さるもねら屬菌凝集素ニ關スル研究

第1編 凝集素分離諸要約ニ就テ

京城帝國大學醫學部微生物學教室 (主任 細川教授)

朝鮮總督府警務局衛生課細菌検査所 (主任 横山技師)

醫學士 高 橋 武 夫

Takeo Takahasi

(昭和15年11月26日受付)

(本論文ノ要旨ハ昭和15年9月第4回鮮滿聯合醫學會ニ於テ發表シタ)。

【内 容 抄 録】

抗原ノ特異抗體吸着作用ヲ利用シテ凝集素ヲ分離精製スルニ際シテハ諸種ノ要約ガ影響ヲ與ヘルモノデアル。此等要約ノ内如何ナルモノガ最重要デアルカ、最良ノ分離法ハ如何ニスレバ其イカヲ知ラントシテちふす菌H, O凝集素ニ就テ詳細ニ検討ヲ加ヘタ。ソノ結果ニヨルト最も重大ナ關係ヲ有スルモノハ吸收抗原量、分離めぢうむ及分離溫度ノ3者デアルコトガ明ニナツタ。即チ抗原ハ原血清中ヨリ7/8~15/16内外ノ凝集素ヲ吸收スル程度ノ量ヲ用ヒ、分離ハ蒸溜水中ニテ56°C~57°C又ハ0.85%食鹽水中ニテ65°Cニ15~30分間加溫スレバ最も良好ナ成績ヲ納メ得ルモノデアル。

目 次

第1章 緒 論	第4節 本章ノ小括
第2章 實驗材料並ニ實驗方法	第4章 洗滌ニ關シテ
第1節 實驗材料	第1節 洗滌液ノ凝集反應及蛋白反應
第1項 使用菌株	第1項 食鹽水ノミニヨル洗滌
第2項 使用血清	第2項 蒸溜水ノミ又ハ食鹽水ト蒸溜水混用ニヨル洗滌
第2節 實驗方法	第2節 洗滌方法ト凝集素分離トノ關係
第1項 分離試験	第3節 本章ノ小括
第2項 凝集反應検査術式	第5章 凝集素分離ノ際ノ諸要約ニ就テ
第3章 凝集素結合ノ際ノ諸要約ニ就テ	第1節 分離めぢうむ
第1節 抗 元	第2節 分離溫度
第1項 抗原ノ質ニ關シテ	第3節 加溫時間
第2項 抗原ノ量ニ關シテ	第4節 分離液ノ菌濃度ニ就テ
第2節 血清稀釋度及稀釋めぢうむ	第5節 本章ノ小括
第1項 血清稀釋度	第6章 總括並ニ考察
第2項 血清稀釋めぢうむ	第7章 結 論
第3節 感作溫度及時間	文 献

第 1 章 緒 論

1920年 *Weil u. Felix*⁽¹⁾ハ "Doppeltypus der Rezeptoren" ナル學說ヲ發表シ、ちふす・ばらちふす屬ニ於テハ易熱性ノH及耐熱性ノOノ2種ノ Rezeptoren ヲ含有スルモノデアルコトヲ明ニシ、次デ1920年 *Arkwright*⁽²⁾ハ腸内細菌ニ於テ Rough form ヲ作レモノヲ認メ細菌ノS及R型變異ニ就テ始メテ報告シタ。1922年 *Andrews*⁽³⁾ハさるもねら屬諸菌ノ内ニハ其ノ種類ニヨツテ 易熱性H抗原ニ特異相 (Specific phase) ト非特異相 (Unspecific phase) ノ2相ノアルコトヲ血清反應上カラ證明シ、此等ノ菌ヲ二相性 (diphasic) ノ菌ト稱ヘ通常ノ然ラザルモノヲ一相性 (monophasic) ノ菌ト稱ヘタ。又1930年 *Kauffmann u. Mitsui*⁽⁴⁾ハH抗原ガ更ニ α 及 β ノ2相ニ分レルモノナル事ヲ發表シタ。

以上諸家ノ業績ヲ基礎トシさるもねら屬 *Rezeptorenanalyse* ニ關スル研究ハ漸次詳細ヲ究メ就中 *White, Savage, Schütze, Kauffmann* 等ノ輝カシイ業績ニヨツテ此ノ方面ノ研究ハ一段ノ進展ヲ示スニ至ツタ。1936年ノ *Topley & Wilson*⁽⁵⁾ノ著書ニヨレバさるもねら屬總數50、此等ヲO抗原ヲ基礎トシテAヨリGノ7種ニ分ツテ居ル。然レニ1937年 *Kauffmann*⁽⁶⁾ノ發表シタ *Kauffmann-White-Schema* ニヨレバ更ニ十數種ノ新種ヲ追加シツノ分類モAヨリKマデノ10種ニ増加ヲ示シテ居ル。

本 Schema ニヨツテ明ナ如ク此等さるもねら屬諸菌中ニハ鞭毛抗原ノミヲ共通ニスルモノガ少クナイ。例ヘバちふす菌ノ鞭毛抗原 "d" ヲ有スルモノハちふす菌ノ他ニ *S. stanley*, *S. muenchen*, *S. gaminara* 及 *S. amersfoort* 等ガアリ、又抗原 "g" ヲ有スルモノハ各型ゲるとねる菌ヲ始メトシテ *S. derby*, *S. senftenberg* 等實ニ十餘種ニ及ンデキル。此等さるもねら屬抗原ノ共通性、非共通性ニ關シテハ既ニ知ラルル如ク、因子血清 (*Kauffmann*⁽⁷⁾)ガ提出セラレテ居ルノデアル。曩ニ當教室ニ於テ新宮⁽³⁸⁾ハちふす菌ヨリ鞭毛ノミヲ純粹ニ採集シ之ニヨリ鞭毛凝集素ノ純粹分離ヲ企テ或程度ノ成果ヲ擧ゲ得タガ其研究ハさるもねら屬ト云フ見地カラスル時ハ未ダ其ノ一小部ニ過ギナイノニ鑑ミ、筆者ハ大局的ニ此等共通抗原ノ利用ニヨツテ各凝集素ノ純粹分離ヲ企テ其ノ各々ノ性狀ヲ究明セントシタ。

抑々凝集素ノミナラズ諸種ノ抗體ヲ分離精製セントスル試ミハ從來幾多先進諸家ニヨリ種々ノ方面ヨリ研究セラレ居ル所デアツテ此等諸家ノ業績ヲ總括スルト大體次ノ3方法ニ大別セラレル。即チ 1)、化學的方法、2)、理學的方法、3)、生物學的方法デアル。1)ハ所謂血清蛋白分屑法デアリ、2)ニハ濃縮法、吸着法、透析法又 *Elektrodialyse* 及 *Ultrafiltration* ニヨル方法等ガ屬スル。3)ハ抗原ノ特異抗體吸着作用ヲ利用シタモノデアツテ前2法ニ比シ實地應用上ニ於テハ劣ルト雖モ免疫體ノミヲ純粹ニ取出シ得ルヲ以テ免疫體研究上ニハ理想的ナモノデアル。筆者ノ企テタさるもねら屬諸菌ノ共通抗原利用ニヨル凝集素分離法ハ言フ

マデモナクコノ第3ノ法ニ屬スルモノデアルカラ次ニ本法ニ關スル先進諸家ノ業績ヲ振返ツテ見ル事トスル。

1900年 *Hahn u. Trommsdorff*⁽⁸⁾ ハちふす菌及これら菌ヲ夫々當該免疫血清ニテ感作シタ後 $N/100$ $NaOH$ 又ハ $N/100$ H_2SO_4 中ニテ $37^\circ C$ 1時間作用セシムレバ一度結合シタ凝集素ノ再ビ分離セラルル事ヲ見タ。爾來抗原吸着法ニヨル抗體分離精製ニ關スル業績ハ多數ノ諸家ニヨリ相繼イデ發表セラレ抗體ノ種類モ亦細菌凝集素ノミナラズ血球凝集素, 溶血素, 溶菌素, 細菌沈降素, 血清沈降素, 補體結合性抗體, 防禦抗體, *Forssmann* 氏抗體等殆ドすべてノ免疫體ニ及ンデ居ル。即チ *Landsteiner u. Gagic* (1903)⁽⁹⁾ 及 *Liebermann u. Fenyvessy* (1908)⁽¹⁰⁾ ハ血球凝集素或ハ溶血素ノ分離ニ成功シ, *Bail u. Tsuda* (1909)⁽¹¹⁾, *Spät* (1910)⁽¹²⁾ 及 *Matsui* (1915)⁽¹³⁾ ハ食鹽水中ニ溶菌素ヲ分離セシメ得ル事ヲ報ジタ。 *Chickering* (1915)⁽¹⁴⁾ ハ肺炎球菌浸出液又ハ生菌ト免疫血清トヨリ生ジタ特異沈降物ヲ食鹽水又ハ少量ノ $Na_2 CO_3$ ヲ加ヘタ食鹽水中ニテ $42^\circ C$ ニ加温スル事ニヨリ防禦抗體ノ他凝集素及沈降素ヲ分離シタ。 *Weinstein* (1918)⁽¹⁵⁾ ハちふす菌浸出液トちふす血清トヲ混ズル事ニヨリ生ジタ沈降物ヲ弱あるかり性溶液中ニ $42^\circ C$ 1時間加温シテ凝集素, 殺菌素及補體結合性抗體ヲ分離シ, 松井 (1921)⁽¹⁶⁾ モ亦酸, あるかりヲ以テちふす菌凝集素ノ分離ヲ行ツタ。

Kosakai (1918)⁽¹⁷⁾ ハ感作血球ヲ10%蔗糖溶液中ニテ $55^\circ C$ 15~30分作用セシムル事ニヨリ容易ニ溶血素ノ分離セラルル事ヲ報ジ, 次デ *Furuhata* (1921)⁽¹⁸⁾ ハ血球凝集素分離ニ, *Ogata* (1924)⁽¹⁹⁾, 内田 (1927)⁽²⁰⁾ ハ細菌凝集素分離ニ, 荒川 (1930)⁽²¹⁾ ハ溶血素分離ニ何レモ蔗糖溶液ヲ用ヒテ良好ナ成績ヲ得テキル。更ニ *Huntoon* (1921)⁽²²⁾ ハ蒸溜水及10%蔗糖溶液中ニテ細菌凝集素ヲ分離シ, 又抗肺炎球菌血清ヨリ防禦抗體ノ分離ヲ企テ詳細ナ實驗ヲ行ツタ結果, 抗體分離ニ際シテハ抗原及抗體ノ種類, 感作法, 洗滌法, 分離液ノ質及量, 分離温度等諸種ノ條件ガ重大ナ影響ヲ及ボスモノデアル事ヲ指摘シ, 更ニ免疫體ノ事態ニ就テ論及シタ。三輪 (1922)⁽²³⁾, 谷田貝 (1925)⁽²⁴⁾ ハ感作菌ヲ蒸溜水中ニテ $56^\circ C$ 30分加温スレバ多量ノ凝集素ヲ分離セシメ得ルガ生理的食鹽水中ニテ加温スルモ分離不可能ナリト報ジタガ, 須之内 (1929)⁽²⁵⁾ ハ分離めちうむトシテ食鹽水ヲ用ヒ温度ヲ $65^\circ C$ トナシタ所蒸溜水, 蔗糖溶液ノ場合ト殆ド同程度ニ抗體ノ分離セラルルヲ見タ。

