

動物腸内に於ける好気性菌の生理的意義に関する実験的研究

千葉大学医学部衛生学教室(主任 谷川教授)

海 宝 豊 徳

TOYONORI KAIHO

(昭和33年6月20日受付)

目 次

第1章 緒言及び文献	第1節 葡萄球菌, <i>B. sporogenes</i> 混合投与実験
第2章 実験方法	第2節 <i>B. sporogenes</i> 投与実験
第1節 家鶏の無菌飼育装置	第3節 小 括
第2節 無菌飼育要領	第5章 実験成績(其の3)
第3節 使用鶏雛	第1節 葡萄球菌, 大腸菌混合投与実験
第4節 使用葡萄球菌の性状	第2節 大腸菌投与実験
第5節 使用 <i>B. sporogenes</i> の性状	第3節 実験鶏雛血清殺菌力の検討
第6節 使用大腸菌の性状	第4節 小 括
第3章 実験成績(其の1)	第6章 考 察
第1節 葡萄球菌投与実験	第7章 総括並びに結論
第2節 無菌飼育実験	主要文献
第3節 小 括	
第4章 実験成績(其の2)	

第1章 緒言及び文献

凡ての動物腸内には多種多数の細菌群が存在しているが、宿主である其の生体に対し、其れ等の細菌群が、如何なる影響や作用を与えているかは、古来多くの報告があり、有害論、無害論、有用論等述べられているが、腸内菌の動物に対する作用は、動物の生活に対して重要な意義あるものと見られなければならない。而して其の究明に就いては、無菌動物を用いて実験することに依つてのみ明らかにされ得るものと思われる。

当教室に於ては、多年腸内菌の研究が行われて来たが、殊に動物を無菌的に飼育し、其の動物に腸内菌を選択投与して其の菌の生理学的意義を究明する実験が行われている。

著者は谷川教授の命により、Reyniersの実験装置をヒントとして当教室にて作成更に改良せられた横タンク型平圧滅菌無菌飼育装置を使用して実験動物に鶏雛を選び受精卵の孵化直前より無菌飼育を実施、家鶏腸内細菌中の好気性菌より葡萄球菌を選び無菌雛に投与し、其の作用機序を観察すると共に他方既に有害作用ありと見られている大腸菌、*B. sporogenes* を葡萄球菌と共に投与して、其の併用

の影響、更に其の場合の雛血清殺菌力等を観察して興味ある結果を得たので、茲に報告する次第である。

動物の無菌飼育に就ては、1885年 L. Pasteur が無菌動物の飼育実験の可能性に就て明らかに予見を与え、更に無菌鶏雛を最初に飼育することを試みたのは1897年 Nuttal と Thierfelder であつたが此れは二つの実験開始後2日及び7日後の汚染によつて失敗に終つている。1899年より9年間に亘り Schottelius は無菌鶏雛飼育について実験を行い最初の成功者となつた。飼育期間は30日に及んだものがある。結論としては実験雛が体重減少を示して死亡してしまつたので、雛は無菌状態では飼育出来ず、又栄養物には腸内菌が必要であると断定した。然し1912年 Pasteur 研究所に於て E. Metschnikoff の弟子である Cohendy は鶏雛無菌飼育を実施し40日間継続に成功した。そして無菌状態生活の可能なることを報告した。1915年 Küster は鉄骨ガラス張りの箱の装置によつて山羊の無菌飼育を35日間実施している。1936年にはスウェーデンの Lund 大学の Glimstedt は動物無菌飼育実験の実施を正確に行い、無菌動物の淋巴腺の発達が無いことを証明した。1937年 Balzam は鶏雛を使用して

無菌飼育実験を行い、ビタミンの影響について腸内菌との関係無しと述べている。即ち58日間飼育し無菌動物の消化吸収に関する研究を報告している。Reyniersは1928年より動物無菌飼育に着手し、最初はガラス箱などを使用したのが次第に歩を進めて1946年には金属製の横円筒型タンク装置を完成し、完全に大規模な実験を実施するに至った。そして鶏雛をはじめ、モルモット、白鼠などを使用したが無菌動物の累代飼育の重要性を示し、最近の無菌飼育研究の先導者となつている。最近ではステンレス製の無菌飼育装置によつて実験も完全大規模に行われており(1956年米、加州 Walter-Leed 陸軍病院, Pennsylv-ania 大学), 又 Glimstedt の弟子である Gustafsson は高圧滅菌装置により白鼠を使用して無菌飼育を行つていることが報告されている。

我が国に於ては無菌動物飼育実験は歴史は割合長い、最初に実施したのは当教室で当時の谷川助教授指導により赤沢氏が1942年京大小林氏にヒントを得てガラス箱を使用し鶏雛を無菌飼育したが並々ならぬ苦心であつた。戦後空白期間を置いて再び実験が行われ、当教室の齋藤、河合両氏は谷川教授指導の下に苦心の末縦タンク型金属製実験装置を完成、鶏雛によつて実験を行い、1955年齋藤氏は無菌雛に大腸菌を投与すると有害作用を示すことを認め、河合氏は同じく腸球菌を投与すると有効的作用を示し、*B. sporogenes* を投与すると有害作用を来すことを認めた。又福島氏は同様にして嗜酸桿菌を投与すると有効的作用を示すことを報告している。1956年当教室田波助教授は新に作成せる横タンク型平圧滅菌無菌飼育装置を使用して鶏雛を飼育し其の血清について実験を行い、無菌雛の血清殺菌力は普通雛のそれよりも弱いことを確認した。1956年更に田波助教授は哺乳動物の無菌飼育を目的として高圧滅菌無菌飼育装置を完成し、現在モルモットを使用して実験中である。他方名古屋大学病理学教室では宮川教授等が1950年よりモルモットを使用して無菌飼育を実施し、炎症について研究を行つている。

以上の如く科学の向上と共に機械の進歩、ビタミン学の進歩による飼料の発達等が著しいので動物無菌飼育についても難点であつた飼育装置が次第に完全、且つ操作の容易なものが出現出来るに至り実験が進められてきた。

著者は1956年より1957年谷川教授指揮の下に当

教室に於て完成され、改良を重ねた横タンク型平圧滅菌無菌飼育装置を使用して鶏雛を無菌飼育することに成功したのである。而して過去種々の報告を観察するに此の種の実験によつては動物に対する感染の影響及び免疫の究明業績が少い。茲に於て著者は教室諸先輩のあとをうけ、腸内菌中好気性菌の中より葡萄球菌を選びて無菌鶏雛に与え、又有害菌とも一緒にして与えて発育の影響を観察すると共に、実験鶏雛の血清殺菌力をも検討したのである。

選択した腸内葡萄球菌については、1880年 Pasteur が膿汁中に一種の球菌を発見、1882年 Ogaston が葡萄球菌と命名してより、1884年 J. Rosenbach が純培養に成功し培養上色素産生の色調より白色、橙色、黄色の三種類に区別した。以後本菌に関する業績は数多く枚挙に遑ない。而して病原性菌、非病原性菌に区別されてある中、腸内非病原性菌を5株、健康成鶏糞便中より採取して使用した。非病原性菌については1935年吉田氏、1939年芹田氏は毒力極めて弱し、と報告している。

第2章 実験方法

第1節 家鶏の無菌飼育装置

LOBUND Report を参考として当衛生学教室が作成し1956年4月「生体の科学」誌上に発表した横タンク型平圧滅菌無菌飼育装置を少し改良整備したものであつて内径54cm、長さ80cmの横円筒形のもの2台でありコンクリート床密閉扉付室内に装置した。構造及び整備の詳細は上記「生体の科学」誌上に記載されているので詳述を略するが、改良の主なところとしてはタンクの横一側に germicidal-trap を接続し、trap 内に500倍昇永水を満して隔壁を介し外部とタンク内との連絡を可能にした。

滅菌整備操作は、先ず germicidal-trap 出入口密栓を確め、タンクに長大な特殊質ゴム手袋を附着部密にして取付け、タンク内各備品を整備し、各送排気管・蒸気管・モーターを点検の上、室内蒸気釜及び小型高圧釜にて蒸気を作成し十分排出されるのを待つて蒸気管によりタンク及び trap の蒸気送入口に接続して蒸気を送入、送気濾過器附近の蒸気排出管より排出させ、タンク内温度103°Cに達してより30分間継続し、終了時は蒸気排出管栓、蒸気送入口栓を閉じると共に蒸気管をはずし同時に送気濾過器を開いてモーターによる送気を開始する。此の際タンク内が陰圧を生じない様細心の注意を払つた。尚送気は室内に1/4馬力モーター2台を装置して送

気ポンプを活動させ送気管によつてタンクの送気濾過器へ接続した。送気濾過器は内径 4 cm, 厚さ 3 mm の鋼鉄管で長さ 36 cm, 一方を絞つて活栓を附し, 管内に青梅綿 30 g を詰め, 水柱圧 47 cm の圧力を保持する様にして空気を濾過清浄ならしめた。即ち 1 時間約 300 l の送気量となる。送気濾過器は予め高圧滅菌の上 (無菌試験を実施して) タンクに取付けて置く。タンクの滅菌は 3 日間間歇滅菌を実施した。滅菌終了後は送気しつつタンク内温度調節器により一定温度を保つ様にしたが, 恒温装置はタンク底部に高さ 10 cm の水槽を有し電熱にて水槽内外より水を温め, タンク内温度調節器と接続させて保温した。湿度は全実験を通じ 90~65% を保持出来た。排気は蒸気送入孔を排気孔としてゴム管にて 200 倍昇汞水を入れた瓶中に導き昇汞水を通して排気せしめた。germicide-trap 中には 500 倍昇汞水を入れ外部への開口部にはゴム栓を施した。

