌株即ち長瀬菌株に分類し得たり。

川上菌株は第 1 菌種群と Petragnani 培地上の聚落形態及び顯微鏡的所見に於て僅かに異なるも, 共に白色系菌種群に屬し, 長瀬菌株は第 1 菌種群及び川上菌株に比して諸性狀稍々病原性抗酸性菌に近く, 黄色系菌種群に屬す。

檢出全菌株は多少の差あれど Petragnani 培地上の發育比較的旺盛且つ迅速にして, カタラーゼ反應旺盛, 抗煮沸性及び抗酸性弱く, 抗酒精性强し等の諸性狀より非病原性抗酸性菌なるを思はしめ, 尚且つ動物試験の結果全菌株毒性なきを確め得たり。依って分離全菌株は非病原性抗酸性菌なる事確實なり。

文献を徴するに耳科領域, 殊に町藤に關し, Neufeld, Gottstein 及び Brieger は町藤中に恥垢菌に類似する抗酸性菌を證明せるも皆詳細なる培養方法及び性狀の記載なく, 余の檢出菌と比較検討する事能はざるも, 長瀬菌のみは恥垢菌に類似するも顆粒を有する點及び抗酒精性大なる點等より該菌と異なる。

斯の如く健康町藤中に抗酸性菌株に病原性抗酸性菌類似の菌の發見は興味ある事にして, 即ち分泌物たる町藤が種々なる原因により性狀上に多少の變化を來す事あるは想像するに難からず, 斯かる場合に於ては細菌學的にも亦變化を生ずる事あるは I 及び II の實驗成績の示す如く, 町藤種類に依り細菌學的檢索成績も亦相違する事より考ふるも容易に想像し得らるべく,

従って斯かる場合に於ては抗酸性菌の分野に於ても亦病原性類似の抗酸性菌が基礎的實驗たる健常耳聾中に存在する事より推察して、或は病原性抗酸性菌の存在する場合をも考慮し得らるるならん。加ふるに中耳炎に際し、二次的感染あるを併せ考察すれば意義深く、興味新なるものなり。

翻つて本成績上より、健常耳聾中に抗酸性菌殊に結核菌類似の非病原性抗酸性菌の存在は中耳或は外聽道疾患に際し、細菌検査殊に結核菌検索の場合、先進諸家の唱ふる類似菌迷入の諸原因菌の一つを先づ生理解剖學的隣接關係より耳聾中の非病原性抗酸性菌に求むるを至當なりと思意するものなり。

結 論

1. 實驗材料(健常耳聾) 60 中より生理的食塩水並に P_{H} 7.2 ブイヨン、普通寒天平板及び葡萄糖血液寒天平板培地を使用し、好氣性菌検索を行ひ、222 菌株を分離し得たり。
2. 總分離菌株中、球菌 124, 55.85%, 桿菌 98, 44.14% にして、細別すれば、乾耳聾 30 中、球菌 80, 60.6%, 桿菌 52, 39.39%。軟耳聾 30 中には、球菌 44, 48.88%, 桿菌 46, 51.11% なり。總菌株 222 の内乾耳聾中に 132 菌株、59, 45%, 軟耳聾中に 90, 40.54% なり。
3. 検出總菌株を性状に依り 18 菌種群に分類し、菌種名を推定せり。
4. 耳聾種類の相異に依り細菌學的にも亦菌検出率に相違を生じ、乾耳聾中に稍々高率を示す。
5. 總實驗例中無菌 2 例を得、共に美麗にして琥珀色を呈する軟耳聾なり。
6. 健常耳聾中の細菌と生理解剖學的に密接なる關係にある健耳外聽道内の細菌を比較するに細菌種類は殆ど一致し、検出率に於ても亦大差なきも、各菌種に就き檢するに耳聾概して低率を示す。
7. 健常耳聾中の細菌は外聽道炎並に二次的に中耳炎の起炎菌たり得るを推定し得。
8. 無菌例を得、耳聾種類により菌検出率相違し、尙總括的に細菌の検出率比較的低きは或は耳聾生理作用に因するものならむ。
9. 次ぎに實驗材料 100 中より L. L. B. 及び Z 氏平板を用ひ、非加熱並に加熱分離培養法を應用し、橋本式嫌氣性培養法を以て、偏性嫌氣性菌を分離し得たり。
10. 實驗材料 100 例中菌陽性例 38 にして 38%, 乾耳聾 50 例、軟耳聾 50 例に分ければ乾耳聾中 21 例 42%, 軟耳聾中 17 例 34% なり。
11. 全陽性例中より偏性嫌氣性菌 55 菌株を得。各種性状により之等を *Bac. Welchii*, *Bac. putrificus verrucosus*, *Bac. putrificus tenuis*, *Bac. tetanomorphus*, *Bac. Novyi*, *Diplococcus anaerobius*, *Streptococcus anaerobius* の 7 菌種群に分類し得たり。