Nelson (1928)⁽²⁶⁾ ハばらちふすB菌ニ就テ實驗シ感作菌ヲ5%食鹽水中ニテ $60^\circ C$ 1時間加温スレバH凝集素ハ容易ニ分離セラレ得ルガO凝集素ハ分離セラレナイ事ヲ見テ分離現象ニ於テハH及O凝集素ハ異ル態度ヲトルモノデアル事ヲ指摘シ, 竹下 (1930)⁽²⁷⁾ モ亦 $100^\circ C$ 加熱菌ヲ抗原トシテ用ヒタル時ハ凝集素分離不可能ナリト報ジテ居ル。又渡邊 (1931)⁽²⁸⁾ ハXL, LS及Sノ3種ノちふす菌及LS血清ヲ使用シテちふす菌凝集素ノ分離ヲ企テL凝集素ハS凝集素ニ比シ分離セラレ易ク又分離ニ於ケル重要因子ハ温熱及菌 *Rezeptoren* ノ破壊デアルトシ

タ。更ニ桑名 (1931)⁽²⁹⁾、大岩 (1934)⁽³⁰⁾ ハ凝集素及沈降素分離試験ニ於テ高張食鹽水ヲ用ヒテ良好ナ成績ヲ得、Suma (1935)⁽³¹⁾ ハ低張食鹽水中ニ諸種ノ抗體ヲ分離セシムル事ニ成功シタ。Felton (1932)⁽³²⁾ ハ肺炎球菌ノ S, S, S, ト肺炎球菌血清トヲ混合シテ生ジタ沈降物ヨリ防禦抗體ヲ分離シテ居レ、肺炎球菌ニ關シテハ其後 Heidelberg 等 (1936, 1938)^(33, 34) ノ詳細ナ報告ガアル。Duncan (1937)⁽³⁵⁾ ニヨレバ抗元抗體反應ニ於テハ至適鹽濃度 (salt optimum) ナルモノガ存在シ該濃度ニ於テ反應ハ最高ニ達シ鹽濃度ガソレヨリ何レカノ方向ヘ離レルニ從テ漸次減退スルモノデアルト、而シテ抗體ノ分離現象ハ抗元感作時ノ鹽濃度ト分離時ノ鹽濃度トニ關係スルモノデ分離時ノ濃度ガ感作時ノソレト比較シテ至適濃度ヨリ更ニ遠ザカツタ場合ニ於テノミ抗體ノ分離ガ起ルモノデアルト。

上記諸家ノ業績ガ主ニ分離めちうむ或ハ分離溫度ニ對シ意ガ注ガレテ居レノニ對シ Haku (1929)⁽³⁶⁾ 及桑名 (1931)⁽²⁹⁾ ハ抗體分離ニ際シテハ吸收抗元量ガ重要ナ影響ヲ與ヘルモノデアタル事ヲ報ジ分離ニ最適ノ抗元量ヲ算出シタ。又新宮 (1929)⁽³⁷⁾ ハちふす菌凝集素分離試験ニ於テ抗元トシテはるまりん固定菌ヲ用ヒテ良好ナ成績ヲ納メ、又最近 (1939)⁽³⁸⁾ ニハ鞭毛ノミヲ純粹ニ採集シ之ヲ抗元トシテ鞭毛凝集素ノ純粹分離ニ成功シタ。牧野 (1939)⁽³⁹⁾ ハ血球及細菌凝集素ノ結合カニ關スル研究ニ於テ免疫血清作製ノ際ノ抗元注射回数ガ凝集素分離ニ對シテモ影響ヲ有スル事ヲ證明シタ。即チ凝集素分離ノ際ソノ操作回数ヲ反覆スルト抗元多數回注射抗血清ニ於テハ少數回注射抗血清ニ比シテ其ノ凝集素分離時期遅延スル傾向ヲ有スルト。

以上諸家ノ業績ヲ通覽スルニ抗體分離ニ際シ最モ意ノ注ガレタノハ第1ニ分離めちうむデアツテ次ニ分離溫度更ニ抗元及血清等デアル。而シテ此等ノ點ニ關スル諸家ノ成績必ズシモ一致セズ諒解ニ苦シム點モ少クナイ。而モ細菌凝集反應ニ於テハ Weil u. Felix⁽¹⁾ ノ H 及 O 抗元ノ發見、Felix & Pitt (1934)⁽⁴⁰⁾ ノちふす菌 Vi 抗元ノ發見、更ニ近來ノさるもねら屬抗元分析ノ大發展等目覺マシキ業績相繼イデ發表セラレ此等ヲ度外視シテ細菌凝集素ノ分離ニ就キ云々スル事ハ特ニさるもねら屬菌ニ關スル限リ全ク當ヲ得ナイ所デアル。然ルニ此等諸點ヲ深ク考慮シテ凝集素分離試験ヲ行ツタモノ殆ト見出ダシ得ズ、唯僅ニちふす菌又ハばらちふす B 菌ノ H, O 凝集素ニ就テ行ハレタモノ2~3ヲ數ヘ得ルニ過ギナイ。

仍テ筆者ハ本編ニ於テちふす菌凝集素ヲ嚴密ニ H 及 O 凝集素ニ區別シテ種々ノ見地ヨリ分離試験ヲ行ヒ、如何ナル要約ガ分離ニ對シテ最モ重要ナ影響ヲ與ヘルモノデアルカ、最モ高價ナ分離液ヲ得ルニハ如何ナル方法ヲ採ルベキカニ就テ詳細ニ檢討ヲ加ヘテ見タノデアル。本實驗ガ本問題解決ノ一助トモナレバ誠ニ幸トスル所デアツテ、茲ニソノ大要ヲ報告シ諸賢ノ御批判ヲ仰ガントスルモノデアル。

第 1 章 實驗材料並ニ實驗方法

第 1 節 實 驗 材 料

第 1 項 使 用 菌 株

使用菌株ハちふす菌 (三木株, V—W型) 及 *S. muenchen* ノ2株デ何レモ京城帝大醫學部微生物學教室保存ノモノデアル。

第 2 項 使 用 血 清

血清ハ何レモ家兎免疫血清デスベテ 56°C 30分加温非働性トナシ 0.5%ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘタモノデアル。次ノ3種類ヲ使用シタ。

1) ちふすHO血清

三木ちふす菌ヲぶいよんニ24時間培養シタ後、之ニ 0.5%ノ割ニほるまりんヲ加ヘテ殺菌シタモノヲ家兎ニ 0.2, 0.5, 1.0, 2.0cc ノ順ニ 4~5日ノ間隔ヲオイテ注射シ最後ノ注射後 9日目ニ採血シタモノ。

2) ちふすO血清

三木ちふす24時間寒天培養菌ヲ食鹽水ニ平等ニ浮游シ 100°C 2時間加熱後遠心沈澱シ更ニ 1回食鹽水ニ洗滌シタモノヲ家兎ニ 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg ノ順ニ 5~7日ノ間隔ヲオイテ注射シ最後ノ注射後 9日目ニ採血シタモノ。

第 2 節 實 驗 方 法

第 1 項 分 離 試 驗

血清ヲ適當ニ稀釋シ之ニ抗元ノ一定量ヲ加ヘ特ニ記載シタモノノ他ハ 37°Cニ2時間次デ室溫ニ1夜放置シタ後遠心沈澱シ沈渣ヲ食鹽水ニテ3回洗滌スル。次ニ分離液ヲ加ヘ平等ナ浮游液トナシ一定溫度ノ下ニ加温シタ後遠心沈澱シテ上清ヲ第1回分離液トスル。數回分離操作ヲ反覆スル場合ハ沈渣ニ更ニ分離液ヲ加ヘ同様な操作ヲ行フ。

凝集反應ハ通常吸收後ノ上清、第3回洗滌及分離液ニ就キ行ツタガ特別ノ場合ニハ第1回及第2回洗液ニ就テモ檢シタ。又特ニ洗液及分離液ノ蛋白反應ヲ檢シタ場合モアル。蛋白反應ハするはさりちー酸試験ニヨツタ。

第 2 項 凝集反應檢査術式

凝集反應ハ常ニ一定ノ術式ニヨリ行ツタ。即チ可檢液ノ遞減的ニ稀釋シタモノ 0.5ccニ菌浮游液 0.5cc宛ヲ加ヘヨク混和シタ後 37°C 孵卵器内ニ2時間、次デ室溫ニ1夜靜置シタ後反

應ヲ檢スル。尙コノ際常ニ食鹽水對照ヲオイト。菌浮游液トシテハ寒天斜面ニ20~24時間培養シタ生菌ヲ15ccノ食鹽水ニ10mgノ割ニ浮游シタモノ、及ビ之ヲ100°C30分加熱シタモノノ2者ヲ用ヒタ。即チ前者ハHO凝集價ヲ後者ハO凝集價ノミヲ檢スルモノデアル。尙特ニH凝集價ノミヲ檢スル爲ニちふす菌トH抗原ノミヲ共通ニスル *S. muenchen* ヲ凝集元トシテ用ヒタ事ガアル。コノ場合ハ同菌ガ2相性デアル爲同菌ヲ平板培養シソノ特異相集落1個ヲ10ccノぶいよんニ37°C5時間培養シタ後之ニ0.5%ノ割ニほるまりんヲ加ヘ殺菌シタモノヲソノママ使用シタ。

成績ノ判定ハ肉眼及 Agglutinoskop ヲ以テ檢シ凝集塊試験管底ニ沈降シ上清ノ清澄ナモノヲ卅、上清稍々溷濁シタモノヲ卅、其レ以下 Agglutinoskop デ明ニ認メ得レモノマデヲ十、不明瞭ナモノヲ十トシタ。