以上の如く滅菌操作を実施したタンク中には滅菌前より各実験器具 (天秤, 錘, 飼料鉢, 水鉢, 乾湿寒暖計数本, 温度調節器, 培地, 高圧滅菌せる飼料, 飲料水, 注射器, 色素液, 予備電球其他小器具) を用意して置いて実験を開始したのである。尚無菌試験には Thioglycorate 培地を使用した。

第2節 無菌飼育要領

滅菌終了し温湿度調整を行つた上で孵化 12~24 時間前の家鶏卵を齋藤, 河合両氏報告の手技に従い滅菌, 即ち予め消毒した手指により滅菌外科刷子にて, 1) 38°C 石鹼水 (以下滅菌水) 3 分, 2) 38°C 2% クレゾール液 1.5 分~2 分, 3) 38°C 500 倍昇汞水 1.5 分~2 分摩擦洗滌し, germicide-trap 中の 500 倍昇汞水を通しタンク内に搬入しタンク内滅菌水で洗滌, 無菌ガーゼで擦拭して安置した。孵化後は一般状態の略々一定な鶏雛を選んで一台のタンクに 6~8 羽程度とし, 不良雛は germicide-trap を通じ外部へ搬出した。尚孵化雛については卵殻, 卵膜, 胎盤, 臍帯, 胎糞の無菌試験を Thioglycorate 培地によつて行い無菌状態なるを確めた。

飼育要領は先に報告された齋藤, 河合両氏の方法に準じて実施したのであるが, 温度環境は飼育第 1 週 37°C~35°C, 第 2 週 35°C~33°C, 第 3 週 33°C~30°C, 第 4 週以後 29°C~26°C となるように調整した。

孵化後 24~36 時間を経た後餌付をしたが飼料は千葉県農林省農業技術研究所処方作成による完全飼料の初生雛用粉碎飼料で組成は, 玉蜀黍 50.0%, 魚

粉 10.0%, 大豆糟 14.5%, 麩 15.0%, 脱脂米糠 8.0%, CaCO₃ 2.2%, NaCl 0.49%, MgSO₄ 0.01% で蛋白質含有量は 22% のものである。此れを 1 日雛 1 羽に付き第 1 日目 5 g の割にして朝夕の 2 回飼料鉢に与え, 1 日 1 羽 1 g ずつ増量して行つた。飲料水も 1 日朝夕 2 回に与えたが常に水鉢に満されているようにした。Vitamin の補給としてパンピタン M の粉末を使用し, 飼料 100 g に 1 g の割合で飼料に滅菌前混入し, 又 V. B₁ 10 mg, V. C 50 mg の注射用 ampoule を用意し, クレゾール液, 昇汞水の滅菌後 germicide-trap を介しタンク内に搬入し, 飼料投与時 V. B₁ 20 mg, V. C 100 mg ずつを注射器にて飼料及び飲料水に混じて雛に摂取せしめた。此の様にして飼育しつつ毎日朝飼料投与前に雛体重をタンク内天秤により測定し, 孵化後 7 日目よりは隔日に測定した。同時に一般状態として, 雛の元気, 運動, 鳴声, 羽毛トサカ, 便通等を観察し, タンク内 Thioglycorate 培地にて再三タンク内の無菌状態を調査した。観察のための照明はタンク内装備の 40~60 W の電灯により, 夜間は消灯して雛の睡眠を規則正しくした。実験菌投与は孵化後 10 日目に朝飼料投与と共に滅菌生理的食塩水に, 2% 糖入寒天培地 24 時間培養の菌を採取して雛 1 羽に付き 1 種類の菌 1 白金耳の割合に浮遊させたものを飼料, 飲料水各 1 回分に混じ, 経口的に雛に摂取せしめ投与した。其の後引き続き諸状態観察と共に雛の糞便を一定時期に採取し, germicide-trap を介して外部に取り出し糞便内菌消長を観察した。飼料, 飲料水の補給は, 此れを 200~300 cc の三角コルベンに納め更に紙包装し高圧滅菌を施してより germicide-trap の昇汞水中に浸しながら包装を注意深く除き, 昇汞水を介してタンク内に搬入した。尚飼料はコルベンには 1/2 容量以下とし高圧滅菌の完全実施に留意した。

第3節 使用鶏雛

千葉県稲毛町千葉孵卵場より購入の単冠白色レグホン種家鶏の孵化前 12~24 時間の種卵及び孵化後約 12 時間迄の雛である。種卵の孵卵場よりの運搬には保温, 振動等に細心の注意を払い, 無菌飼育には此の種卵を嚴重に滅菌消毒の上タンク内にて無菌的に孵化せしめた雛を使用した。

第4節 使用葡萄球菌の性状

普通飼育健康家成鶏新鮮糞便の 2% 糖入寒天平板培地培養より数種の葡萄球菌株を分離し, 次に述べるが如き性状により葡萄球菌株であることを決定し

実験菌株として 5 株を選定使用した。其の各性状は次の通りである。

(1) 形態学的性状

直径約 1μ , gram 陽性にて葡球房状に密集する形態にて、芽胞及び莢膜を有せず、運動を有せず、鞭毛も有せぬ球菌で、2% 糖入寒天平板培地上の集落は直径 $1\sim 2\text{mm}$ の湿潤にて半球状、表面滑、円形の白色又は淡黄色を呈するもので、お互いに融合しない集落である。Bouillon, Pepton 水の培養にては 24~48 時間にて何れも菌膜及び沈澱を生じた。

(2) 色素産生試験

高安氏の葡球糖加牛乳寒天斜面培養基にて夫々の菌株を培養した結果、2 株は白色、1 株は淡黄色、1 株は黄色、1 株は橙色を示した。

(3) 溶血試験

山羊血液を用いた 5% 血液寒天平板培地に夫々の菌株を接種し 48 時間観察の結果、5 株中 2 株に溶血を認めた。

(4) 糖分解

各菌株共 Glucose, Lactose, Saccharose, Galactose, Maltose, Mannit, Mannose, Xylose を分解し Dextrin は分解しない。

(5) 他の生化学的性状

Geratin を液化し、Indol 反応陰性、Voges-Proskauer 反応陰性、Methylred 反応陰性にて Lacmus 牛乳は 3 日後より酸化凝固を示し始め、一部は分解を呈した。

(6) 抵抗試験

加熱抵抗試験にて 55°C 5 分では全菌株生存するも、 60°C 5 分では生存明瞭 1 株、僅かに生存 2 株、他は死滅した。

(7) 生菌の毒力

普通寒天平板培養 24 時間の葡萄球菌各株より夫々生理的食塩水浮遊液を作成し、体重 $10\sim 15\text{g}$ の幼弱 Maus 計 15 匹の腹腔内へ、夫々湿菌量 2mg , 1mg , 0.5mg 含有菌量浮遊液 3 種類を作つて注入し、2 週間に亘り観察したが、一時元気の稍々衰えを見たのみで各種類群全例生存した。著しい毒力は無いものと思われる。

第 5 節 使用 B. sporogenes の性状

健康白色レグホン種家成鶏糞より Zeissler 氏葡萄糖血液寒天平板培地にて B. sporogenes を分離し、諸性状を検査して決定したるものを使用した。

(1) 形態学的性状

Zeissler 氏葡萄糖血液寒天平板培地にて 37°C 4

日間嫌気培養に於ける形態は、灰白色~黄白色の疣状集落で培地に嵌入し硬く、表面が起伏し微細毛状の突起を出す。周囲に溶血環があつて粘稠性を示す。鏡検では gram 陽性、長径 $3\sim 6\mu$ 、短径 $0.5\sim 0.6\mu$ で端在性卵形芽胞を有する桿菌で、固有運動を認める。肝々 Bouillon に培養で軽度の Gas を産生し肝片を強く消化し間もなく黒変する。

(2) 生化学的性状

Geratin は軽度液化し、Indol 反応陰性、凝固血清は強く消化する。又硫化水素を強く産生する。

(3) 糖分解

Glucose, Maltose を分解し、Saccharose, Lactose, Glycerin, Mannit, Inulin は分解しない。

(4) 毒力

肝々 Bouillon に 24 時間培養せるもの 0.5cc を夫々体重 15g の Maus 計 10 匹の腹腔内に注入したところ 48 時間内に全例死亡した。

第 6 節 使用大腸菌の性状

普通飼育健康家成鶏新鮮糞便より、E. M. B. 培地によつて数種の大腸菌株 (Escherichia coli) を採取分離し、種々性状決定の上 2 株の大腸菌を選択し実験に使用した。諸性状は次の通り。

(1) 形態学的性状

長径 $3\sim 4\mu$ 、短径 0.7μ の gram 陰性な短桿菌で、芽胞・莢膜を有せず、菌体周辺には数多くの鞭毛を認めて著明な固有運動を示す。普通寒天培地では円形灰白色、表面滑で湿潤な集落を形成する。Bouillon 及び Pepton 水培養では増殖初期に均等に濁濁し、後に薄い菌膜を形成し、陳旧なるものは沈澱を生ずる。

