超音波ちふすわくちんニ關スル研究

第4編 まうす感染防禦試験ニ就テ

神奈川県中央衛生試験所

渡 邊 邊

Hotori Watanabe

宮 川 文 雄

Fumio Miyagawa

青 木 巽

Tatsumi Aoki

(昭和14年7月4日受付)

【内 容 抄 録】

超音波(波長500m, 振動數60萬 Cycles)ヲ腸ちふす菌ニ作用シテ製シタル所謂 U.S. わくちん
ヲまうすニ感染防禦試験ヲ施行セリ。尙對照トシテ加熱、振盪並ニ市販ノちふすわくちんヲ用ヒ
比較セルニ成績ハ U.S. わくちんニ於テ感染防禦力最モ強キヲ認メタリ。

目 次

緒 言	第2項 強毒生菌接種
第1章 供試材料	第3項 觀 察
第1項 超音波發生裝置	第3章 實驗成績
第2項 實驗動物	第1項 實驗第1群
第3項 使用菌株	第2項 實驗第2群
第4項 使用わくちん	第3項 實驗第3群
第2章 實驗方法	等4章 總括及結言
第1項 わくちん接種	

緒 言

著者(渡邊)ハ數年來超音波ノ微生物並ニ免疫ニ及ボス影響ヲ研究シ、之ヲ昭和11年秋慶
應醫學會ニ於テ報告シ、更ニ昭和12年春新潟ニ開催サレタル第11回日本聯合微生物學會ニ於
テ超音波ヲ作用シテ製セルわくちんノ感染防禦力ノ著明ナルコトヲ報告セリ。其後ちふすわ
くちんニ關シ研究ヲ續行シ益々ニ其効ノ著明ナルヲ認メタリ。本編ニ於テハ超音波わくちん
(U.S. わくちん)ト加熱、振盪及ビ感作わくちん等ノわくちんヲ對照トシテ之ヲまうすニ接

種シ以テ各わくちんノ効果ヲ比較シ所期ノ効果ヲ得タルヲ以テ茲ニ報告セントス。

第 1 章 供 試 材 料

第 1 項 超音波發生裝置

第 1 編ニ於テ使用セルモノト同一裝置ナルヲ以テ之ヲ省略ス。猶超音波使用時ニ於ケル各指針ヲ示セバ次ノ如シ。

AmmPer	∞ 10—11.5
Filament Voltage	9—9.5
Plate Voltage	2,800
Secondary (Termo Ammetre)	8.0
Plate Current	0.25
Oil Condenser	100.0
Oil Tempelatur	18°C
可檢物溫度	38—42°C

第 2 項 實 驗 動 物

體重9—13gr, 平均 10gr ノまうすヲ購入シ、之ヲ10匹1群トシテ1箱ニ入レ、飼料トシテ大麥、豆腐粕、野菜等ヲ充分給與シ、室温22—24°Cニ於テ飼育セリ。先ヅ購入後5日間觀察シ健康ナルヲ認メタル上實驗ニ供セリ。わくちん接種後ノ飼養方法モ同様ニシテ只5日毎ニ體重ヲ計量スルト共ニ糞及殘滓ヲ取換ヘタリ。

第 3 項 使 用 菌 株

本實驗ニ使用セル菌株ハ當所ニ保管セル早島株ヲ用ヒタリ。本菌株ハ *Kauffman* ノ V 型菌ニ屬シ其致死量ハ0.03—0.04mgヲ以テ10gr 前後ノ體重ヲ有スルまうすヲ24—48時間以內ニ斃死セシメル毒性ヲ有ス。猶わくちん製造並ニ感染防禦力檢定ニ當リテハ數回動物接種ヲ認メタル上之ヲ使用セリ。生菌接種時ニ於ケル毒力ヲ檢定スルニ次ノ如シ。

第 1 表

番 號	體 重	接 種 月 日	菌 量 mg	結 果	備 考
1	10.5	15%	0.01	—	接種後5日生存
2	11.0	"	0.02	—	接種後5日生存
3	10.0	"	0.03	+	接種後48時死亡
4	10.0	"	0.04	+	接種後24時死
5	12.0	"	0.05	+	接種後24時死
6	12.0	"	0.06	+	接種後24時死
7	11.0	"	0.07	+	接種後24時死