尙洗滌液及分離液トシテ蒸溜水或ハ糖溶液等ノ如ク食鹽ヲ含マナイモノヲ用ヒタ場合ニハ其等ニ等量ノ1.7%食鹽水ヲ加ヘタ後檢査ヲ行ツタ。又此等洗滌液及分離液ノ稀釋度ハ原血清ノ稀釋度ニ相當スル數ヲ以テ表シタ。尙單ニ食鹽水トアルハ0.85%食鹽水ノ事デアツテソレ以外ノ濃度ノモノハソノ都度記スル事トシタ。

第3章 凝集素結合ノ際ノ諸要約ニ就テ

凝集素ヲ抗原ニ結合セシムル場合種々ノ要約ガ關係スル事ハ言フマデモナイ。而シテ此等ノ内如何ナル要約ガ凝集素分離ニ對シテ重要ナ影響ヲ與ヘルモノデアルカヲ究メルベク、此等ヲ抗原、血清及感作方法ニ三大別シテ個々ノ項目ニ就キ詳細ニ檢討シテ見ル事トシタ。

第1節 抗 元

感作ノ際ノ抗原ニ關シテハ二通り考ヘラレル。如何ナル種類ノ抗原ヲ用フベキカ即チ質ノ問題及ビ如何程ヲ用フベキカ即チ量ノ問題ノ二者デアル。仍ツテ此ノ2項目ニ分ケテ考究シテ見タ。

1 項 抗原ノ質ニ關シテ

凝集素分離ノ際ノ結合抗原トシテハ從來多クハ生菌又ハ56°C~60°C加熱菌ガ用ヒラレテ居タノデアルガ新宮⁽³⁷⁾ハほるまりん固定菌ヲ使用スル事ヲ推奨シソノ場合ほるまりん濃度ハ0.5~2.0%固定期間ハ1~3日間ガ適當デアルトシタ。然レニ渡邊⁽²⁸⁾ハほるまりん固定菌ニテ凝集素吸收ヲ行フト生菌使用ノ場合ニ比シ凝集素分離ヲ著ク困難ナラシムルト。又細菌沈降素或ハ防禦抗體分離ノ場合ニハ多クハ細菌浸出液ヲ使用シテ居ルガ此ノ場合同時ニ凝集素モ亦分離セラルル事ハ諸家ニヨリ認メラレテキル所デアル。從テ凝集素ノミノ分離ニ際シテ

第 1 表 抗原ノ質的差違ニヨル凝集素ノ分離比較

抗 體 別		吸 收 後 ノ 上 清									分 離 液						
抗元別	凝集元	稀釋度															
		80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	160	320	640	1280	2560	5120	K	
A) 生 菌	生百	+	+	-						++	+	+	-			-	
		-								+	+	-				-	
B) 生 菌	生百	++	++	++	+	-				+++	++	++	+	±	-	-	
		++	+	-						++	++	++	+	-		-	
C) 56°C加熱菌	生百	++	++	++	+	-				++	++	+	+	-		-	
		++	+	±	-					++	+	±	-			-	
D) 100°C加熱菌	生百	+++	+++	+++	++	+	+	-		++	+	+	±	-		-	
		++	+	+	-					++	+	+	±	-		-	
E) ほるまりん菌	生百	++	+	+	-					++	++	+	+	-		-	
		-								+	+	±	-			-	
F) 石炭酸菌	生百	++	+	±	-					+++	++	++	+	+	-	-	
		-								++	+	+	-			-	
G) 昇汞菌	生百	++	+	±	-					+++	++	++	+	+	-	-	
		-								++	+	+	-			-	
H) ほるまりん水37°C侵出菌	生百	++	++	+	+	-				++	++	+	+	-		-	
		±	-							+	+	±	-			-	
I) 同上侵出液	生百	++	++	+	+	+	+	-		++	+	+	-			-	
		++	++	+	±	-				+	-					-	
J) 菌侵出濾液	生百	+++	++	++	++	++	+	±	-	++	++	+	+	+	-	-	
		++	+	+	±	-				++	+	+	-			-	
		80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	160	320	640	1280	2560	5120	K	
原 血 清	生百	+++	+++	+++	+++	++	++	+		±	-						-
		+++	+++	+++	+++	++	++	+		+	-						-

註. 生ハ生菌浮游液, 百ハ100°C加熱菌浮游液, 以後之ニ準ズル。

第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-)デアツタノデ特ニ表記シナイ。

モ本侵出液ノ使用ガ考ヘラレル。仍ツテ筆者ハ生菌及種々ノ理化學的處置ヲ施シタ菌並ビニ侵出液ヲ使用シテ凝集素分離狀況ヲ比較シテ見タノデアル。

實驗方法： 使用菌ハ三木ちふす菌, 血清ハちふすHO血清No.1, 抗原トシテハ次ノ9種類ヲ使用シタ。

A) 及B). 生菌, 但シ40倍稀釋血清4ccニA)ハ菌20mgヲ, B)ハ20mgヲ加ヘル。

C). 56°C加熱菌, 菌ヲ食鹽水=1cc10mgノ割ニ浮游シ56°C30分加熱シタモノ, 本液2ccニ20倍稀釋血清2ccヲ加ヘル。

D). 100°C加熱菌, 菌ヲ食鹽水=1cc10mgノ割ニ浮游シ100°C30分加熱後食鹽水ニテ1回洗滌シタモノ20mg=40倍稀釋血清4ccヲ加ヘル。

E). ほるまりん固定菌, 菌ヲ0.5%ほるまりん加食鹽水=1cc100mgノ割ニ浮游, 24時間後遠心沈澱シ食鹽水ニテ2回洗滌シタモノ。本菌200mg=40倍稀釋血清4ccヲ加ヘル。

F). 石炭酸固定菌, 固定液トシテ0.5%石炭酸加食鹽水ヲ用ヒE)ト同様ニ行フ。

G). 昇汞固定菌, 固定液トシテ0.02%昇汞加食鹽水ヲ用ヒE)ト同様ニ行フ。

H) 及 I). ほるまりん水37°C浸出菌及浸出液, 菌ヲ0.5%ほるまりん水=1cc100mgノ割ニ浮游37°Cノ孵卵器ニ1週間放置シタ後遠心沈澱シ沈渣ヲH), 上清ヲI)トスル。H)ハ食鹽水ニテ2回洗滌シタモノ200mg=40倍稀釋血清4ccヲ加ヘル。I)ハ $\frac{1}{6}$ 容ノ8.5%食鹽水ヲ加ヘテ等張トナシタ液2cc=20倍稀釋血清2ccヲ加ヘル。

J). 菌浸出濾液, 菌ヲ蒸溜水=1cc50mgノ割ニ浮游シ60°C1時間加熱後37°Cノ孵卵器ニ48時間放置シ次之ヲ遠心沈澱シテ上清ヲChamberland L₂ニテ濾過シタモノ。 $\frac{1}{6}$ 容ノ8.5%食鹽水ヲ加ヘテ等張トナシタモノニテ血清ヲ40倍ニ稀釋シソノ4ccヲ用ヒル。

何レモ37°Cニ2時間次デ室温ニ1夜放置シタ後, 4ccノ食鹽水ニテ3回洗滌後蒸溜水4ccヲ加ヘ56°C30分加温シ遠心沈澱シタ上清ニ就テ檢スル。

實驗成績. 一括シテ第1表ニ示シタ, 生菌(B), 55°C加熱菌, 各種消毒藥固定菌及菌浸出濾液ニアツテハ何レモ皆相當量ノ凝集素分離セラレ, 其等ノ間ニ著明ナ差違ヲ見出シ得ナイ。唯O凝集素ノミニ就テ考ヘレバ生菌ヲ用ヒタ場合(B)ガ最も良好ノ様デアルほるまりん水37°C浸出液ハ稍々不良デアル。生菌ヲ大量用ヒタ場合(A)ハ少量用ヒタ場合(B)及消毒藥固定菌ヲ同量用ヒタ場合ニ比シテ分離成績不良デアル事ハ注目スベキ事デアツテ之ハ第2項ニ於テ詳細ニ檢討スル事トシタ。又100°C加熱菌ニテ吸收スル事ニヨリO凝集素ノ分離セラルルヲ見タノデアルガ, コノ事ハ100°C加熱菌ニヨツテハ凝集素分離不可能ナリト報告シタ Nelson⁽²⁶⁾, 竹下⁽²⁷⁾等ノ成績ニ相反スルモノデアツテ, 之ニ關シテハ後章ニ於テ詳述スル事トスル。

上記實驗成績ヨリ抗元トシテ生菌, 56°C加熱菌, 消毒藥固定菌及菌浸出濾液ノ何レヲ用ヒルモH, O兩凝集素ハ容易ニ分離セラルルモノデアツテ其等ノ間ニ著明ナ差違ヲ認メ得ナイト言ヒ得ル。

次ニ上記3種ノ消毒藥ニテ固定シタ菌ノ凝集素結合力及分離能ガ時日ノ經過ト共ニ如何ニ變化スルカヲ觀察シテ見タ。即チ前述ノ方法デ作ツタ各菌液ヲ氷室(7°C)ニ貯藏シオキ3ケ

第 2 表 ほるまりん，石炭酸及昇汞固定菌ノ固定日數ト凝集素結合及分離トノ關係

抗 體 別		吸 收 後 ノ 上 清					分 離 液						K
固定 日數	稀釋度 抗元別	80	160	320	640	1280	160	320	640	1280	2560	5120	
1	F	++	+	+	-		++	++	+	+	-		-
	K	++	+	±	-		+++	++	++	++	+	-	-
	S	++	+	±	-		+++	++	++	++	+	-	-
3	F	++	+	+	-		++	++	+	+	-		-
	K	++	+	±	-		+++	++	++	+	+	-	-
	S	++	+	+	-		+++	++	++	+	+	-	-
5	F	++	+	+	-		++	++	+	+	-		-
	K	++	+	±	-		+++	++	++	+	+	-	-
	S	++	++	+	±	-	+++	++	++	+	+	-	-
7	F	++	++	+	±	-	++	++	+	+	-		-
	K	++	+	+	-		+++	++	++	+	-		-
	S	++	++	+	±	-	+++	++	++	+	+	-	-
14	F	++	++	+	±	-	++	++	++	+	+	-	-
	K	++	+	+	-		+++	++	++	+	+	-	-
	S	++	++	+	±	-	+++	++	++	+	+	-	-
30	F	++	++	+	±	-	++	++	+	+	-		-
	K	++	++	+	-		++	++	++	+	+	-	-
	S	++	++	+	±	-	++	++	++	+	-		-
90	F	++	++	+	+	-	++	++	+	-			-
	K	++	++	+	±	-	++	++	+	+	±	-	-
	S	++	++	+	+	-	++	++	+	+	-		-

註. 凝集元ハ生菌ノミ，原血清凝集價ハ第1表參照，第3回洗液ハ何レモ第1管（-）

Fハほるまりん固定菌，Kハ石炭酸固定菌，Sハ昇汞固定菌.