12. 各菌種検出率は *Bac. Welchii* 18%, *Bac. putrificus verrucosus* 15%, *Bac. putrificus tenuis* 9%, *Bac. tetanomorphus* 3%, *Bac. Novyi* 3%, *Diplococcus anaerobius* 4%, *Streptococcus anaerobius* 3% なり。
13. 菌検出率は比較的低率を示し、細別すれば軟町藤に比し乾町藤中に稍々高率を示す。
14. *Bac. tetanomorphus* は軟町藤中にのみ検出せり。
15. 美麗にして琥珀色を呈する軟町藤 2 例に偏性、通性嫌気性菌共に検出せず。
16. 健常町藤のマウスに対する毒性を検したるに僅かに 1 例試験動物を斃死せしめたり。
17. 以上の諸成績を通覧し總括的考察を行ふに、健常町藤生理作用の一端は殺菌作用或は細菌發育阻止作用にあらずるか。尙町藤種類の相異により菌検出率に相違あるは、町藤中の *Lysozym* の含有量の多寡が原因の一部をなすに非ざるかと推定す。
18. 更に健常町藤 110 例中より Löwenstein 法を應用し、Petragnani 培地を用ひて分離培養を行ひ、抗酸性菌 9 菌株を分離し得たり。
19. 形態及び性状の一致し、同一菌種なる 7 菌株を第 1 菌種群となし、他の各菌株を夫々第 2 菌種即ち川上菌株、第 3 菌種即ち長瀬菌株に分類せり。然して第 1 菌種と川上菌株とは多少の差あれど諸性状一致する點多く、非病原性抗酸性菌の諸性状を有するも、長瀬菌株は病原性抗酸性菌に近似せる性状を有す。
20. Petragnani 培地上に全菌株比較的發展旺盛、迅速なるも、長瀬菌株のみは發育稍々遅し。
21. 全菌株抗酸性比較的弱く、抗酒精性比較的強し。抗煮沸性に於ては第 1 菌種群及び川上菌株は弱きも、長瀬菌株のみは比較的強し。カタラーゼ反應は全菌株に陽性にして旺盛なり。
22. 瓦斯發生、牛乳凝固及びインドール反應は全菌株に陰性なり。
23. 含水炭素分解試験に於ては、中村菌株、多山菌株、中尾菌株及び川上菌株僅かにグルコースを分解し、他は全菌株陰性なり。
24. 動物試験により全菌株に毒性を認めず即ち病原性なし。
25. 第 1 菌種群及び第 2 菌種即ち川上菌株は白色系菌種群に屬し、第 3 菌種即ち長瀬菌株は黄色系菌種群に屬し、共に非病原性抗酸性菌なり。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜り、且つ御校閲の勞を辱ふしたる恩師緒方教授に對し衷心より満腔の謝意を捧げ、併せて教室員諸兄の御好意を深謝す。

尙本研究に御聲援御便宜を賜りし恩師瀧田博士に對し深甚の謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和 14 年 1 月 25 日第 167 回千葉醫學會例會の席上に於て發表せり。)