(2) 糖分解

Lactose を分解し其の際 Gas 及び酸を形成する。Glucose, Dulzit, Salizin, Xylose を醗酵させる。Saccharose 及び Inulin は分解しなかつた。

(3) 生化学的性状

Indol 反応陽性、Methylred 反応陽性、Voges-Proskauer 反応陰性、Citrat 反応陰性であつた。牛乳凝固及び消化作用は共に著明に認められる。Geratin を液化しない。溶血作用は山羊血液寒天培地を使用した認められなかつた。

(4) 生菌毒力

体重 $10\sim 16\text{g}$ の幼年 Maus を使用し、普通寒天平板培養より菌を採取して湿菌量 0.5mg を滅菌生理的食塩水 0.5cc 中に浮遊させたものを夫々計 8 匹の Maus の腹腔内に注入し観察した結果 24 時間以

内に全例が死亡した。

第3章 実験成績 (其の1)

第1節 葡萄球菌投与実験

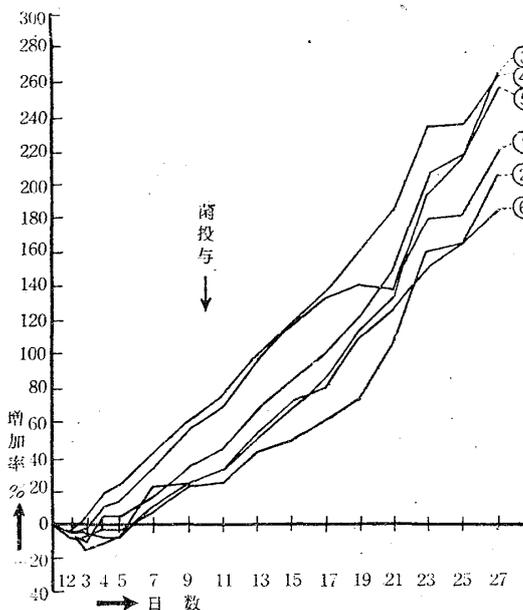
無菌飼育装置を整備し無菌試験の後、孵化直前鶏卵を滅菌消毒して、No. 1 タンク、No. 2 タンク内に夫々 15 個宛搬入し孵化を待ち、翌日夜迄に実験タンクたる No. 2 に 8 羽孵化を見、以後タンク内飼育を開始したが中途にて体力虚弱とみられ死亡した雛 2 羽ありて生存は 6 羽となつた。孵化後 10 日目に葡萄球菌 5 株を混合し 1 羽に 1 白金耳宛滅菌生理

的食塩水に浮遊させ、germicidal-trap を介しタンク内に搬入、飼料及び飲料水各 1 回分に混じて雛に経口投与し、其の後の一般状態及び体重増加傾向を全経過 1 カ月に亘り観察した。一般状態として、孵化後は普通飼育雛に比し小型で発育は羽毛、鳴声、運動など稍々弱い。そして菌投与後は投与前に比し著しい差は認められない。便通は菌投与後 2 日間軽い下痢状態を示したのみで、他は正常便であつた。そして全経過を通じ食欲、元気に概して良好であつた。体重増加傾向は増加率を示すと第 1 表の如くで孵化後 25 日目には生下時体重の 161%~234%、

第1表 葡萄球菌投与雛体重

雛	日数	日数								日数								
		1	2	3	4	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	
1	g	39	37	38	43	44	52	61	葡萄球菌投与	66	77	85	91	94	93	109	109	124
	%	0	-5	-3	10	13	33	56		69	97	118	133	141	138	180	180	220
2	g	36	33	33	35	35	39	44	葡萄球菌投与	45	51	54	58	63	74	94	94	110
	%	0	-8	-8	-3	-3	8	22		25	42	50	61	75	106	161	161	206
3	g	37	36	35	34	34	41	46	葡萄球菌投与	49	56	62	69	79	86	109	117	136
	%	0	-3	-5	-8	-8	11	24		36	51	68	86	113	132	195	216	268
4	g	38	36	39	45	47	54	61	葡萄球菌投与	67	76	83	90	99	108	128	127	139
	%	0	-5	3	18	24	42	61		76	100	118	137	161	184	237	234	266
5	g	38	36	34	39	39	45	51	葡萄球菌投与	55	64	70	76	84	95	117	121	136
	%	0	-5	-11	3	3	18	34		45	68	84	100	121	150	208	218	258
6	g	41	39	35	36	38	50	51	葡萄球菌投与	54	63	70	74	86	93	103	108	116
	%	0	-5	-15	-12	-7	22	24		32	54	71	80	110	127	151	164	184

第1図 葡萄球菌投与雛体重増加曲線



平均 195% の増加率を示した。体重増加曲線は第 1 図である。菌投与後の雛糞便内菌消長は、2% 糖入寒天平板培地を使用して糞便を採取培養し、検出される菌数を算したところ次の如き数値を示した。

葡萄球菌投与後糞便培養検出菌数 (糞便 1g 当 10 万倍稀釈培養の発生集落平均数)

- 菌投与後 3 日目 (孵化後 12 日目) 2
- 菌投与後 11 日目 (孵化後 20 日目) 7
- 菌投与後 15 日目 (孵化後 24 日目) 6

即ち菌投与後約 1 週より 10 日前後に最多数に達し、其の後減少する傾向であつた。他の菌は毎回認めなかつた。

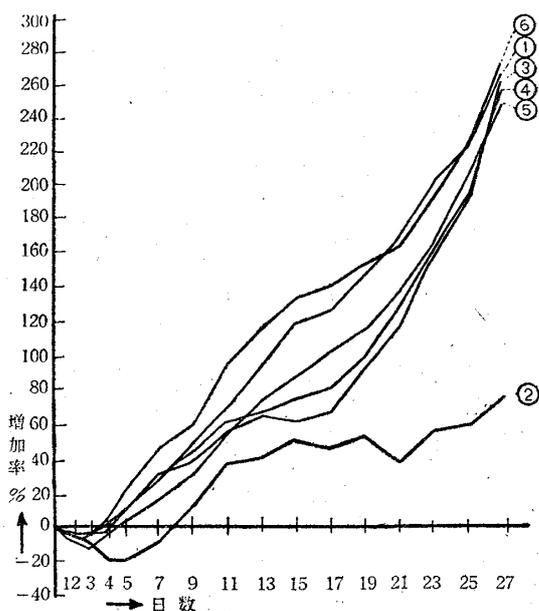
第2節 無菌飼育実験

No. 2 タンクの葡萄球菌投与実験に対し、対照として No. 1 無菌タンクに滅菌消毒種卵を 15 個、No. 2 タンクと同時に搬入し孵化を待ち、9 羽孵化し、体

第2表 無菌飼育雛体重

日数	1	2	3	4	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	
1	g	39	38	37	41	47	57	62	76	83	91	94	99	103	115	126	147
	%	0	-3	-5	5	21	46	59	95	113	133	141	154	164	194	223	276
2	g	34	32	31	27	27	31	38	47	48	51	50	52	47	53	54	60
	%	0	-6	-9	-20	-20	-9	12	38	41	50	47	53	38	56	59	76
3	g	36	34	34	36	40	47	52	58	60	63	65	72	82	94	106	131
	%	0	-5	-5	0	11	31	44	61	67	75	81	100	128	161	194	264
4	g	37	35	36	36	41	48	51	57	61	60	62	71	80	95	108	135
	%	0	-5	-3	-3	11	30	38	54	65	62	68	92	116	157	192	264
5	g	43	40	38	41	44	50	56	66	75	81	87	93	102	115	131	151
	%	0	-7	-12	-5	2	16	30	53	74	88	102	116	137	167	205	251
6	g	37	35	33	36	41	47	55	63	72	81	84	92	100	112	124	138
	%	0	-5	-11	-3	11	27	49	70	95	119	127	148	170	202	235	273

第2図 無菌飼育雛体重増加曲線



力虚弱のため孵化後1週間迄に死亡せる3羽を除き他の6羽につき対照無菌雛として飼育し全経過1カ月間観察した。一般状態として普通飼育雛に比し矢張り小型で、運動元気も小規模である。便通正常、食慾良好であつたが、6羽中1羽は発育が極めて不良であつた。体重増加傾向は、増加率を示すと第2表の如くで、孵化後25日目には生下時体重の192~235%、平均209%の増加率を示した。(発育不良の1羽は孵化後25日目で59%の増加率しか示さないの平均増加率計算よりは除外した。) 体重増加発育曲線は第2図である。尚雛糞便を実験開始より最

初3日毎、10日目より5日毎に Thioglycorate 培地にて検査したが、何れも陰性であつた。

第3節 小括

一般状態と体重増加傾向は葡萄球菌投与群と対照無菌飼育群を比較すると差が殆んど認められない。発育状態は普通飼育に比し両群共に低調である。無菌タンク環境としては全般に稍々多湿にて、湿度79%~94%を示した。

第4章 実験成績 (其の2)