月ノ間，時々取出シテ試験シタノデアル。實驗方法ハスベテ前同様デアツ。菌ハ食鹽水ニテ2回洗滌後使用シ吸收菌量モ40倍血清1ccニ對シ50mgノ割デアル。

第2表ニ見ル如ク時日ノ經過ト共ニ結合力ハ餘リ著明デハナイガ漸次減退シテ行クノガ見ラレル。然シ分離能ハ殆ド減弱セズ1月後ニモ1日後ノ場合ト比較シテ著明ナ差違ヲ認メナイ。唯3ヶ月後ニハ稍々不良トナツテ來タ様デアル。尙3種ノ藥劑ニ就テ其等ノ結合力及分離能ニ及ボス影響ヲ比較シテ見レバほるまりん最モ不良デ石炭酸ガ最良ノ成績ヲ示シテ居ル。新宮⁽³⁷⁾ハ分離用吸收抗元トシテほるまりん固定菌ヲ用フル場合ハソノ固定日數1〜3日ヲ適當トスルト報ジテ居ルガ，本實驗成績ニヨレバ少クモ1月以内ハ使用ニ耐エ得レモノト

見テ差支ヘナイ様デアル。之ハ恐ラク固定液中ノ菌濃度，貯藏法及吸收菌量等ノ差違就中大量ノ菌ヲ以テ吸收シタ事ニヨルノデハナイカト考ヘラレルノデアルガ之ニ就テハ第2項ニ於テ更ニ述ベル事トスル。

第2項 抗元ノ量ニ關シテ

感作抗元ヨリ抗體ヲ分離スルニ當ツテハ抗體ニ結合スル抗元量ガ重大ナ影響ヲ與ヘルモノデアル事ニ着目シタノハ Haku⁽³⁶⁾，桑名⁽²⁹⁾ 等デアル。其他ノ人々モ感作ニ際シテハ大體ニ於テ一定量ノ抗元ヲ用ヒテ居リ，三輪⁽²³⁾，谷田貝⁽²⁴⁾ 等ハ凝集素ヲ完全ニ吸收スル程度ノ大量ノ菌ヲ用ヒテ居ル。筆者モ亦前項ニ於テ大量ノ生菌ニテ吸收シタ場合ハ少量ノ菌ヲ用ヒタ場合ヨリモ分離成績不良デアル事ヲ示シタガ，吸收菌量ト分離トノ關係ヲ尙詳細ニ検討セントシ次ノ諸實驗ヲ行ツタ。

實驗方法，抗元ハ生菌トほるまりん及石炭酸固定菌ヲ用ヒタ。ほるまりん固定菌ハ0.5% ほるまりん加食鹽水中ニ1cc 50mgノ割ニ3日間固定セラレタ菌，又石炭酸固定菌ハ0.5% 石炭酸加食鹽水中ニ同ジク1cc 50mgノ割ニ5日間固定セラレタモノデ何レモ食鹽水ニテ2回洗滌後使用シタ。血清ハちふすHO血清No. 1及No. 7並ビニちふすO血清ノ3種ヲ用ヒタ。先ヅ1cc 300mgノ菌浮游液ヲ作り更ニ之ヲ適當ニ稀釋シテ1cc中200mg, 100mg, 50mg, 20mg, 10mg及5mgヲ含ム様ナ菌液ヲ作り此等菌液2ccト20倍稀釋血清各2ccトヲ混ジル。即チ40倍稀釋血清1cc中ニ2.5mgヨリ150mgニ至ル種々ノ量ノ菌ヲ含有スル事トナル。此等ヲ37°C 2時間後室溫ニ1夜放置シタ後4ccノ食鹽水ニテ3回洗滌スル。次デ4ccノ蒸溜水ヲ加ヘテ56°C 30分加溫シ凝集素ヲ分離セシムル。分離操作ハスベテ5回行ツタ。

第7表 抗元ノ量の差違ニヨル凝集素ノ結合及分離比較
(其ノ5, 生菌トO血清)

抗 體 別		吸 收 後 ノ 上 清					分 離 液												K
							第 1 回				第 2 回				第 3 回		總分離率 (%)		
稀釋度	80	160	320	640	結 合 率	160	320	640	分 離 率	160	320	640	分 離 率	160	320				
吸收量																			
40倍血清	2.5mg	++	+	±	-	7/8	++	+	-	2/7	+	-		1/7	-	43	-		
1cc中																			
"	5	++	+	-		7/8	++	+	-	2/7	+	+	-	2/7	-	57	-		
"	10	+	-			15/16	++	+	-	4/15	+	+	-	4/15	-	53	-		
"	25	-				1	±	-			++	+	-	1/4	-	25	-		

80 160 320 640 1280 2560 5120 K

原血清 { 生菌 ++ ++ ++ + + - -
 百菌 +++ ++ ++ ++ ± - -

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-)，凝集元ハ百度菌。

實驗成績、第3表～第7表＝其等ノ成績ヲ示シタガ尙本實驗＝於テハ各々＝就テ結合率及分離率ヲ算出シ更＝各回ノ分離率ノ總和（總分離率）ヲ百分率デ示シテ分離狀況ヲ比較シテ見タ。結合率及分離率ノ算出法ハ次ノ式＝ヨツタ。

$$\text{結合率} = 1 - \frac{\text{吸收後上清ノ凝集價}}{\text{原血清凝集價}}$$

$$\text{分離率} = \frac{\text{分離液凝集價}}{\text{原血清凝集價} \times \text{結合率}}$$

第3表及第4表ハ生菌ヲ用ヒタ場合デアツテ何レモ大體＝於テH凝集素ハ菌量2.5～25mg, O凝集素ハ2.5～10mgノ場合＝於テ第1回分離液＝高價ナモノヲ得テ居リ分離率モ大デアル。殊＝菌量5mg（結合率H $\frac{7}{8}$, O $\frac{15}{16}$ ）ノ場合ガH, O兩凝集素トモ最も良好ノ様デアル。50mg以上ノ場合ハ菌量大トナル程第1回＝ハ殆ド分離セラレズ第2回, 第3回等＝至ツテ漸次分離セラレテ來ル様＝ナル。之ハ甚ダ注目スベキ事デアツテ唯1回ノミノ分離試験ヲ行フ場合＝モン大量ノ菌ヲ用フレバ全く分離不可能ト云フ結果ヲ齎ス事トナルモノデアル。尙コノ事ハH, O兩凝集素＝共通デアル。即チ血清中ノ凝集素ヲ全部吸収シ盡クシテシマフ程ノ大量ノ菌ヲ用ヒルト却ツテ分離ヲ困難ナラシメルモノデ、少量ノ菌＝過剰ノ凝集素ガ結合シテ居ル場合モ唯1回ノ分離操作＝ヨリ容易＝其等ノ凝集素ガ遊離状態ニナツテ來ルモノト考ヘラレル。然シ大量ノ菌ヲ用ヒタ場合デアツテモ數回蒸溜水中デ加温スル事＝ヨリ強固＝結合ンテ居タ凝集素モ次第＝不安定トナツテ分離セラルル＝至ルモノデアル。從テ總分離率ヨリ見レ時ハ大量ノ菌ヲ用ヒタ場合デモ他＝比シ左程不良デハナイノデアル。次＝はるまりん固定菌ヲ用ヒタ場合（第5表）モ大體2.5～25mgノ時ガ良好デアツテH凝集素ニアツテハ菌量10mg（結合率 $\frac{7}{8}$ ）, O凝集素ニテハ5mg（結合率 $\frac{15}{16}$ ）ノ場合＝第1回分離液凝集價最高デアル。又石炭酸固定菌ヲ用ヒタ場合（第6表）ハH凝集素ニテハ菌量25mg（結合率 $\frac{15}{16}$ ）O凝集素ニテハ5～10mg（結合率 $\frac{15}{16}$ ～ $\frac{31}{32}$ ）ノ場合ヲ最良トシテ居ル。最適菌量ガ生菌ノ場合ヨリモ増加シテ居ルノハ消毒藥處置ニヨツテ菌ノ結合力が低下シタ爲デアツテ凝集素結合率カラ見レバ何レノ場合モ大體 $\frac{7}{8}$ ～ $\frac{15}{16}$ デアル。即チ分離＝最適ノ菌量ハ菌ノ凝集素結合力＝關係ヲ有スルモノデ血清中ノ凝集素ノ約 $\frac{7}{8}$ ～ $\frac{15}{16}$ ヲ吸收スル程度ノ量デアル。消毒藥固定陳舊菌ニテモソノ凝集素結合力ノ低下ヲ考慮シテ菌量過少トナラナイ様＝其ノ最適量ヲ用フレバ凝集素分離用吸收抗元トシテ毫モ差支ヘナイモノデアル。第7表ハ生菌ニテO血清ヲ吸收シタ場合即チO凝集素ノミノ分離試験デアルガコノ場合モヤハリ同様デアツテ2.5～10mg（結合率 $\frac{7}{8}$ ～ $\frac{15}{16}$ ）ヲ用ヒタ時ガ良好デアル。

上記諸實驗ハ何レモ洗滌液ヲ食鹽水トシ分離めちうむヲ蒸溜水トシタノデアツテ、從テ分離液中＝ハ或程度ノ食鹽ガ含マレテ居ル事ハ當然デアル。而シテソノ食鹽含有量ハ菌量ノ多少ニヨリ左右セラレルモノデ大量ノ菌ヲ用ヒタ場合ハ少量ノ菌ノ場合＝比シテ大デアル。コ

ノ事ガ或ハ分離＝關係スルノデハナイカト考ヘ（然シコレハ菌量過少ノ場合＝却ツテ分離不良トナツタ例カラ推シテ否定セラレ得ルノデアアルガ）洗滌液，分離めぢうむ共ニ食鹽水ヲ用ヒテ實驗ヲ行ツテ見タ，使用抗元ハ石炭酸固定菌（5日間），使用血清ハHO血清 No. 7 デアツテ實驗方法ハ分離めぢうむヲ蒸溜水ノ代リニ食鹽水トシタノミデ他ハスベテ前同様デアアル。