第 4 項 使用わくちん

超音波わくちん 前記早島株ヲ使用ニ當リ數回まうすヲ通過セル後之ヲ腹水寒天培養基 (PH7.2)ニ培養シ、20時間ヲ經テ之ヲ搔取シテ秤量ヲ行ヒ、之ヲ滅菌生理的食鹽水1ccm中ニ0.5mgヲ含有ノ乳劑トナシタル上超音波ヲ作用セリ。超音波ノ作用時間ハ10分、20分、30分、40分ト4種ノ時間ヲ異ニシタルわくちんヲ調製セリ。之ニ防腐ノ目的ヲ以テMerk製石炭酸ヲ0.5%ノ割ニ加ヘタル後氷室ニ保存シ用ニ臨ミテ使用セリ。猶超音波ノ使用時間10—30分間ノわくちんノ培養スルニ生菌ノ存在ヲ證明セルヲ以テ48時間37°Cノ孵籠内ニ納メタル後之ヲ檢定セルニ殺菌セルヲ確メタリ。

加熱わくちん 使用ちふす菌ハ超音波わくちん調製ニ使用セルモノト同一食鹽水乳劑ニシテ、之ヲ重盪煎ヲ用ヒテ攝氏60ニ於テ深積シ置キ、時々振盪シツツ60分間加熱シ、之ヲ氷室ニ納メ、殺菌セルヲ確メタル後用ニ臨ミテ使用セリ。

振盪わくちん 使用ちふす菌ハ超音波わくちん調製ニ使用セルモノノ同一菌株ニシテ、之ヲ20時間寒天培養後滅菌蒸餾水1ccm中ニ0.5cc含有乳劑トナシ、此ノ100ccmヲ200ccm容量ノ丸形こるべンニ入レ、1分時約10cm振幅ノ100回振盪ノ能力アル振盪器ニ掛ケテ、10分、20分30分、40分、1時間、4時間、8時間及12時間ノ8種ノ時間ヲ異ニセル振盪ヲ行ヒ、之ニ0.85%ノ割ニ食鹽水ヲ加フルト共ニ、0.5%ノ割ニMerk製石炭酸ヲ加ヘテわくちんトセンメタリ。猶此ノわくちんハ何レモ培養スルニ生菌ノ存在ヲ認メタルヲ以テ37°Cノ孵籠器内ニ入レテ72—96時間後ニ於テ初メテ殺菌セルヲ認メタルヲ以テ之ヲ氷室ニ保存シ用ニ臨ミテ使用セリ。

市販わくちん 市販わくちんトシテ加熱わくちん及感作わくちんノ二種ヲ使用セリ。加熱わくちんハ其ノ表記ニ昭和13年3月23日某研究所製造ナリ。又感作わくちんハ市販ニシテ昭和13年2月14日某研究所ニ於テ製造セルモノニシテ、購入後ハ之ヲ1—8°Cノ氷室内ニ保存シ用ニ臨ミテ使用セリ。

第 2 章 實 驗 方 法

第 1 項 わくちん 接種

本實驗ニ於テわくちん接種ハ2回トナシ、1群ノ接種頭數ハ10—20頭ヲ使用セリ。而シテ接種操作ハ同一ニシテ同日中ニ行ヒタリ。即チ第1回わくちん接種ハ5月2日、接種部位ハ皮下、注射量ハ0.25ccm、第2回わくちん接種ハ第1回わくちん接種後滿5日ヲ經タル5月7日ニ行ヒ、注射量ハ0.5ccm接種部位ハ種1回ト同様皮下注射ヲ行ヒタリ。

第2項 強毒生菌接種

接種菌ハ前述セル如ク數回まうすヲ通過シテ強毒トナセル早島株ヲ用ヒ、第2回わくちん接種後16日ヲ經テナセリ。而シテ接種菌量ハ致死量ノ5倍、10倍、及20倍ノ三種ニ分テ何レモ所要菌量ヲ0.5ccノ生理的食鹽水ニ含有セシメタルモノヲ腹腔内ニ接種セリ。

第3項 觀察

生菌接種後ニ於ケル動物ノ觀察ハ接種後、24—72時間之ヲ検査セリ。而シテ若シ斃死セル時ハ之ヲ剖檢ノ上、其心血28seヲ普通寒天(PH7.2)ニ振盪培養シ、接種菌ト同一菌ヲ證明セルモノヲ感染動物トシテ成績ヲ掲ゲタリ。