第1節 葡萄球菌, *B. sporogenes* 混合投与実験

無菌タンク滅菌整備、無菌試験の後、孵化前12~24時間の鶏種卵を前述方法にて滅菌消毒し、No. 1タンク内に14個搬入し孵化を待ち、完全孵化6羽を得たので他の死亡卵を整理して雛の無菌飼育を開始し、孵化後10日目に葡萄球菌5株を混合、又 *B. sporogenes* を其れに加えて使用し、雛1羽につき葡萄球菌と *B. sporogenes* を夫々1白金耳宛滅菌生理的食塩水に浮遊させて滅菌試験管に納め、germicide-trap を介してタンク内に搬入し、飼料及び飲料水各1回分に混じて経口投与して其の後の雛の一般状態、体重増加傾向等を全経過1カ月間に亘り観察した。

一般発育状態としては、運動、元気は菌投与後稍々減退した。食慾は菌投与後も比較的良好、羽毛やトサカの発育及び鳴声なども菌投与後稍々減退した状態であつたが、便通は菌投与後著明な褐色下痢便が出現し次第に中等度より軽度となりながら実験終

第3表 葡萄球菌, B. sporogenes 混合投与雛体重

雛	日数		1	2	3	4	5	7	9	10	菌投与										
	g	%									12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
1	g	%	39	36	33	32	32	35	37	40	43	45	47	死							
			0	-8	-15	-18	-18	-10	-5	3	10	15	21								
2	g	%	40	37	41	48	52	53	57	64	71	81	89	97	97	112	126	120	125	143	
			0	-8	3	20	30	33	43	60	78	103	123	143	143	180	215	200	213	258	
3	g	%	35	33	35	42	42	46	49	57	58	67	70	72	70	78	86	84	85	92	
			0	-6	0	20	20	31	40	63	66	91	100	106	100	123	146	140	143	163	
4	g	%	35	32	32	39	42	42	44	47	51	54	58	63	63	73	80	85	89	109	
			0	-8	-8	14	20	20	26	34	46	54	66	80	80	109	129	143	154	211	
5	g	%	33	31	31	36	40	47	47	53	56	63	66	66	67	77	84	83	87	106	
			0	-7	-7	10	21	42	42	61	70	91	100	100	103	133	155	152	164	227	
6	g	%	40	36	40	48	51	58	65	71	76	86	93	95	90	110	124	115	120	142	
			0	-10	0	20	28	45	63	78	90	115	133	138	125	150	210	188	200	255	

了まで持続した。体重増加傾向は増加率を示すと第3表の如くで、孵化後30日目には生下時体重の211%~258%, 平均223%の増加率を示した。尚发育極めて不良と見られた2羽(中1羽死亡)は平均増加率計算より除外した。体重増加曲線は第3図である。雛糞便内の菌消長としては、実験開始後菌投与時迄細菌の存在は認められなかつたが、菌投与後の細菌消長を2%糖入寒天平板培地及び Zeissler 氏血液寒天平板培地により観察すると、即ち雛糞便1g当り10万倍稀釈培養による発生集落平均数は次のA表の通りである。

A表 糞便培養検出菌数

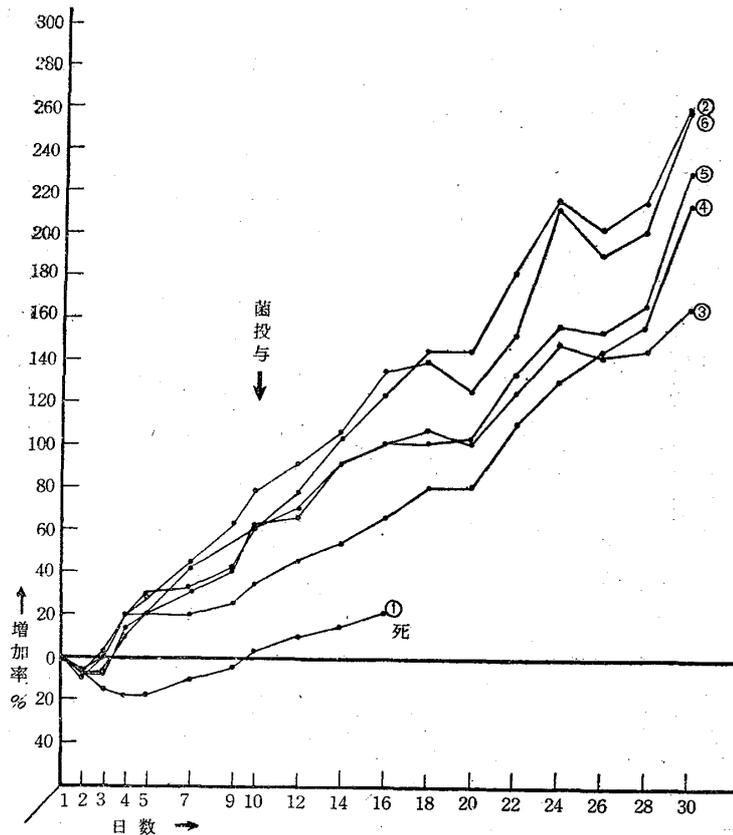
菌投与後日数 (孵化後日数)	3 (12)	7 (16)	14 (23)
葡萄球菌	4	7	19
B. sporogenes	13	23	27

存在菌は何れも漸増の傾向が見られた。

第2節 B. sporogenes 投与実験

第1節実験と同時に対照の意味にてNo. 2無菌タンクに孵化前12~24時間の鶏種卵を滅菌消毒して14個搬入し、6羽の完全孵化に成功して無菌飼育を実施し、孵化後10日目に B. sporogenes を雛1羽

第3図 葡萄球菌, B. sporogenes 混合投与雛体重増加曲線



につき1白金耳宛飼料及び飲料水各1回分に混じて経口投与し、雛の一般状態、体重増加傾向等を全経過1カ月間に亘り観察した。一般状態として運動、元気は菌投与後減退を示し、羽毛やトサカなども少々乱れを見せたが著明な程ではない。鳴声も少し弱くなった程度であつた。食慾は菌投与後少々減退を

第 4 表 B. sporogenes 投与雛体重

雛	日数	日数																		
		1	2	3	4	5	7	9	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
1	g	41	36	40	45	45	47	51	55	菌 投 与	59	70	76	88	89	102	126	120	125	140
	%	0	-12	-2	10	10	15	24	34		44	71	85	115	117	147	207	193	205	241
2	g	37	34	33	40	42	45	49	54		58	68	75	82	81	88	102	94	96	105
	%	0	-9	-11	9	14	22	32	45		57	84	103	122	119	138	176	154	159	184
3	g	39	35	40	43	47	47	53	58		59	69	72	81	81	89	104	99	104	120
	%	0	-10	3	10	21	21	36	94		51	77	85	108	108	128	167	154	167	208
4	g	41	39	37	46	48	50	55	65		69	82	94	107	106	117	137	133	135	148
	%	0	-5	-10	12	17	22	34	58		68	100	129	161	158	185	234	224	229	260
5	g	33	33	31	30	31	33	37	41		40	43	45	47	47	51	58			
	%	0	0	-7	-10	-7	0	12	24		21	30	36	42	42	55	76			
6	g	39	35	34	40	45	46	52	60		63	76	85	99	96	102	119	108	110	116
	%	0	-10	-13	3	15	18	33	54		62	95	118	154	146	162	205	177	182	197

示したが、便通は強い褐色下痢便を来し、後に少々回復を示しながらも中等度の下痢便が実験終了迄持続した。体重増加傾向は増加率を示すと第 4 表の如くで、孵化後 30 日目には生下時体重の 184%~260%、平均 218% の増加率を示した。尚虚弱になつていた 1 羽が孵化後 24 日目に死亡したが計算よりは除外した。体重増加曲線は第 4 図である。雛糞便内菌消長は、実験開始後菌投与時迄細菌の存在は認められなかつたが、菌投与後の消長を Zeissler 氏血液寒天平板培地により観察すると、雛糞便 1 g 当り 10 万倍希釈培養による発生集落平均数は B 表の通りであ

B 表 糞便培養検出菌数

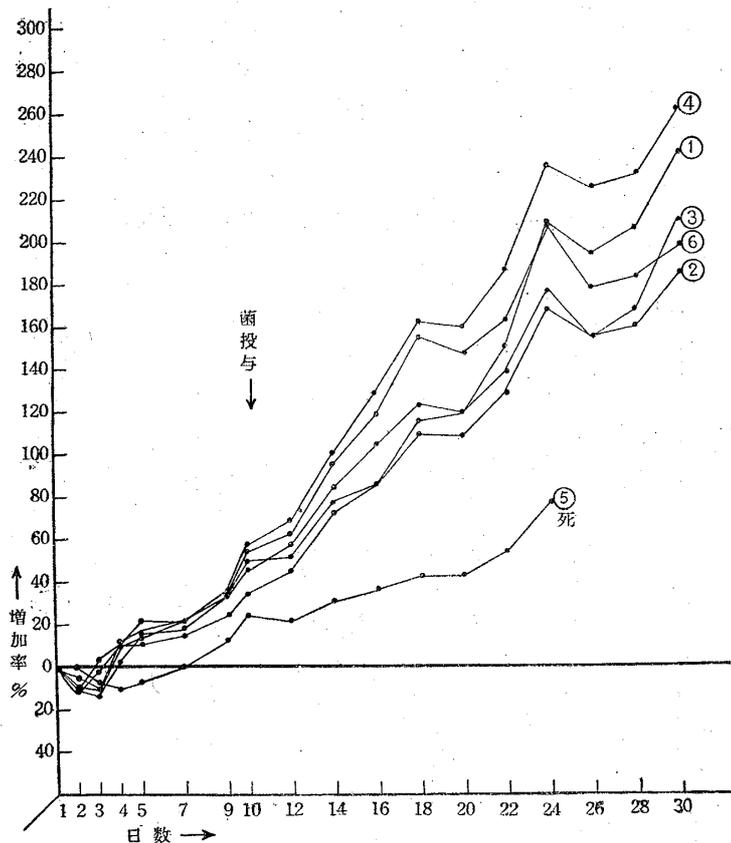
菌投与後日数 (孵化後日数)	3 (12)	7 (16)	14 (23)
B. sporogenes	11	22	31