結果ハ第8表ニ示ンタ如ク蒸溜水ヲ用ヒタ場合ト大體同様ノ成績ヲ得テ居リ，5～25mgノ菌ヲ用ヒタ時ガ良好デアツテ殊ニH凝集素デハ25mg（結合率 $1\frac{5}{16}$ ），O凝集素デハ5～10mg（結合率 $1\frac{5}{16}$ ～ $3\frac{1}{32}$ ）ノ時ガ最良デアアル。尙一般ニ蒸溜水ノ場合ニ比シテ分離不良デアアル。

以上諸實驗ニヨリ凝集素分離試験ニ際シテハ凝集素ヲ結合セシムベキ抗元ノ量ガ非常ニ重大ナ影響ヲ與ヘルモノデアツテ過少デアツテモ又過大デアツテモ良ロシカラズ，大體ニ於テ血清中ヨリ $\frac{1}{8}$ ～ $1\frac{5}{16}$ 内外ノ凝集素ヲ吸收スル程度ノ菌量ガ最適當デアルト考ヘラレル，尙茲ニ定メタ最適菌量ハ第1回分離液ニ最モ優良ナモノヲ得ル事ヲ目的トシタ場合ノモノデアツテ必ズシモ分離率ヲ最大ニシヤウガ爲ノモノデハナイ。然シ各表ヲ通覽スルニコノ最適菌量ヲ用ヒタ場合ハ大體ニ於テ第1回分離率最大デアリ更ニ總分離率モ大デアツテ略々一致スル様ニ思ハレル。コノ様ニ分離ニ際シテ重大ナ關係ヲ有スル吸收菌量ニ對シテ從來餘リ重キヲ置カナカツタト云フ事ガ既往ノ分離試験ニ關スル諸成績不一致ノ重要ナ原因ノ一ツデハナイカト考ヘルモノデアアル。

第2節 血清稀釋度及稀釋めぢうむ

第1項 血清稀釋度

抗元ニ凝集素ヲ結合セシムル場合ノ血清稀釋度ニ就テハ諸家各々任意ニ選定シテ居リ特別ノ注意ガ拂ハレテ居ル様ニハ思ヘナイ。筆者ハ比較的濃厚ナ血清ヲ用ヒタ場合ト更ニ之ヲ稀釋シテ用ヒタ場合トノ兩者ニ於テ差違ガ存スルノデハナイカト考ヘ10倍，20倍及40倍稀釋ノ3種ニ就テ比較實驗ヲ試ミタ。

實驗方法，實驗1. ちふすHO血清 No. 1ヲ5倍，10倍及20倍ニ稀釋シ次ノ如ク生菌ヲ加ヘタ。即チ各管何レモ原血清0.1ccニ對シ20mgノ菌ヲ加ヘタ事トナル。

5倍稀釋血清 1cc+1cc 中 40mg 含有菌液 1cc

10倍稀釋血清 2cc+1cc 中 20mg 含有菌液 2cc

20倍稀釋血清 4cc+1cc 中 10mg 含有菌液 4cc

此等ヲ37℃ニ2時間室溫ニ1夜放置シタ後各4ccノ食鹽水ニテ3回洗滌シ，次デ各々ニ8ccノ蒸溜水ヲ加ヘ56℃30分加溫シテ凝集素ヲ分離セシムル。即チ吸收時ノ血清稀釋度ハ相異ルガ分離液ノ稀釋度及分離液中ノ菌濃度ヲ相等シクセンメタモノデアアル。

實驗2. 吸收菌量ヲ實驗1ノ場合ノ半量即チ原血清0.1ccニ對シ10mgトシ且ツ各管ノ液量

ヲ同一ニシタ。使用血清ハ同ジク No. 1 血清デアル。

5倍稀釋血清 2cc + 1cc 中 20mg 含有菌液 2cc

10倍稀釋血清 2cc + 1cc 中 10mg 含有菌液 2cc

20倍稀釋血清 2cc + 1cc 中 5mg 含有菌液 2cc

37°C = 2時間室温 = 1夜放置後 4cc ノ食鹽水ニテ 3回洗滌シ次デ各々 = 4cc ノ蒸溜水ヲ加ヘテ 56°C 30分加温シテ分離スル。即チ吸收時、分離時共ニ液量ハ相等シイガ稀釋度ヲ異ニシ且ツ分離液中ノ菌濃度モ亦相異ルモノデアル。

實驗 3. No. 7 血清ヲ用ヒテ原血清 0.1cc = 對シ吸收菌量 20mg ノ割トシ實驗 2 ト同様ナ事ヲ行ツタ。

實驗成績。第 9 表ニ一括シテ示シタ。凝集素結合試驗ハ何レモ殆ド同様デアルガ、分離試驗ニ於テハ實驗 1 デハ殆ド差違ヲ認メナイノニ反シ實驗 2 及 3 デハ 40 倍血清感作ノ場合稍々良好デアル様ニ思ハレル、之ハ分離液中ノ菌濃度ガ 1 = 於テハ何レモ相等シカツタノニ對シ、2 及 3 = 於テハ 40 倍血清感作ノ場合ノ菌濃度最小トナツタ爲デハナイカト考ヘラレル。即チ凝集素分離ニ對シテハ吸收時ノ血清稀釋度ハ殆ド關係ナク寧ロ分離液中ノ菌濃度ガ影響ヲ與ヘルモノノ様デアル。之ニ就テハ後章ニ於テ尙詳細ニ檢討ヲ加ヘル事トシタ。

第 2 項 血清稀釋めちうむ

感作ノ際ノ血清ハ食鹽水ニテ稀釋スルノガ普通デアルガ蒸溜水ニテ稀釋ヲ行ツタナラバ如何デアラウカラ實驗シテ見タ、

實驗方法。3 本ノ試験管ヲトリ、A) 及 B) ニハ蒸溜水ニテ、C) ニハ食鹽水ニテ 40 倍ニ稀釋シタ血清 (HO 血清 No. 7) ヲ 4cc 宛トリ、各々ニ生菌 20mg 宛加ヘ平等ノ浮游液トナシ 37°C = 2時間後室温 = 1夜放置スル。次デ A) 及 B) ハ 4cc ノ蒸溜水ニテ C) ハ 4cc ノ食鹽水ニテ何レモ 3 回洗滌シテ後 A) 及 C) ニハ蒸溜水、B) ニハ食鹽水ヲ何レモ 4cc 宛加ヘテ 56°C 30分加温シテ分離スル。

實驗成績。第 10 表ニ示シタ様ニ 3 者殆ド同成績デアル。注意スベキ事ハ蒸溜水洗滌液中ニ凝集素ノ存スル事ト、食鹽水中ニテノ分離ガ蒸溜水分離ト殆ド同等ノ成績ヲ得タ事デアル。尙 A) 及 B) ニ於テハ洗滌中菌ガ粘稠トナリ操作ニ不便ヲ來シタ點ガ少クナク、從テ分離成績ハ良好デアツテモ實際上ハ推奨スベキ方法トハ考ヘラレナイ。

血清ニ就テハ上記ノ他尙血清ノ種類又免疫血清作製ノ際ノ抗元注射回數ノ多少 (牧野⁽³⁹⁾) 等モ考慮ヲ要スル問題デアルガ茲ニハ省略スル事トシ、前章記載ノ様ニ抗元ヲ 4 回注射スル事ニヨツテ得タ家兔免疫血清ノミヲ使用シタ、

第 9 表 吸収時ノ血清稀釋度ノ分離ニ及ボス影響

抗 體 別	吸 收 後 ノ 上 清			第 1 回 分 離 液						第 2 回 分 離 液					
	稀 釋 度	80	160	320	640	1280	2560	5120	40	80	160	320	640	1280	K
實驗 管別	吸收時ノ 血清稀釋度														
1	10 倍	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+		-
	20 "	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+		-
	40 "	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+		-
2	10 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-
	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-
	40 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-
3	10 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-
	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-
	40 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-

(註) 凝集元ハ生菌, 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-)

第 10 表 蒸溜水ニテ血清稀釋ヲ行ツタ場合

抗 體 別	吸 收 後 ノ 上 清			洗 滌 液						分 離 液						K
	稀 釋 度	80	160	320	640	80	160	320	640	80	160	320	640	1280	2560	
試管 驗別	血清稀釋 めらうむ															
A	蒸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
C	食	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

(註) 蒸ハ蒸溜水, 食ハ食鹽水, 洗滌液A, Bハ蒸溜水, Cハ食鹽水, 凝集元ハ生菌。

第 3 節 感作温度及時間

從來感作温度及時間ハ殆ドスベテノ人々ガ 37°C 2～3 時間ヲ用ヒテキル。但シ其後室温ニ 1 夜放置スルカ否カハ區々デアル。筆者ハ上記實驗ニ於テハスベテ 37°C 2 時間後更ニ室温ニ 1 夜放置シタ後洗滌操作ニカカツタガ果シテ温度又ハ時間ノ差違ガ分離試験ニ關係ヲ有スルモノデアルカラ檢討シテ見タ。

實驗方法。5 本ノ試験管ニ 40 倍稀釋血清 (HO 血清 No. 7) 4cc 宛ヲトリ 各々ニ生菌 20mg 宛ヲ加ヘ第 11 表ニ記載シタ様ナ種々ノ温度及時間デ感作スル。次デ 4cc ノ食鹽水ニテ 3 回洗滌シタ後同量ノ蒸溜水中ニテ 56°C 30 分加溫シテ分離スル。

實驗成績。第 11 表ニ見ル如ク凝集素吸收ノ點カラハ何レモ殆ド同成績デアルガ、分離試験ニ於テハ E) ガ稍々劣ツテ居リ又 O 凝集素ニ就テ見ルト長時間感作シタ場合ノ方ガ良好ノ様デアル。即チ凝集素分離試験ノ際ノ感作ハ常法ノ如ク 37°C ニ 2 時間後室温ニ 1 夜放置スルカ又ハ 37°C ニ 20 時間放置スルノガ最も良好デアルト考ヘラレル。

4 節 本章ノ小括

1) 抗元トシテ生菌、 56°C 加熱菌、ほるまりん、石炭酸及昇汞固定菌並ビニ菌侵出濾液等ヲ用ヒタガ何レノ場合ニモ凝集素ハ容易ニ分離セラレ其等ノ間ニ著明ナ差違ヲ見出ダシ得ナイ。又 100°C 加熱菌ニテ吸收スル事ニヨリ O 凝集素ノミヲ純粹ニ分離セシメ得タ。