第3章 實驗成績

第1項 實驗第1群

前述實驗方法ニ則リテ超音波わくちん10—40分作用各20匹、之レニ對照トシテ加熱わくちん20匹、12時間振盪わくちん10匹及市販わくちん各20頭ニ對シテ第1回わくちん注射ヲ實施セルニ加熱わくちん1匹ハ中途斃死セリ。次テ7日第2回接種ヲ施行セルニ第2表ニ示セル如ク生菌接種マデニハ各組ニ於テ2—4匹ノ斃死ヲ認メタリ。之等ノ斃死まうすハ剖檢上菌ヲ培養セルモ何レモ接種菌ハ證明セズ。

第2回わくちん接種後滿6日ヲ經タル2日ニ強毒菌致死量5倍ヲ接種シタル後72時間觀察セルニ其成績第2表ノ如シ。

第2表

接種液		豫防接種						生菌接種				成績(生存)					
		第一回			第二回			月日	量	致死 倍數	數	第一日		第二日		第三日	
		月日	量	數	月日	量	數					數	率	數	率	數	率
U.S.	10分	%	0.25 cc	20	%	0.5 cc	19	2%	0.5 cc	5	17	14	82.35	14	82.35	14	82.35
U.S.	20分	"	"	20	"	"	20	"	"	5	16	14	87.50	14	87.50	14	87.50
U.S.	30分	"	"	20	"	"	20	"	"	5	18	18	100.00	18	100.00	18	100.00
U.S.	40分	"	"	20	"	"	20	"	"	5	16	14	87.50	14	87.50	14	87.50
加熱	60分	"	"	20	"	"	19	"	"	5	16	16	100.00	16	100.00	16	100.00
振盪	12時間	"	"	10	"	"	10	"	"	5	10	9	90.00	9	90.00	9	90.00
市販加熱 ワクチン		"	"	10	"	"	10	"	"	5	9	9	100.00	9	100.00	9	100.00
市販感作 ワクチン		"	"	10	"	"	10	"	"	5	8	8	100.00	8	100.00	8	100.00
毒力檢定		—	—	—	—	—	—	"	"	5	10	3	30.00	0	0.00	0	0.00

即チ超音波30分作用わくちん, 加熱わくちん及市販わくちん最モ成績良好ニシテ試験まうす全部生存セルヲ認メ, 振盪わくちん及超音波作用20分, 40分及10分作用ノモノ = 90.00—82.38%ノ感染防禦力ヲ示セリ.

第 2 項 實 驗 第 2 群

本實驗群モ第1實驗群ト同様ニ各種わくちんヲ%日第1回各組=20匹宛接種シタル=第2回注射日マデニ振盪わくちん接種セルモノ1匹斃死ヲ認メタリ. 第2回接種%日後ヨリ強毒生菌接種16日間ニハ各組ニ於テ相當數ノ斃死ヲ認メタリ. 之ガ斃死原因ニ關シテハ既ニ第3編ニ論述セル如ク Kalbor Schock ニヨレルモノ最モ多キヲ算ヘタリ. 而シテ2%日強毒生菌ヲ致死量10倍接種セルニ其成績第3表ノ如シ.

第 3 表

接 種 液		豫 防 接 種						生 菌 接 種				成 績 (生存)							
		第 一 回			第 二 回			月 日 量 致死 倍 數 數				第 一 日		第 二 日		第 三 日			
												數	率	數	率	數	率		
種 類	作用時間	月 日	量	數	月 日	量	數	月 日	量	致死 倍 數	數	數	率	數	率	數	率		
U.S.	10分	%	0.25 cc	20	%	0.5 cc	20	2%	0.5 cc	10	15	14	93.33	13	86.67	13	68.67		
U.S.	20分	"	"	20	"	"	16	"	"	10	11	9	81.81	9	81.81	9	81.81		
U.S.	30分	"	"	20	"	"	19	"	"	10	17	17	100.00	16	94.12	16	94.12		
U.S.	40分	"	"	20	"	"	20	"	"	10	16	11	68.75	10	62.50	9	56.25		
加熱	60分	"	"	20	"	"	20	"	"	10	16	13	81.25	5	31.25	5	31.52		
振盪	12時間	"	"	19	"	"	20	"	"	10	17	16	94.12	12	70.59	10	58.81		
傳 研 ワクチン		"	"	20	"	"	20	"	"	10	19	14	73.68	11	57.89	8	47.06		
北 研 ワクチン		"	"	20	"	"	20	"	"	10	11	8	72.72	6	54.54	4	36.36		
毒力檢定		—	—	—	—	—	—	"	"	10	10	0	0.00	0	0.00	0	0.00		