主 要 文 献

- 新井: 日本醫事週報, 1765號. Brieger: Verh. dtsh. ot. Ges. 22, 1913. Bergey: Manual of Determinative Bakteriologie. 4. Ed. 1934. 千葉: 順天堂醫事研究會雜誌, 501號.
- Daranyi: Arch. Hyg. 96, 1925. Daranyi: Zbl. Bakter. usw. Orig. 134, 1935. DenkerKahler: Handb. Hals- usw. Hk. 6, 7. Eckert: Handb. d. Hals- usw. Hk. 6.
- Eichbaum: Z. Immunit. forsch. 74, 1932. Flemming: Z. Hyg. 58. Ford: The Textbook of Bacter. 1927. 藤川: 千葉醫學會雜誌, 12, 8號. 夫馬: 千葉醫學會雜誌, 15, 11號.
- Gottstein: Ftschr. Med. 4, 1886. Hess-Königsberg: Zbl. Hals- usw. Hk. 29, 1931. 羽根: 耳鼻咽喉科臨床, 11. 廣田, 三宅: 海軍軍醫會雜誌, 25, 10號. 平山: 大日本耳鼻咽喉科會會報, 45, 12號.
- 花村: 千葉醫學會雜誌, 12, 12號. 橋本: 千葉醫學會雜誌, 14, 11號. 伊藤: 大日本耳鼻咽喉科會會報, 34, 9號. 伊吹: 耳鼻咽喉科, 9, 12號. 岩田: 解剖學雜誌, 5, 10號.
- König: Zbl. Gynäk. Nr. 16, 1895. Kishi: Arch. Ohr- usw. Hk. 70, 1907. Körner: Lehrb. d. O. N. u. K-Krankheiten. Preis, K.: Wien. med. Wschr. 35, 1922. 小西: 大日本耳鼻咽喉科會會報, 43, 1號.
- 小室: 耳鼻咽喉科臨床, 13, 大正10年. 小張: 千葉醫學會雜誌, 14, 8號. Lehmann u. Neumann: Bakteriologische Diagnostik. Merkel: Handb. d. topographischen Anatomie. 1. Matsushita: Bakteriologische Diagnostik.
- 村上: 大日本耳鼻咽喉科會會報, 49, 9號. Neufeld: Arch. Ohr- usw. Hk. 59, 1903. 長尾: 大日本耳鼻咽喉科會會報, 40, 10號. 中島: 耳鼻咽喉科, 4, 6號. 長島: 皮膚泌尿器科雜誌, 36, 6號.
- 中田: 大日本耳鼻咽喉科會々報, 43, 11號. 中野: 海軍軍醫會雜誌, 25, 8號. 中田: 大日本耳鼻咽喉科會々報, 45, 2號. 緒方, 佐々木: 病原細菌學總論, 第10版. 太田原, 長崎, 市原, 森川, 梶本: 東京醫事新誌, 2815號.
- Petragnani: Zbl. Bakter. usw. Ref. 85, 1933. Kaufmann, P.: Zbl. Bakter. usw. Abt. I. 12, 1892. Rohrer: Arch. Ohr- usw. Hk. 29. Schwalbe, G.: Lehrb. d. Anat. d. Ohres. Berlin. 1887.
- Söhngen: Zbl. Bakter. usw. Abt. II. 37, 1913. 佐々木: 近世嫌氣性細菌學, 第1版. 佐々木: 十全會雜誌, 38, 1號. 關: 大日本耳鼻咽喉科會々報, 40, 6號. 齋藤: 大日本耳鼻咽喉科會々報, 43, 11號.
- 佐藤: 大日本耳鼻咽喉科會々報, 42, 12號. 佐吉: 結核, 3, 1號. 高橋: 耳鼻咽喉科, 2, 1號. 戶田: 日本微生物學雜誌, 20. 戶田: 東京醫事新誌, 2873, 2891, 2923號.
- 土屋: 軍醫團雜誌, 63. 占部: 滿洲醫科大學雜誌, 22, 6號. 占部: 福岡醫科大學雜誌, 29, 12號. 柳澤: 千葉醫學會雜誌, 13, 7號. 柳澤, 藤川, 柳澤: 千葉醫學會雜誌, 11, 6號.
- Zeissler: Anaerobenzüchtung, Kolle u. Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 3. Aufl. 10. Zeissler: Technik d. Anaerobenzüchtung, Kraus u. Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiol. Technik. 2.