2) ほるまりん、石炭酸及昇汞固定菌ノ凝集素結合力及分離能ハ時日ノ經過ト共ニ漸次減退シテ行クガ 3 ヶ月後ニモ尙相當ノ能力ヲ有シテキル。

3) 凝集素分離ニ對シテ重大ナ關係ヲ有スルノハ吸收菌量デアツテ原血清中ヨリ $\frac{1}{8}$ ～ $\frac{1}{16}$ 内外ノ凝集素ヲ吸收スル程度ノ菌量ガ最適デアル。而シテコノ最適量ヲ用ヒタ場合ハ第 1 回分離操作ニ於テ多量ノ凝集素ガ分離セラルルニ反シ吸收菌量過大ノ場合ハ第 1 回ニハ殆ド分離セラレズ、第 2 回又ハ第 3 回ニ至リ漸次分離セラルルモノデアル。コノ關係ハ H 凝集素、O 凝集素何レニモ共通デアル。

4) 感作ノ際ノ血清稀釋度ハ殆ド關係ヲ有シナイ。

5) 感作ノ際蒸溜水ニテ血清ヲ稀釋シテモ食鹽水稀釋ノ場合ト大差ナイ。

6) 感作温度及時間ハ常法ノ如ク 37°C ニ 2 時間後室温ニ 1 夜放置スルカ又ハ 37°C ニ 20 時間放置スルノガ最も良好デアル。

第 4 章 洗滌ニ關シテ

上述ノ實驗ニ於テハ殆ド常ニ食鹽水ニテ 3 回洗滌スルノヲ原則トシテ來タ。從來諸家ノ採

第 11 表 感作温度及時間ノ影響

抗 體 別		吸 收 後 ノ 上 清										第 1 回 分 離 液					第 2 回 分 離 液					K
試管 驗別	感作溫度及時間	稀釋度		80	160	320	640	1280	2560	5120	160	320	640	1280	2560	5120	160	320	640	1280		
		凝集元	生 百																			
A	37℃ 2 時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
B	37℃ 2時間後 室溫 18 時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
C	37℃ 20時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
D	56℃ 2 時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
E	56℃ 2時間後 室溫 18 時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-), 原血清凝集價ハ第4表參照

リ來ツタ方法モ大部分ハ之ト同様
デ時ニ最終回ノミ蒸溜水ニテ洗滌
シテ居ル場合モアル。抑々洗滌ノ
目的ハ云フマデモナク不用血清成
分ノ除去ニアルノデアツテ、洗滌
ニヨツテ凝集素ヲ害シタリ又結合
凝集素ヲ逸出セシムル様ナ事ノ無
イ様注意スベキハ勿論、更ニ又分
離液中ニ可及ノ大量ノ凝集素ヲ遊
離セシメ得ル様ナ方法ヲ選ブ事ヲ
理想トスル。不用血清成分ノ除去
ニハ可及ノ大量ノ液ヲ以テ可及ノ
多數回洗滌ヲ行ヘバ良イノデアル
ガ徒ラニ量ヤ回数ヲ多クスル事ハ
操作ノ繁雜ヲ來シ、且ツ凝集素分
離ニ對スル影響ヲモ顧慮スル必要
ガアル。仍ツテ此等ノ點ニ關シテ
検討スベク種々ノ條件ノ下ニ洗滌
ヲ行ヒ各洗液ノ凝集反應及蛋白反
應ヲ檢シ又分離ニ對スル影響ヲ檢
シテ見タ。

第 1 節 洗滌液ノ凝 集反應及蛋白反應

第 1 項 食鹽水ノミ ニヨル洗滌

感作菌ヲ食鹽水ノミニテ數回洗
滌シ各洗液ノ凝集反應及蛋白反應

ヲ檢スルニ當ツテ考ヘラレル事ハ感作ノ際、血清稀釋度、洗滌液ト血清トノ量ノ關係或ハ洗
滌液中ノ菌濃度等ニヨツテ同一洗滌液ヲ用ヒタ場合デモ異ツタ成績ヲ得ルノデハナカラウカ
ト云フ事デアル。此等ノ事ヲ確メル爲ニ次ノ實驗ヲ行ツタ。

實驗方法。血清 (HO血清 No. 7) ヲ 10 倍、20 倍及 40 倍ノ 3 種ニ稀釋シ此等稀釋血清 1cc ニ

對シ 5~50mg ノ種々ノ量ノ菌ヲ加ヘテ 37°C 2 時間室温 1 夜放置後此等ノ血清ト同量又ハ倍量ノ食鹽水ニテ 3 回洗滌シ各回ノ洗滌液ニ就テ反應ヲ檢シタ。

實驗成績、第12表ニ示シタ如ク 40 倍稀釋血清ヲ用ヒタ場合ハ菌量ノ多少ニ關係ナク同量ノ

第 12 表 洗滌液ノ凝集反應及蛋白反應 (其ノ 1, 食鹽水ノミニヨル洗滌)

感作時ノ血清 稀釋度及容量	洗滌液量	洗滌液 1cc 中ノ菌量	第 1 回 洗 液				第 2 回 洗 液				第 3 回 洗 液				K
			20	40	80	S	20	40	80	S	20	40	80	S	
			5mg												
			4cc												
40 倍	4cc	5mg													
"	"	10													
"	"	25													
"	"	50													
"	"	5													
20	"	10													
"	"	10													
"	"	20													
"	"	5													
"	"	10													
"	"	8													
"	"	"													

(註) 洗滌液稀釋度ハ比較シ易イ様ニ特ニ血清稀釋度ニ相當スル數ヲ以テ表シタ。
凝集元ハ生菌ノミ、Sハするほざりちめる酸試驗 (以後之ニ準ズル)

食鹽水ニテ洗滌スル事ニヨリ第 1 回洗滌液カラ既ニ凝集反應、蛋白反應共ニ陰性デアル。20 倍稀釋ノ場合ハ同量ノ食鹽水ニテ洗滌シテ第 1 回ニ於テ稍々反應ヲ呈スルガ第 3 回目ニハ完全ニ陰性トナル。然ルニ 10 倍稀釋ノ場合ハ同量ノ食鹽水ニテ洗滌スルト第 3 回洗滌液ニモ尙多少ノ凝集素ヲ認メ得ルガモシ之ヲ倍量ノ食鹽水ニテ洗滌スレバ稍々速ニ消失セシメ得ル様デアル。即チ洗滌ハ血清稀釋度ガ 20 倍以上デアル場合ハ血清量ト同量ノ食鹽水ニテ 3 回洗滌スレバ充分デアリ、又血清ガ 20 倍ヨリモ濃厚ノ場合ハ之ヨリモ多量 (ソノ量ハ少クモ血清ヲ 20 倍稀釋ニ換算シタ時ノ量) ノ食鹽水ニテ洗滌スル事ヲ要スルモノデアル。尙此等洗滌液中ノ凝集素ハ血清ノ濃厚ナ場合ニ表レ又洗滌回数ヲ重ネルニ從ヒ減少スル事カラ見テ明ニ抗原ト結合シ得ナカツタ殘餘凝集素ト考ヘラレル。

第 2 項 蒸溜水ノミ又ハ食鹽水ト蒸溜水混用ニヨル洗滌

蒸溜水ノミニテ洗滌シタ場合、又蒸溜水ト食鹽水ヲ混用シタ場合ニ就テ各洗滌液ノ反應ヲ

檢シテ見タ。

實驗方法。3本ノ試験管=40倍稀釋血清(HO血清 No. 7) 各4ccヲトリ各々ニ生菌20mg宛ヲ加ヘ37°C 2時間室温1夜放置後、A)ハ3回共蒸溜水ニテ、B)ハ第1回ノミヲ食鹽水、C)ハ第3回ノミヲ蒸溜水ニテ洗滌シタ。液量ハ何レモ4ccデアル。蒸溜水ニテ洗滌シタ場合ハ洗滌液=同量ノ1.7%食鹽水ヲ加ヘテ等張トナシタ後倍數稀釋ヲ行ヒ各稀釋液1ccニ對シ濃厚ナ菌液ヲ1滴落シテ凝集反應ヲ檢シタ。

第13表 洗滌液ノ凝集反應及蛋白反應
(其ノ2, 蒸溜水ノノミ, 又ハ食鹽水ト蒸溜水混用ニヨル洗滌)

試管 類別	洗滌液種類				第 1 回 洗 液					第 2 回 洗 液					第 3 回 洗 液					K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
	第 1 回		第 2 回		第 3 回		80	160	320	640	S	80	160	320	640	S	80	160	320		640	1280	S																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 1 回	第 2 回	第 3 回																		第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 1 回	第 2 回	第 3 回																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
A	蒸	蒸	蒸	蒸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(註) 蒸ハ蒸溜水, 食ハ0.85%食鹽水ヲ示ス。凝集元ハ生菌ノミ (第14及15表モ同様)

實驗成績。第13表ニ見ル如ク蛋白反應ハ何レノ場合モ陰性デアルガ蒸溜水ヲ以テ洗滌シタ場合ハ每常多少共凝集素ノ存在ヲ見, 且ツ蒸溜水洗滌ノ回數ヲ重ネルニ從テ凝集價ハ上昇シテ來ル。

尙本實驗ヲ數回繰返シテ居ル間ニ氣附イタ事デアルガ蒸溜水洗滌液ノ凝集價ハ每常必ズシモ相等シクナイノデアル。最初ハ稍々奇異ニ感ジテ居タノデアルガ其後分離溫度ニ關スル實驗ヲ行ツタ結果コノ差ハ恐ラク溫度ノ差ニ歸因スルモノデアラウト推定セラルルニ至ツタ。仍テ春夏秋冬ノ各季節ニ於テ室温ヲ測定シタ上第3回目ノミヲ蒸溜水ニテ洗滌シタノ凝集價ヲ檢シタ所, 第14表ニ見ル如キ成績ヲ得タ。即チ冬期ニ於テハ凝集價低ク夏期ニ於テハ高イ。此ノ事及ビ第1回, 第2回ノ食鹽水洗滌液ガ陰性デアル事カラ見テ蒸溜水洗滌液中ニ表レル凝集素ハ明ニ抗原ト結合シタモノガ蒸溜水めちうむ中ニ遊離シテ來タモノデアルト考ヘラレルノデアル。從テ食鹽水洗滌ト蒸溜水洗滌トヲ比較スル場合, 後者ハ洗滌中凝集素ヲ逸出セシムルト云フ點ニ於テ前者ヨリ劣ルモノデアルト言ヒ得レ。