即チ本成績ニ於テ最モ感染防禦力ノ良好ナリシハ超音波30分作用わくちんニシテ接種17匹中ノ16匹 (74.12%) ハ其ノ感染防禦セルヲ示セリ. 之ニ次テ超音波 20 分作用わくちんハ接種11匹中9匹 (81.81%) ハ感染防禦力ヲ現ハセリ. 之ニ次ギテ超音波10分作用わくちんハ68.67%振盪12時間作用わくちんハ58.81%, 超音波40分作用わくちんハ56.25%, 市販加熱わくちん47.06%, 同感作わくちんハ36.36%最モ感染防禦力ノ不良ナリシハ加熱 60 分わくちんノ31.52%ナリ.

即チ本實驗群ニ於テハ超音波作用わくちんハ感染防禦力強ク, 斷然他種わくちんヲ凌駕セル成績ヲ示セリ.

第 3 項 實驗 第 3 群

本實驗群＝於テモ第1, 第2實驗群ト同一操作ノ下ニ之ヲ施行セリ。即チ第1回接種ハ%日各組20匹宛接種セル＝第2回接種マデ＝超音波40分作 用わくちん＝於テ1匹ノ斃死ヲ認メタリ。第2回接種ハ%日＝行ヒタル＝其ノ後強毒生菌接種マデ＝各組＝於テ1—9匹ノ斃死ヲ認メタリ。然シ之ガ原因＝關シテハ第2實驗群＝於ケルト同様接種後ニ發セル KarholSchockヲ其ノ主因トセリ。而シテ第2回わくちん接種後16日ヲ經テ強毒生菌ヲ致死量20倍即チ早島株0.6mgヲ接種セル後72時間之ヲ觀察スル＝其成績ハ第4表ノ如シ。

第 4 表

接種液		豫 防 接 種						生 菌 接 種				成 績 (生存)					
		第一 回			第二 回			月 日 量 致死倍數 數				第一 日		第二 日		第三 日	
		月 日	量	數	月 日	量	數					數	率	數	率	數	率
U.S.	10分	%	1.25 cc	20	%	0.5 cc	20	%	0.5 cc	20	19	14	73.69	12	63.16	12	63.16
U.S.	20分	"	"	20	"	"	20	"	"	20	17	13	76.47	8	47.65	8	47.05
U.S.	30分	"	"	20	"	"	20	"	"	20	14	13	92.86	9	64.29	9	64.29
U.S.	40分	"	"	20	"	"	19	"	"	20	17	14	82.35	10	58.82	7	41.18
加熱	60分	"	"	20	"	"	20	"	"	20	14	13	92.86	6	42.86	5	35.71
振盪	12時間	"	"	20	"	"	20	"	"	20	18	15	33.33	8	44.44	6	33.33
傳 研	ワクチン	"	"	20	"	"	20	"	"	20	13	10	76.92	6	46.16	4	30.77
北 研	ワクチン	"	"	20	"	"	20	"	"	20	11	8	72.73	3	27.27	2	18.18
毒力檢定		—	—	—	—	—	—	"	"	20	10	0	0.00	0	0.00	0	0.00

即チ本實驗群＝於テハ超音波30分作用わくちん最モ感染防禦力ヲ現ハシ接種14匹中9匹即チ64.24%ハ生存セリ。之ニ次テ超音波60分間作用わくちんハ63.16%ノ感染防禦力ヲ示シ、更ニ超音波20分間作用わくちんハ47.0%、超音波40分間作用わくちんハ41.18%、加熱わくちんハ35.71%振盪わくちんハ33.33%並ニ市販加熱わくちん30.77%及ビ感作わくちん18.18%ノ感染防禦力ヲ現セリ。

第 4 章 總 括 及 結 言

超音波10—40分間作用ニヨリテ製出セルわくちん4種ヲまうすニ2回接種後之ニ致死量ノ5—20倍ノ強毒生菌ヲ接種シテ其感染防禦力ヲ實驗スル＝何ンモ相當ノ感染防禦力ノ附與セラレタルヲ認ム。殊ニ超音波30分間作用わくちん接種まうす49匹中43頭即チ87.7%ハ完全ニ感染防禦作用ヲ現ハシ斃死ヲ免レタリ。實施超音波10分間作用わくちんハ76.47%、20分