る。存在菌は少々漸増の傾向であつた。

第 3 節 小 括

一般状態、体重増加傾向を観察すると、葡萄球菌及び B. sporogenes 投与群と、B. sporogenes 投与群との差は特に大きく見られなかつた。然し兩者共褐色下痢便が現われて実験終了迄少々減少しなが

第 4 図 B. sporogenes 投与雛体重増加曲線



らも持続した。そして B. sporogenes 投与群の方に下痢が強く観察された。即ち両群の腸機能は完全ではなかつたようである。但し雛發育に対し有害的となる B. sporogenes の毒力が余り強く働かなかつたらしいことが、体重増加率より伺われた。体重増加の両群比較としては大差がないものと認められ

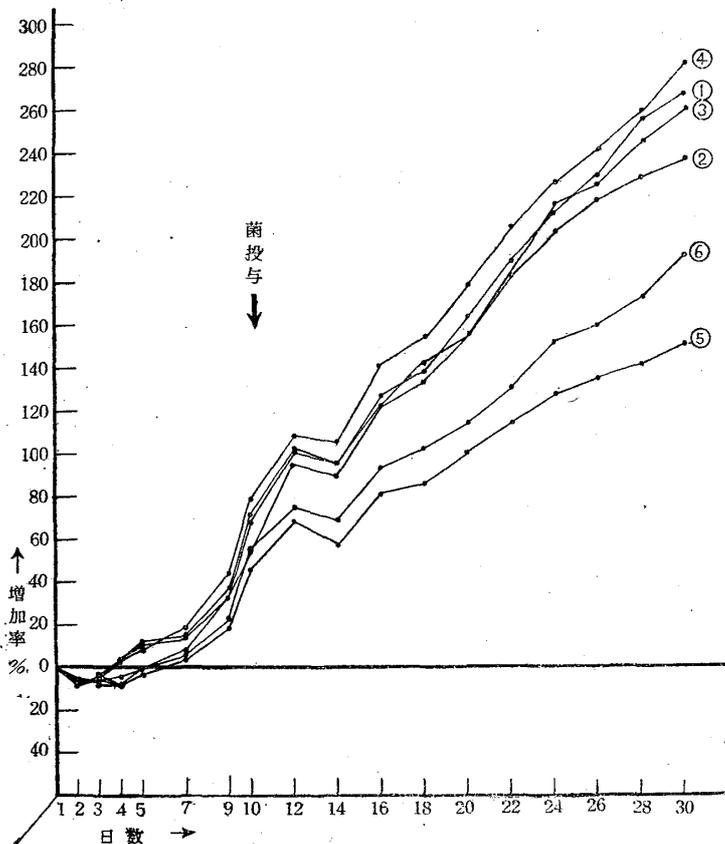
る。普通飼育雛の体重増加率と両群の其れとを照合すると両群の方が遙かに低調である。細菌の消長をみると葡萄球菌及び *B. sporogenes* 投与群に於ては、葡萄球菌は *B. sporogenes* の $1/3 \sim 1/2$ の数を示している。*B. sporogenes* 数については、葡萄球菌との混合、単独投与何れにも同数程度に観察さ

れた。
第5章 実験成績 (其の3)
第1節 葡萄球菌、大腸菌混合投与実験
 無菌飼育装置を滅菌整備し、無菌試験の後、前2期間の実験と同様に孵化前12~24時間の胎動活発

第5表 葡萄球菌、大腸菌混合投与雛体重

雛	日数	菌										投与									
		1	2	3	4	5	7	9	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30		
1	g	41	38	39	42	46	47	56	70	83	80	93	98	108	119	128	135	146	151		
	%	0	-7	-5	2	12	15	37	71	102	95	127	139	163	190	212	229	256	268		
2	g	39	36	37	40	43	44	52	65	78	76	87	94	100	110	118	124	128	131		
	%	0	-8	-5	3	10	13	33	67	100	95	123	141	156	182	203	218	228	236		
3	g	38	36	36	35	38	41	50	58	74	72	84	89	97	108	120	124	131	137		
	%	0	-5	-5	-8	0	8	32	53	95	89	121	134	155	184	216	226	245	260		
4	g	39	36	38	40	42	46	56	70	81	80	94	99	109	119	127	133	140	149		
	%	0	-8	-3	3	8	18	44	79	108	105	141	154	179	205	226	241	259	282		
5	g	37	35	34	34	36	38	44	54	62	59	67	70	74	79	84	87	89	93		
	%	0	-5	-8	-8	-3	3	19	46	68	57	81	86	100	114	127	135	141	151		
6	g	48	45	45	46	48	51	59	75	84	81	90	97	103	111	121	125	131	140		
	%	0	-6	-6	-4	0	6	23	56	75	69	93	102	114	131	152	160	173	192		

第5図 葡萄球菌、大腸菌混合投与雛体重増加曲線



なる鶏種卵を滅菌消毒して No. 1 タンクへ15個搬入孵化を持ち、6羽が完全孵化したので早速飼育を開始し、孵化後10日目に葡萄球菌5株及び大腸菌2株を混合、合計して両者夫々雛1羽につき1白金耳宛滅菌生理的食塩水に浮遊させて無菌タンク内に搬入し、飼料及び飲料水各1回分に混じて経口投与し、其の後の一般状態と体重増加傾向などを全経過1ヵ月間に亘り観察した。一般状態として菌投与後雛は一時食慾、運動、元気が急激に2~3日間減退し、其の後再び徐々に恢復して来る。便通は菌投与直後より褐色下痢便が出現し暫く持続したが、次第に減少して淡褐色軟便に移行し、実験終了時には殆んど正常便となつて見られた。羽毛やトサカ、鳴声等には大きな変化は見られない。体重増加傾向としては菌投与後約2日にして体重の停滞減少が見られたが次第に恢復し順調なる上昇を見た。増加率は第5表の如くで

孵化後 30 日目には生下時体重の 192~282%, 平均 248% の増加率を示した。尚發育極めて不良なる 1 羽は増加率平均計算より除外した。体重増加曲線は第 5 図である。雛糞便内菌消長は、実験開始後菌投与時迄細菌の存在は認められなかつたが、菌投与後 2% 糖入寒天平板培地を使用して葡萄球菌及び大腸

C表 糞便培養検出菌数

菌投与後日数 (孵化後日数)	2 (11)	5 (14)	8 (17)	11 (20)	14 (23)	17 (26)
葡萄球菌	4	3	12	9	2	19
大腸菌	348	49	120	396	157	107

第6表 大腸菌投与雛体重

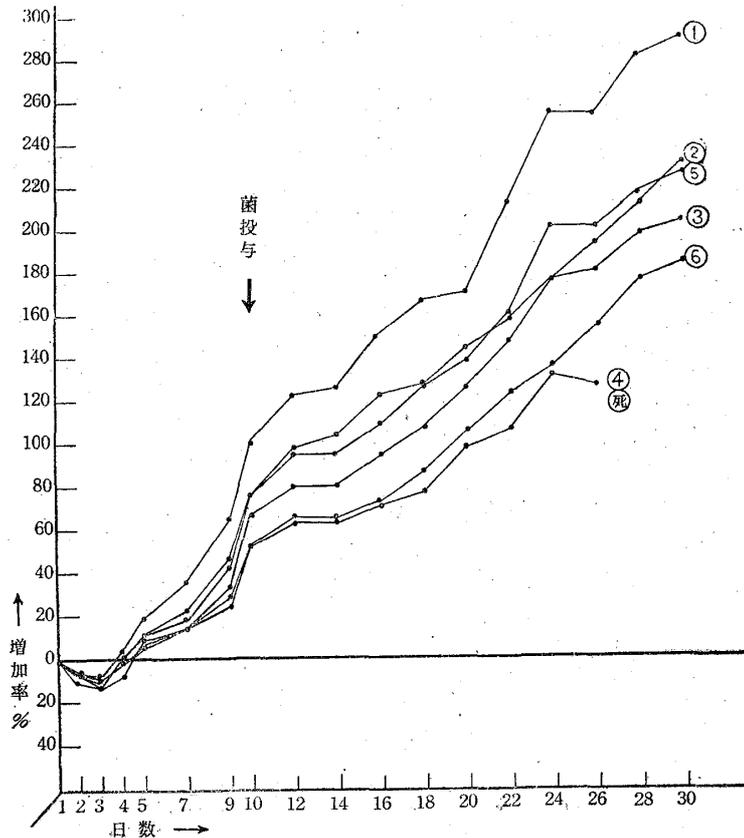
雛	日数		菌								投与								
	1	2	3	4	5	7	9	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
1	g	36	34	33	37	43	49	59	72	80	81	90	96	97	112	127	127	137	140
	%	0	-6	-8	3	19	36	64	100	122	125	150	166	167	211	253	253	280	289
2	g	37	34	32	37	41	45	54	65	73	75	82	84	90	95	102	108	115	122
	%	0	-8	-13	0	11	22	46	76	97	103	122	127	143	157	176	192	211	230
3	g	36	34	31	33	38	41	48	60	65	65	70	75	81	89	99	101	107	109
	%	0	-6	-14	-8	6	14	33	67	80	80	94	108	125	147	175	180	197	203
4	g	35	33	32	34	37	40	45	53	57	57	60	62	68	72	81	79	死	
	%	0	-6	-9	-3	5	14	28	52	63	63	71	77	97	106	131	126	死	
5	g	38	35	34	38	42	45	54	67	74	74	79	85	91	99	114	114	121	124
	%	0	-8	-11	0	11	18	42	76	95	95	108	126	139	160	200	200	216	226
6	g	37	33	32	34	40	42	46	57	61	61	64	69	76	83	87	94	102	105
	%	0	-11	-14	-8	8	14	24	53	65	65	73	86	105	122	135	154	176	183