第2節 洗滌方法ト凝集素分離トノ關係

前節ニ於テ蒸溜水ニテ洗滌スレバ結合凝集素ノ一部ガ分離セラルル事ヲ示シ蒸溜水洗滌ハ食鹽水洗滌ニ比シ劣ルモノデアルトシタノデアルガ, 又一方分離めちうむヲ蒸溜水トスル場合ニハ洗滌ヲ蒸溜水ニテ行ツタ方ガ食鹽水洗滌ニ比シテ分離めちうむ中ノ食鹽濃度小トナリ從テ分離成績良好トナルノデハナイカト考ヘラレル。仍テ如何ナル洗滌方

第 14 表 洗滌液ノ凝集反應及蛋白反應（其ノ3，溫度ノ及ボス影響）

室 溫	洗 滌 液 種 類			第 1 回 洗 液			第 2 回 洗 液			第 3 回 洗 液						K
	第 1 回	第 2 回	第 3 回	80	160	S	80	160	S	80	160	320	640	1280	S	
10°C内外	食	食	蒸	-	-	-	-	-	-	+	-				-	-
20°C内外	//	//	//	-	-	-	-	-	-	+	+	-			-	-
25°C内外	//	//	//	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-
30°C内外	//	//	//	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-

法ガ凝集素分離ニ對シ最モ良好デアルカラ比較檢討セントシ前節ニ示シタ種々ノ方法デ洗滌シタ後分離試験ヲ行ツテ見タ。

實驗方法。40倍稀釋血清（HO血清 No. 7）20ccニ生菌100mgヲ加ヘ之ヲ5cc宛 A, B, C, Dニ4等分シ37°C2時間室温1夜放置スル。次デ各5ccノ食鹽水又ハ蒸溜水ニテ15表ニ記載シタ如キ方法デ洗滌ヲ行ツタ後5ccノ蒸溜水中ニテ56°C30分加溫シテ分離スル。

實驗成績。第15表ニ見ル如ク食鹽水ノミヲ以テ、或ハ第3回ノミヲ蒸溜水ニテ洗滌シタ場合ガ良好デ、蒸溜水洗滌ノ回数ヲ増ス程不良デアル。之ハ蒸溜水ニテ洗滌スレバ結合凝集素ヲ一部逸出セシメソノ回数増加スルニ從テ逸出量モ大トナリ、從テ分離液凝集價ヲ小ナラシムルモノト考ヘラレル。且ツ蒸溜水ニテ數回洗滌スル時ハ菌ハ次第ニ粘稠トナリ操作ヲ不便ナラシムル欠點ガアル。而シテ食鹽水洗滌ノ場合分離めちうむ中ニ移行スル食鹽量ガ分離ニ對シ殆ド影響ヲ與ヘナイ事ハ實驗ノ示ス如クデアル。從テ洗滌ハ3回共食鹽水ニテ行ツテ毫モ差支ヘナイノミナラズ、寧ロ分離成績ヲ良好ナラシメ且ツ操作ニ便利デアルト云フ點ニ於テ食鹽水3回洗滌ヲ推奨スルモノデアル。

第 3 節 本 章 ノ 小 括

1) 洗滌ハ感作時ノ血清稀釋度、洗滌液量及菌量等ニ關係スルモノデ、感作ノ際血清稀釋度20倍以上ノ場合ハ血清ト同量ノ食鹽水ニテ3回洗滌スレバ充分デアリ、又血清ガソレヨリ濃厚ノ場合ニハヨリ大量ノ食鹽水ニテ洗滌スル事ヲ要スル。

2) 蒸溜水ニテ洗滌ヲ行フ時ハ結合凝集素ノ一部逸出スルヲ見ル。而シテソノ量ハ室温ニヨリ左右セラレル。

3) 凝集素分離成績ヨリ見レバ3回共食鹽水又ハ第3回目ノミヲ蒸溜水ニテ洗滌スルノガ最モ良好デアツテ蒸溜水ニテ2回以上洗滌スル事ハ惡影響ヲ及ボス。

第 5 章 凝集素分離ノ際ノ諸要約ニ就テ

前2章ニ於テ感作抗原ヨリ凝集素ヲ分離スルニ當ツテハ專ラ蒸溜水中56°C30分加溫スル方

第15表 洗滌方法ノ凝集素分離ニ及ボス影響

試験 管別	洗 滌 方 法			第1回洗液			第2回洗液			第3回洗液			分 離 液					K
	I	II	III	80	160	320	640	80	160	320	640	80	160	320	640	1280	2560	
				食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	
A	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	+
B	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	+
C	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	+
D	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	食	+

(註) 原血清凝集素ハ第4表参照。
 80 160 320 640 1280 2560 K
 吸收後ノ上清

法ヲ用ヒテ來タ。然シナガラ分離方法ニ關シテハ前述ノ如ク種々ノ方法ガ報告セラレテ居リ而モ其等諸家ノ成績必ズシモ一様デナイ。因ツテ筆者ハ分離ニ際シ影響ヲ與ヘルベキ諸要約ヲ次ノ4項目ニ分チ、前2章ニ於テ最適トサレタ感作法及洗滌法ヲ用ヒテ此等個々ノ項目ニ就キ詳細ニ檢討スルト共ニ其等相互ノ關係ヲ追究シ、如何ナル方法ガ最も優良デアルカヲ提示スルベク諸種ノ實驗ヲ行ツタノデアル。

第1節 分離めちうむ

感作抗原ヨリ抗体ヲ分離スルニ當ツテ分離めちうむガ非常ニ重大ナ影響ヲ與ヘルモノデアル事ハ諸家ノ齊シク認メル所デアツテ從來最モ意ノ注ガレテ來タ點デアル。從テ實驗ニ用ヒラレタめちうむノ種類モ數十種ヲ數ヘ得ル程デアルガ、其等ノ内最モ多數ノ人ニヨツテ試ミラレタノハ蒸溜水デアツテ而モ其等ノ殆ドスベテノ人ガ陽性成績ヲ得テ居ル。然ルニ0.85%食鹽水ニアツテハ之ヲ推奨スル者ノアル一方分離不可能ナリトスル者モアリ、ソノ成績一致シテキナイ。

前2章ノ實驗ニ於テハ大部分ハ蒸溜水めちうむ、一部食鹽水めちうむヲ用ヒ何レニ於テモ分離可能ナ事ヲ示シタノデアルガ更ニ其他ノ種々ノめちうむヲ用ヒテ比較試驗ヲ行ツテ見タ。

實驗方法。生菌20mgニ40倍血清(HO血清No. 7)4ccヲ加ヘ37°C2時間室温1夜放置後4ccノ食鹽水デ3回洗滌スル。次デ第16表ニ記載シタ種々ノ液ヲ4cc加ヘ56°C30分加温シタ後遠心沈澱スル。分離操作ハスベテ2回行ツタガN/100 NaOH水ノミハ第1回分離後

菌ガ非常ニ粘稠トナリ、第2回分離操作ヲ行ヒ得ナクナツタノデ1回デ止メタ。兩分離液ニ就テ凝集反應及蛋白反應ヲ檢シタノデアルガ食鹽ヲ含マナイ液及低張食鹽水ニハスベテ0.85%ニナル如ク食鹽ヲ加ヘタ後ニ、又N/100 HCl水ハN/100 NaOH水デ中和シタ後ニ凝集反應ヲ行ツタ。N/100 NaOH水ニアツテハ之ヲN/100 HCl水デ中和スルト白濁ヲ生ズルノ

第 16 表 種々ノめちうむ中ニ於ケル分離

分 離 液		第 1 回							第 2 回					K
めちうむノ種類	稀釋度 凝集元	160	320	640	1280	2560	5120	S	160	320	640	1280	S	
蒸 溜 水	生百	++	++	++	+	±	-	±	++	+	+	-	-	-
	生百	++	++	+	±	-		±	++	+	+	-	-	-
0.85% 食鹽水	生百	++	+	+	-			-	++	+	-		-	-
	生百	++	+	+	-			-	++	+	-		-	-
8.5% 食鹽水	生百	++	+	+	-			-	+	-			-	-
	生百	++	+	±	-			-	+	-			-	-
0.2% 食鹽水	生百	++	++	+	+	-		-	+	-			-	-
	生百	++	++	+	-			-	+	-			-	-
0.085% 食鹽水	生百	++	++	+	+	-		-	+	-			-	-
	生百	++	++	+	-			-	+	-			-	-
0.9% KCl	生百	++	+	-				-	+	-			-	-
	生百	++	+	-				-	+	-			-	-
1.5% NaNO ₃	生百	++	+	+	-			-	++	+	-		-	-
	生百	+	+	-				-	+	±	-		-	-
3.1% MgSO ₄	生百	++	+	+	-			-	++	+	-		-	-
	生百	+	-					-	+	-			-	-
M/100 Na ₂ CO ₃	生百	++	++	++	+	+	-	+	+	-			±	-
	生百	++	+	+	-			+	+	-			±	-
M/100 Na ₂ CO ₃ 加 食 鹽 水	生百	++	++	++	+	+	-	±	+	+	-		±	-
	生百	++	++	+	-			-	+	-			-	-
0.5% 石炭酸 加 食 鹽 水	生百	++	++	+	-			-	+	-			-	-
	生百	++	++	+	-			-	+	-			-	-
2% ぐりここーる 加 食 鹽 水	生百	++	+	+	-			-	+	-			-	-
	生百	++	+	±	-			-	+	-			-	-
10% 蔗糖溶液	生百	++	++	+	+	-		-	++	+	-		-	-
	生百	++	+	+	±	-		-	+	+	-		-	-
5.6% 葡萄糖溶液	生百	++	++	+	+	-		-	++	+	-		-	-
	生百	++	++	+	-			-	++	+	-		-	-
N/100 NaOH 水	生百	++	++	++	++	+	-	++						-
	生百	++	++	+	±	-		++						-
N/100 HCl 水	生百	++	+	+	-			+	+	-			-	-
	生百	-						+	-				-	-

	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	K
原血清	{生百+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
	{百+++	+++	++	++	+	+	-			-
吸收後ノ上清	{生百+++	++	++	+	+	-				
	{百+++	+	-							

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-)

デ中和セズ唯等張トシタノミデ反應ヲ檢シタ。

實驗成績. 一括シテ第16表ニ示シタ. 第1回分離液ノ凝集價ノミニ就テ比較スレバ M/100 Na_2CO_3 水, M/100 Na_2CO_3 加食鹽水及 N/100 NaOH 水ガ最高價ヲ示シ, 次ニ蒸溜水, 低張食鹽水, 蔗糖溶液及葡萄糖溶液デアル (H, O兩凝集素共ニ). 然シ NaOH 水分離ハ上述ノ如ク菌ヲ非常ニ粘稠トナン爲ニ操作ヲ不便ナラシムル欠點アリ更ニ蛋白反應ノ他ニ比シテ著明デアル事カラ最適デアルトハ考ヘラレナイ. 從テ M/100 Na_2CO_3 水, M/100 Na_2CO_3 加食鹽水, 蒸溜水, 低張食鹽水, 蔗糖溶液及葡萄糖溶液ヲ最モ優良ナめちうむトスルモノデアアル. 殊ニ蒸溜水ハ最モ簡單ナめちうむデアルカラ實際上ニハ使用ニ最モ便デアルガ唯食鹽水糖溶液等ニ比シ極ク輕度ノ蛋白反應ヲ呈スル事ヲ欠點トスル. 尙 0.85% 食鹽水及種々ノ鹽溶液ヲめちうむトシタ場合モ凝集素ハ分離セラレ得ルガ蒸溜水, 糖溶液等ニ比シテソノ凝集價ガ低イ. 之ハ鹽溶液ニアツテハ凝集素分離ヲ起サシメル因子ハ唯加溫ノミデアアルノニ對シ, 後者ニアツテハ加溫ノ他ニ無鹽デアル事或ハ滲透壓ヲ異ニスル事等ガ分離促進因子トナル爲デアラウト考ヘラレル.