間作用ハ70.45%超音波40分間作用わくちんハ最モ悪ク61.22%ノ感染防禦率ヲ示セリ。對照トセル加熱わくちんハ余等ノ直接製作セルモノ及ビ市販ノ品種ヲ使用シテ91匹ノまうすニ接種セルニ、余等ノ製セルモノハ47.82%、市販加熱わくちんハ43.90%ノ感染防禦率ヲ示セリ。

振盪作用12時間連續セル所謂振盪わくちんハ強毒生菌接種頭數37匹ニシテ、其感染防禦率ハ62.16%ヲ示セリ。又對照トセル市販感作わくちん接種後、強毒生菌接種ヲ行ヘルモノハ30匹ニシテ、其感染防禦率ハ46.67%ヲ示セリ。即チ上記超音波作用わくちんと他法ニヨリテ製作セルわくちんとノ實驗成績ヲ比較スルニ超音波わくちん特ニ其作用30分間ニヨリテ製作セルモノ最モ感染防禦力87.75%ヲ示セリ。之ニ次デ超音波作用10分間76.47%、20分間70.45%、振盪わくちんハ(62.16%)超音波40分間作用61.22%加熱わくちん(47.82—43.90%)感作わくちん(46.67%)ノヲ示セリ。

猶本實驗ニ於テ特異ノ現象ヲ呈セルハわくちん豫防接種後ニ於ケル強毒菌使用ニ當リ致死倍數ト感染防禦力トノ關係ナリ。即チ各種わくちん接種後用ヒタル強毒生菌ヲ5倍量用ヒタル第1實驗ニ於テハ各種わくちんノ感染防禦率ハ82.35—100%ニシテ其ノ間著シキ差違ヲ認メザルモ、若シ致死量ノ10倍量ヲ用ヒタル第2實驗成績ニ於テハ其ノ各種わくちん間ニ於ケル感染防禦力ニ著シキ差違ヲ示シ、最モ最高ナル超音波作用30分間わくちんニ於テ94.12%、最低加熱わくちんハ31.52%ヲ示シタリ。更ニ致死量20倍ヲ接種セル第3實驗ニ於テハ感染防禦力ノ最モ高キハ超音波30分作用わくちんハ64.29%最低率ヲ示セル市販感作わくちん18.18%ノ例外ヲ除キ、他ハ30.77—47.05%ノ感染防禦率ヲ示シテ各種わくちんノ感染防禦率ノ相接近セルノ感ヲ呈セリ。斯如本實驗成績ヨリ見ルニ致死量或ハ大量ヲ用フルトキハ成績不明瞭ニシテ其量ヲ用ヒタルモノニ於テ最モ良好ナル成績ヲ示シ、各種わくちんノ効果比率ヲ著明ニ示シタリ。即チまうすニ於ケル感染防禦試驗ノ生菌接種ニ於テ一定ノ比率ヲ有シシノ適

當量ヲ接種スルニアラザレバ之ノ効果ヲ示サザルコトヲ認メタリ。猶實驗成績ヨリ得タル動物體接種量致死量等ノ關係ハ一定ノ公式ニヨリテ現ハレルモノノ如シ。即チ前記致死量効果トヲ表示スルニ次ノ如キ模型圖ノ如キ關係ニヨルモノト考察サル。

要之本實驗ニ於テ超音波作用わくちんと各種わくちんとノ感染防禦効力ヲ比較スルニ次ノ如キ結言ヲ得タリ。

1. 超音波作用わくちんと加熱、振盪、感

作等ニヨリテ製セルわくちんトノ感染防禦率ヲまうすニ就キ比較スルニ超音波作用殊ニ其30分間作用ニヨリテ製造セルモノ最モ防禦力ノ強キヲ認メタリ。

2. ちふすわくちんノ感染防禦力ノ檢定ニ於テ生活菌接種ニ當リテハ致死量10倍接種ニ於テ最モ良効ナル比率ヲ示シ、5倍及20倍接種ニ於テハ比率著明ナラザルヲ認メタリ。即チ適當量ヲ接種スルニ非ザンバ完全ナル比率ヲ得ルコト難キヲ認メタリ。