菌を観察すると、即ち雛糞便 1g 当り 1 万倍稀釈培養による発生集落平均数は C 表の通りである。葡萄球菌の変動の差はあまり見られない。大腸菌は投与後 11 日目頃最多数となり以後少しずつ減少していくようである。

第 2 節 大腸菌投与実験

葡萄球菌及び大腸菌投与実験と同時に No. 2 無菌タンクへ同様にして滅菌消毒せる孵化前 12~24 時間の鶏種卵を 15 個搬入し孵化を待ち、6 羽完全孵化せしめたので他の卵を整理して飼育を開始し、孵化後 10 日目に大腸菌 2 株を混合し雛 1 羽につき 1 白金耳宛滅菌生理的食塩水に浮遊させて無菌タンク内に搬入し、飼料及び飲料水各 1 回分に混じて雛に経口投与し、No. 1 タンク実験の対照として、雛の一般状態、体重増加傾向等を全経過 1 カ月間に亘り観察した。一般状態として菌投与後雛は

第 6 図 大腸菌投与雛体重増加曲線



元氣、運動、食慾が一時急激に減退し、3~4日後より再び徐々に恢復して来る。羽毛やトサカも乱れを示し、鳴声も少し衰える。便通は菌投与直後より強い褐色下痢便が出現したが、5~7日を経る頃より次第に軽快し、淡褐色下痢便となつたが実験終了迄既ね持続し、軟便は時々見る程度だつた。体重増加傾向は菌投与後約2日にして雛体重の停滞減少が見られたが、後次第に不規則状ながら恢復上昇が見られていつた。増加率は第6表の如くで、孵化後30日目には生下時体重の183%~289%、平均226%の増加率を示した。尚發育極めて不良で孵化後27日目に死亡した1例は増加率平均計算より除外した。体重増加曲線は第6図である。雛糞便内菌消長は、実験開始後菌投与時迄細菌の存在は認められなかつたが、菌投与後2%糖入寒天平板培地を使用して大腸菌を観察すると、即ち雛糞便1g当り1万倍稀釈培養による発生集落平均数はD表の通りである。大腸菌は菌投与直後大量に認められ、後減少、再び菌投与後11日目頃最多数に見られ、以後次第に減少していくようである。他の菌は認められなかつた。

D表 糞便培養検出菌数

菌投与後日数 (孵化後日数)	2 (11)	5 (14)	8 (17)	11 (20)	14 (23)	17 (26)
大腸菌	572	192	264	436	412	336

第3節 実験鶏雛血清殺菌力の検討

今回の葡萄球菌、大腸菌混合投与鶏雛と大腸菌投与鶏雛の実験終了と共に直ちに鶏雛血液を心臓穿刺により採取し、血清を分離、其の血清について其の殺菌力を測定し、両者を比較検討した。

(1) 実験方法

藤井氏法により実験を行つた。

a) 使用菌株 *Salmonella typhi* O₉₀₁

b) 使用培地 処方: Yeast extract 1.0 g, 肉エキス 10.0 g, ポリペプトン 10.0 g, NaNO₃ 4.0 g, 寒天 8.0 g, 水 1000.0 cc。

c) Krebs 氏液 処方: 0.9% NaCl 100.0 cc, 1.15% KCl 4.0 cc, 1.22% CaCl₂ 3.0 cc, 2.11% KH₂PO₄ 1.0 cc, 5.82% MgSO₄·7H₂O 1.0 cc。

d) 菌液作成 普通寒天斜面培地に24時間培養した *Salmonella typhi* O₉₀₁ より2mgを採取してKrebs氏液10.0ccに浮遊させ、更に稀釈して10⁵稀釈液を作成する。即ち2×10⁻⁵mg/ccの菌液である。

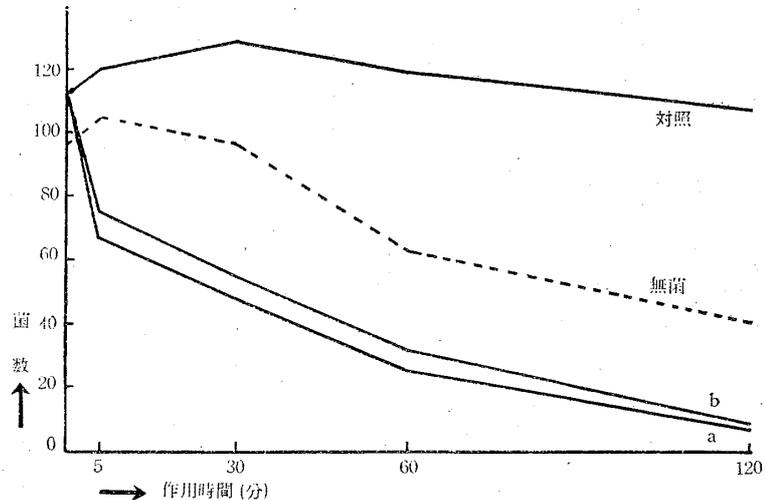
e) 前準備 血清は2.0ccとし、等量の稀釈菌液を此れに加え37°C温浴とし、一定時間其のまゝで血清と菌液を作用させて置く。培地は前記処方により作成して溶かし、充分加熱し、濾紙層を用いて濾過した塵埃のない透明な培養基とし、4.5ccずつ試験管に分注し高圧滅菌して尚固まらないように、別に40°C温浴させ保存して置く。

f) 手技 上記温浴してある血清菌液より0.5cc(血清0.25cc, 菌液0.25cc)を、正確にして明細目盛の滅菌1.0ccメスピペットに採取し、温浴してある4.5ccの培地に加え、充分混合してよりメスピペットに再び吸引し尖端に滅菌小試験管をかぶせ、ピペット頭部はゴム帽を附したまゝ横に安置した。斯くして血清菌液温浴作用時間の5分、30分、60分、120分の各血清菌液を採取実施し、又対照として菌液とKrebs氏液等量混合のものを同じ温浴作用時

第7表 ピペット培養菌数表

血清 作用時間	葡萄球菌 大腸菌	大腸菌雛	対照 (Krebs氏液)
直後			113
5分	67	75	120
30分	48	54	129
60分	25	31	119
120分	6	8	109

第7図 雛血清殺菌力曲線図
a 葡萄球菌 + 大腸菌雛, b 大腸菌雛



間後同様に実施して、全部同時に 37°C 24 時間培養した。

g) 判定 判定は培養後メスピペットを静かに取り出し、凝集鏡にてメスピペット中の培地内に白い斑点となつて認められる菌集落を観察し、メスピペットの目盛に従い 0.1 cc 範囲内の菌集落数を算定し、同ピペット中の 0.1 cc 範囲を 5 カ所算定して平均値を求めた。以上の如く実験雛血清加培養メスピペットと対照培養メスピペットの発生菌集落数を算定集計して両者を比較検討した。即ち発生菌集落は血清に殺菌力が強ければ少数、殺菌力が弱ければ多数出現することになる。尚菌数測定は柳田氏のピペット寒天法に依つたものである。

h) 消毒 *Salmonella typhi* O₉₀₁ を取扱う上から殊に留意し、器具は 3% クレゾール液にて消毒をした。

(2) 実験成績

実験組と対照組の菌数表は第 7 表の如くで曲線に示すと第 7 図であるが、対照成績が各時間共、同様

菌数を示すのに、葡萄球菌と大腸菌投与雛血清及び大腸菌投与雛血清の成績は、作用時間の長いもの程菌数が減少して殺菌力の存在が明らかである。殊に葡萄球菌と大腸菌投与雛血清に強く見られる。尚第 7 図には当教室田波助教授等が実施した無菌飼育雛血清の成績を対照として編入した。

第 4 節 小 括

葡萄球菌、大腸菌混合投与群と、大腸菌投与群とを比較すると、一般状態としては菌投与後共に一時發育低下、体力減退が著明に同様に見られるが、後次第に恢復が両群共に認められる。便通は両群菌投与直後より強い褐色下痢便が現われ、数日後より次第に輕快して行くが、葡萄球菌及び大腸菌投与群に比し大腸菌投与群の方が下痢状態の恢復が遅くなつていと観察された。又体重増加傾向が、菌投与後一時停滯減少した後葡萄球菌と大腸菌投与群は順調に恢復上昇したが、大腸菌投与群は不規則状に恢復上昇していた。糞便内菌消長では葡萄球菌と大腸菌投与群の大腸菌数が大腸菌投与群の大腸菌数より相

第 8 表 普通飼育葡萄球菌投与雛体重

雛	日 数	日 数															
		1	3	5	7	9	10	11	13	15	17	19	21	23	26	28	30
1	g	35	31	39	45	45	菌 投 与	58	68	79	81	91	120	117	111	145	138
	%	0	-11	11	28	28		66	94	126	131	160	243	234	217	314	294
2	g	34	28	35	45	47		58	70	65	78	92	102	122	121	157	158
	%	0	-18	3	32	38		71	106	91	129	171	200	259	256	362	365
3	g	38	32	40	51	52		64	80	78	93	111	119	145	148	179	184
	%	0	-16	5	34	37		68	111	105	145	192	213	282	289	371	384
4	g	36	30	36	48	53		65	73	74	87	96	107	125	133	167	164
	%	0	-17	0	33	47		80	103	106	142	166	197	247	269	364	355
5	g	39	32	41	52	55		68	83	78	93	105	118	140	138	178	167
	%	0	-18	5	33	41		74	113	100	138	169	203	259	254	356	328
6	g	35	29	39	52	51		67	77	73	88	104	111	137	136	175	162
	%	0	-17	11	48	46		91	120	109	151	197	217	291	289	406	363
7	g	33	29	39	52	54		70	86	77	98	116	117	155	138	179	175
	%	0	-12	18	57	64		112	161	133	197	252	254	370	318	442	430
8	g	38	33	42	53	55		70	85	83	100	113	123	150	142	183	195
	%	0	-13	11	39	45		84	126	118	163	197	224	295	274	382	413
9	g	30	25	33	42	45		51	65	62	76	87	98	122	124	158	156
	%	0	-16	10	40	50		70	116	106	153	190	226	306	313	426	420
10	g	38	31	34	42	44		54	63	62	78	94	97	130	120	154	161
	%	0	-18	-11	11	16		42	66	63	105	147	155	242	216	305	324

当少く認められた。又雛血清殺菌力の測定ではピペット培養による発生菌集落数が、大腸菌投与組に比し葡萄球菌及び大腸菌投与組が少く認められて、大腸菌単独投与組より殺菌力が強力なりと見られる。尚対照として第7図に編入した無菌飼育雛の血清殺菌力成績は今回の両群殺菌力成績に比し遙かに弱いと見られる。

第6章 考 察

前述の無菌飼育実験に対し対照として普通環境に於ける実験を実施検討し、参考とした。

普通飼育に於ける葡萄球菌投与実験と対照普通飼育

屋内木製雛飼育箱二組を使用し、無菌鶏雛飼育実験と温度、飼料等無菌以外の条件を全く同様にして鶏雛飼育を行い、一組に葡萄球菌を投与して、二組の雛発育状態、体重増加傾向等を観察した。即ち吉江氏の方法に従つて、孵化直後の鶏雛夫々10羽を二組の育雛箱に納めて飼育を実施した。尚飼料は減

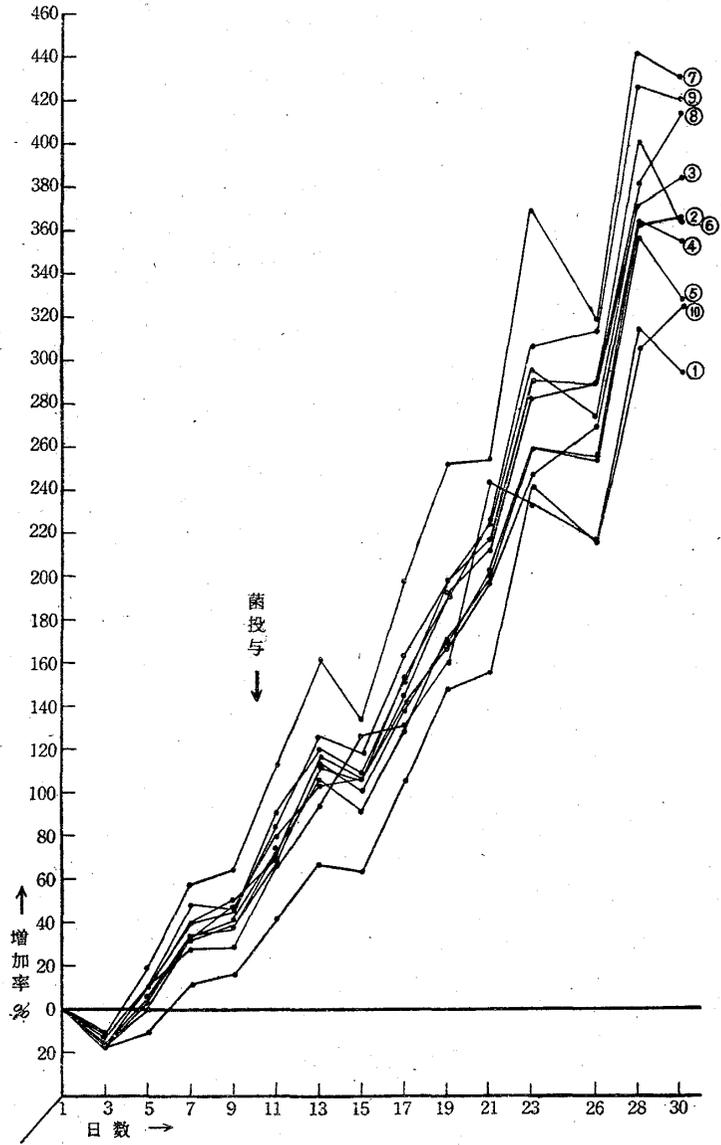
菌せず、ビタミンの添加も行わなかつた。又育雛箱は無菌飼育タンクと略々同面積である。

実験開始後10日目に一組に葡萄球菌計5株を混合し雛1羽につき1白金耳宛滅菌生理的食塩水に浮遊させて、飼料及び飲料水各1回分に混じて経口投与し、其の後の状態を含め全経過1カ月間に亘り観察した。一般状態として元氣、運動、食欲、羽毛及びトサカなどの発育、便通、鳴声等概して順調にて、菌投与組は菌投与後の変化特に現われず、二組の差は殆んど認められない。体重増加傾向は二組共略々同様であつて、増加率は菌投与組第8表の如くで実験開始後30日目には孵化直後体重の324%~430%、平均368%の増加率を示した。体重増加曲線は第8図である。対照組増加率は第9表の如くで実験開始後30日目には孵化直後体重の234%~455%、平均375%の増加率を示した。体重増加曲線は第9図である。尚雛糞便内細菌を観察したところ、枯草菌、大腸菌、腸球菌、嗜酸桿菌、葡萄球菌、Welchii氏菌等を認めたが、葡萄球菌投与後も此等

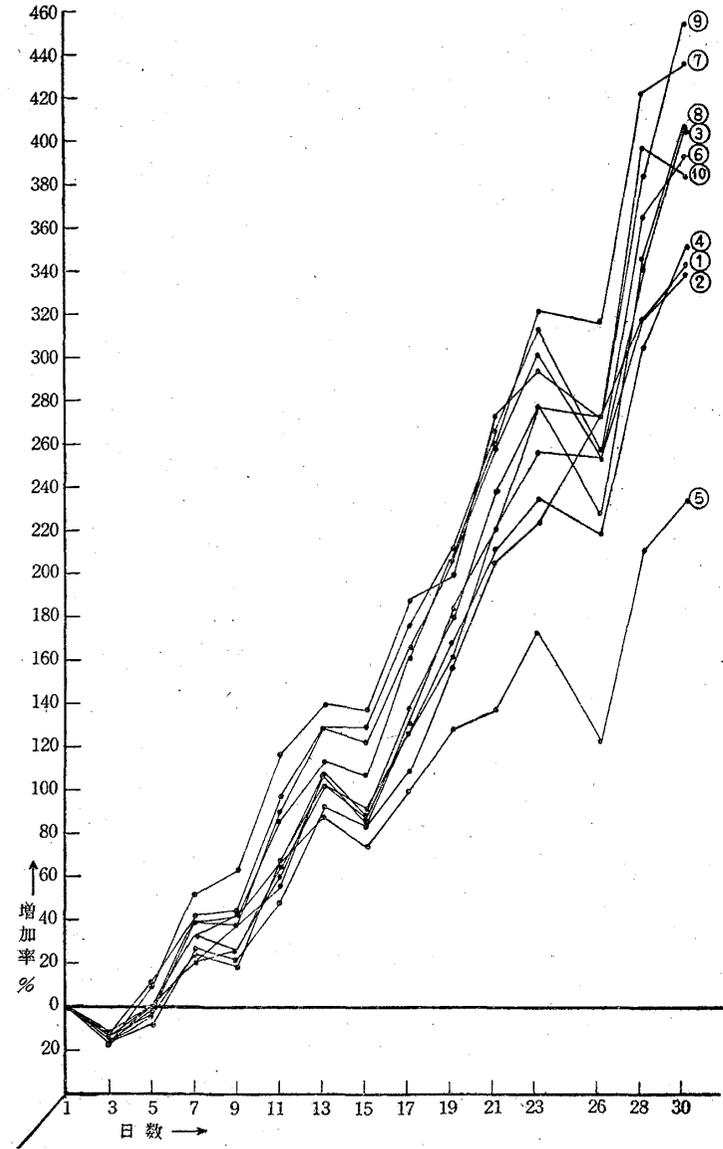
第9表 対照普通飼育雛体重

雛	日数		1	3	5	7	9	10	11	13	15	17	19	21	23	26	28	30
	g	%																
1	g		37	31	34	47	45		55	71	68	77	95	113	120	141	155	164
	%		0	-16	-8	27	22		49	92	83	108	157	205	224	275	318	343
2	g		35	31	35	42	44		56	71	67	79	92	113	125	124	146	164
	%		0	-11	0	20	26		60	102	91	126	162	222	257	254	317	340
3	g		36	31	35	50	50		69	82	80	96	110	129	145	127	160	182
	%		0	-14	-3	39	39		91	128	122	166	206	258	302	253	341	405
4	g		37	31	35	46	44		62	75	70	84	99	115	124	118	150	167
	%		0	-16	-5	24	19		68	103	86	127	168	211	235	218	305	351
5	g		35	29	34	47	44		58	66	61	70	80	83	96	78	109	117
	%		0	-17	-2	34	26		65	88	74	100	128	137	174	122	211	234
6	g		38	33	42	54	55		75	87	87	105	119	139	157	135	177	188
	%		0	-13	11	42	45		97	129	129	176	213	266	313	257	365	393
7	g		36	31	36	48	51		67	77	74	94	112	130	152	150	184	193
	%		0	-14	0	33	42		86	113	106	161	211	261	322	316	422	436
8	g		32	28	32	39	44		50	66	59	73	91	103	121	105	143	162
	%		0	-12	0	21	37		56	106	84	131	184	221	278	228	345	406
9	g		36	30	36	50	51		60	75	68	86	101	122	136	134	174	200
	%		0	-17	0	39	42		67	108	88	138	180	238	277	272	383	455
10	g		35	29	38	53	57		76	84	83	101	115	131	148	130	174	170
	%		0	-17	9	52	63		117	140	137	188	200	274	294	271	397	385

第8図 普通飼育に於ける葡萄球菌投与と雛体重増加曲線



第9図 普通飼育対照雛体重増加曲線



諸菌の増減特に見られず、葡萄球菌のみ投与後稍々増加が認められたのみであった。

以上普通飼育に於いて葡萄球菌投与の場合の影響は殆んど認められなかつたが、無菌飼育に於ける葡萄球菌投与の影響と比すると類似の結果が認められる。尚普通飼育は河合氏の報告を参考にして実施した。

無菌飼育実験実施に当つては、滅菌不完全、雛の孵化不成功等で失敗が続いたが、実験が軌道に乗つてからは昼夜を通して実験の観察に当り、停電や断水などの時期があつたが応急処置により実験の支障はなかつた。

第7章 総括並びに結論

著者は、横型平圧滅菌無菌タンク飼育装置を使用して、単冠白色レグホン種家鶏の無菌飼育を孵化直前より行い、孵化後10日目に家鶏腸内好気性菌中の葡萄球菌を単独に、又 *B. sporogenes* 或は大腸菌と混合して無菌雛に経口投与し、雛の発育状態、一般状態への影響を、又雛血清の殺菌力を実験観察した。

(1) 葡萄球菌単独投与実験では、対照とした無菌飼育継続実験と比し一般状態及び生長発育に差違が見られない。尚環境、飼料等を無菌としない同条件で準備した普通飼育を対照的意味にて実施し、葡萄球菌を投与した実験でも投与せぬ雛に比し大差のない結果が見られた。

(2) 葡萄球菌及び *B. sporogenes* 混合投与実験では、*B. sporogenes* 単独投与実験に比し、一般状態及び生長発育に差違が殆んど認められなかつたが、糞便状態は *B. sporogenes* 単独投与実験側に下痢が多少強かつた。勿論両者共一般状態、生長発育状態は稍々不良であつた。*B. sporogenes* の両者に於ける糞便内検出菌数は同様であつた。

(3) 葡萄球菌及び大腸菌混合投与実験と大腸菌単独投与実験を比較すると、菌投与後両者共、一時一般状態、生長発育が停滞減少し、再び恢復して行くが、混合投与側は単独投与側に比し円滑順調であり、雛血清殺菌力の比較を見ると、混合投与雛血清の方が稍々強力である。大腸菌の糞便よりの検出菌数は、単独投与側に多く見られた。

腸内葡萄球菌は、生体に対し、一般状態及び生長発育には単独では影響を及ぼさないが、有害菌と見られる大腸菌や *B. sporogenes* と共存させると、其れ等の菌の悪影響に対し、多少ずつ抑制的に作用

するものと思われる。

本稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲の勞を忝うした恩師谷川教授に深甚なる謝意を捧げると共に、終始有益なる御助言を賜わつた田波助教授、藤原講師に深謝し、併せて本実験の性質上常に援助協力を受けた戸叶、富岡両氏其の他教室員技術員各位に厚く謝意を表す。

(本論文の要旨は第34回千葉医学会総会に於て発表した。)

主要文献

- 1) Pasteur, L.: C. r. Acad. Sci., **100**, 68, 1885.
- 2) Nuttal, C. H. F. u. Thierfelder, H.: Z. Physiol. Chem., **23**, 231, 1897.
- 3) Schottelius, M.: Arch. Hyg., **34**, 210, 1899.
- 4) Schottelius, M.: Arch. Hyg., **67**, 177, 1908.
- 5) Cohendy, M.: Ann. Inst. Pasteur, **26**, 106, 1912.
- 6) Küster, E.: Zbl. Bakt. Ref., **54**, 55, 1912.
- 7) Glimstedt, G.: Acta Pathol. et Microbiol. Scand. Suppl., **300**, 1, 1936.
- 8) Balzam, N.: Ann. Physiol., **13**, 370, 1937.
- 9) Reyniers, J. A.: LOBUND Report, 1946.
- 10) Reyniers, J. A.: LOBUND Report, 1949.
- 11) Gustafsson, B.: Germ-free Rearing of Rats; 1948.
- 12) 内藤・小林: 日微生病理誌, **30**, 1936.
- 13) 宮川正澄: 名古屋医会誌, **64**, 6, 1951.
- 14) 宮川正澄: 医学のあゆみ, **16**, 137, 1953.
- 15) 宮川正澄: 最新医学, **13**, 850, 1958.
- 16) 谷川・相磯・赤沢・田中: 腸内細菌の生理的意義 (第1報), 第13回日本連合衛生学会, 1941.
- 17) 谷川・相磯・赤沢・田中: 腸内細菌の生理的意義 (第2報), 第14回日本連合衛生学会, 1942.
- 18) 谷川・相磯・赤沢・田中: 鶏雛の無菌飼育に就て, 第220回千葉医学会例会, 1942.
- 19) 赤沢喜三郎: 千葉医会誌, **20**, 9, 1942.
- 20) 河合・斎藤: 千葉医会誌, **30**, 750, 1955.
- 21) 斎藤佐文: 千葉医会誌, **31**, 107, 1955.
- 22) 河合正太郎: 千葉医会誌, **31**, 168, 1955.

- 23) 谷川・齋藤・福島：第25回日本衛生学会，1955. 362-366, 1915.
- 24) 谷川・田波・戸叶：生体の科学，7, 5, 235, 1956. 32) 吉田六郎：千葉医会誌，13, 1, 1935.
- 25) 田波・戸叶・富岡・海宝・長谷川・福島：総合医学，14, 1, 27, 1957. 33) 芹田広海：千葉医会誌，17, 3089, 1939.
- 26) 福島 俊：千葉医会誌，33, 495, 1957. 34) 作田 淳：千葉医会誌，19, 1908, 1941.
- 27) 安東・田嶋：動物実験法，1956. 35) 高安九郎：千葉医会誌，9, 12; 10, 1, 1931~1932.
- 28) 藤井・野沢：日衛生学誌，10, 2, 1955. 36) 城井一弘：千葉医会誌，12, 8, 1934.
- 29) 宮川正澄：日新医学，42, 10, 1955. 37) 浦野英彦：千葉医会誌，12, 773, 1934.
- 30) **Bergey**: Manual of Determinative Bacteriology; 1948. 38) 倉持亀吉：千葉医会誌，12, 2687, 1934.
- 31) **Schmidt u. Strasburger**: Die Fäzes d. Menschen im normalen u. krankhaften Zustände mit besonderer Berücksichtigung d. klinischen Untersuchungsmethoden; 39) 小久保弘文：千葉医会誌，16, 1189, 1938.
- 40) 本間賢吉：千葉医会誌，20, 1625, 1942.
- 41) 吉江俊夫：千葉医会誌，32, 1, p. 38, 1956.
- 42) 真柄正直：嫌気性細菌学，1947.