本實驗ニヨリ凝集素分離ニ對シテハあるかり性めちうむガ優良デアル如ク考ヘラレタノデ次ニめちうむノ pHヲ一定ニシテ分離比較試驗ヲ行ツテ見タ. 即チ第1實驗トシテ KH_2PO_4 —NaOH 緩衝液 pH 6.0, 7.0 及 8.0 ノ3種ノ液ヲ蒸溜水ニテ夫々10倍ニ稀釋シ (稀釋スルモ pHハ殆ド變化シナイ) 本液中ニ於テ前實驗ト全ク同様ニ感作, 洗滌ヲ行ツタ菌ニ就テ分離試驗ヲ行ツタ. 第2實驗トシテ常時用ヒテ居タ室内保存ノ蒸溜水及食鹽水ノ pHヲ測定シタ所何レモ pH 6.0 デアツタノデ (比色法ニヨリ測定) 此等ニ N/100 NaOH 水ヲ滴下シ丁度 pH 9.0 トナシ, 本液ト修正シナイ 6.0 ノ液ノ兩者ヲ用ヒテ分離比較試驗ヲ行ツタ. 實驗方法ハスベテ前實驗ト全ク同様デアル.

實驗成績ハ一括シテ第17表ニ示シタ. 表ニ見ル如ク緩衝液ヲ用ヒタ場合, NaOH ニヨツテ修正シタ場合, 何レニ於テモ pH ノ異ル事ニヨツテ分離成績ニ差違ヲ認メルト云フ事ガナイ. 即チ pH 6.0~9.0 ノ間ニ於テハ分離ニ對スル pH ノ影響ハ全ク認メ難イ. 從テ分離めちうむトシテ通常ノ蒸溜水又ハ食鹽水ヲ用フル場合 pHニ就テハ何等考慮シナクテモ差支ヘナイノデアアル.

第 17 表 めちうむノ pH ガ分離ニ及ボノ影響

分 離 液		第 1 回						第 2 回					K
めちうむノ種類及 H	凝集元	160	320	640	1280	2560	5120	160	320	640	1280	2560	
		稀釋度											
KH ₂ PO ₄ -NaOH 緩衝液 6.0	生	++	++	+	+	±	-	++	+	+	+	-	-
	百	+	+	+	+	-		++	+	+	-		-
" 7.0	生	++	++	++	+	±	-	++	+	+	+	-	-
	百	++	+	+	+	-		++	+	+	±	-	-
" 8.0	生	++	++	++	+	±	-	++	+	+	+	-	-
	百	++	+	+	+	-		++	+	+	-		-
蒸 溜 水 6.0	生	++	++	++	+	±	-	++	+	+	+	-	-
	百	++	+	+	+	-		++	+	+	±	-	-
" 9.0	生	++	++	++	+	±	-	++	+	+	+	-	-
	百	++	+	+	+	-		++	+	+	-		-
0.85% 食 鹽 水 6.0	生	++	++	+	±	-		++	+	-			-
	百	++	++	+	-			++	+	-			-
" 9.0	生	++	++	+	±	-		+	+	-			-
	百	++	++	+	-			+	±	-			-

8) 160 320 640 1280 2560 K

吸収後ノ上清 { 生 ++ ++ ++ + + - -
百 ++ + - - - -

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-). 原血清凝集價ハ第16表参照

第 2 節 分 離 温 度

分離試験ノ際ニめちうむニ次デ重要視サレテ來タノハ分離溫度デアル。而シテ從來多クノ諸家ニヨリ最適ト認メラレテ來タノハ56°C~60°Cデアツテ其他少數ノ人々ニヨリ37°C, 42°C或ハ65°C等ガ用ヒラレテ居ル。Ogata⁽¹³⁾ハ大腸菌凝集素ノ分離試験ニ於テ10%蔗糖液(N/100ニナル如ク NaOHヲ添加シタモノ)中ニテハ37°C~55°Cノ間デハ著明ノ差ナク大體42°C~45°Cガ最適デアルトシ、三輪⁽²¹⁾、新宮⁽³⁷⁾等ハ蒸溜水ニテノちふす菌凝集素分離試験ニ於テ56°Cヲ至適溫度トシテ居ル。又須之内⁽²⁵⁾ハ食鹽水中ニテ65°Cニ加温スレバ蒸溜水又ハ蔗糖液中ニテ58°Cニ加温スル場合ト殆ド同等ノ成績ヲ得レト報ジテ居ル。即チめちうむガ異レバ分離至適溫度モ亦異ルモノノ様デアル。然ラバH凝集素トO凝集素ニヨツテ分離溫度ハ異ラナイデアラウカ。コノ點ニ關シテハ囊ニ新宮⁽³⁸⁾ガちふす菌ノ鞭毛ト菌體ニ就テ行ツタ以外殆ド報告セラレテキナイ。仍ツテ筆者ハめちうむトシテ最も簡單ナ蒸溜水及食鹽水ヲ用ヒ、凝集素ヲHトOトニ嚴密ニ分ケテ種々ノ溫度ノ下ニ分離試験ヲ行ツテ見タ。

實驗 1. H, O兩凝集素ノ分離. ちふす菌ヲ0.5%ほるまりん加食鹽水中ニ1cc, 50mgノ割ニ浮游シ3日間經過後食鹽水ニテ2回洗滌シタモノヲ抗元トスル. 即チコノ場合ハH, O兩抗元ヲ有スル. 40倍稀釋血清1ccニ對シ5mgノ割ニ菌ヲ加ヘ37°C2時間室温1夜放置後食鹽水ニテ3回洗滌スル. 次デ血清ト同量ノ蒸溜水ヲ加ヘテ第18表ニ記載シタ種々ノ溫度ノ下ニ30分間加溫スル. 遠心沈澱シテソノ上清ニ就キ凝集反應及蛋白反應ヲ檢スル.

第 18 表 種々ノ溫度ニ於ケル分離 (其ノ1, ほるまりん固
定菌ヲ抗元トシタ場合)

分 離 液		第 1 回							第 2 回					K
溫 度	稀釋度	160	320	640	1280	2560	S	160	320	640	1280	S		
	凝集元													
5℃	生	-					-	-				-	-	
	百	-					+	-				-	-	
15℃	生	-					-	-				-	-	
	百	-					+	-				-	-	
25℃	生	+	+	-			-	++	+	-		-	-	
	百	+	+	-			±	++	+	-		-	-	
37℃	生	++	+	+	-		±	++	+	-		-	-	
	百	++	+	+	-		±	++	+	-		-	-	
45℃	生	++	+	+	-		±	++	+	-		-	-	
	百	++	+	+	-		±	++	+	-		-	-	
56℃	生	++	++	+	+	-	±	++	+	±	-	-	-	
	百	++	++	+	±	-	±	++	+	±	-	-	-	
60℃	生	++	+	+	±	-	+	+	+	-		-	-	
	百	++	+	+	-		+	+	+	-		-	-	
70℃	生	+	-				+	-				-	-	
	百	+	-				+	-				-	-	
75℃	生	-					+	-				-	-	
	百	-					+	-				-	-	

80 160 320 640 1280 2560 5120 K

吸收後ノ上清 { 生 ++ ++ ++ + + ± - -
百 ++ + ± - - - - -

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-). 原血清凝集價ハ第16表參照

實驗 2. O凝集素ノ分離. ちふす菌ヲ食鹽水ニ1cc 20mgノ割ニ浮游シ100°C1時間加熱後食鹽水ニテ1回洗滌シタモノヲ抗元トスル. 即チH抗元ハ破壊セラレテO抗元ノミヲ有スルモノデアル. 20倍血清1ccニ對シ10mgノ割ニ抗元ヲ加ヘ前同様感作洗滌シタ後蒸溜水中ニテ種々ノ溫度ノ下ニ分離試験ヲ行フ.

第 19 表 種々ノ溫度ニ於ケル分離 (其ノ 2, 100°C 加熱菌ヲ抗元トシタ場合)

分 離 液		第 1 回						第 2 回						K
溫 度	稀釋度	80	160	320	640	1280	S	80	160	320	640	S		
	凝集元													
5℃	生 百	+	-	-			-	-	±	-		-	-	
15℃	生 百	+	-	±	-		-	-	+	-		-	-	
25℃	生 百	+	+	-			±	-	+	-		-	-	
37℃	生 百	+	+	-			±	-	+	-		-	-	
45℃	生 百	+	+	-			+	-	+	±	-	-	-	
56℃	生 百	±	±	+	±	-	+	-				-	-	
60℃	生 百	±	+	+	-		+	-				-	-	
70℃	生 百	+	±	-			+	-				-	-	
75℃	生 百	-					+	-				-	-	

	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	K
吸収後ノ上清	生 百	卅 十	卅 一	卅	卅	十	十	十	一	一

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-). 原血清凝集價ハ第16表参照

以上3實驗ニ用ヒタ血清ハ何レモHO血清 No. 7 デアル。此等ノ成績ヲ第18表～第20表ニ示シタ。各表ニ見ル如ク蒸溜水中ニテ分離スル場合最適ノ温度ハH₂O兩凝集素共ニ56℃～

第20表 種々ノ溫度ニ於ケル分離 (其ノ3, みゆんへん菌)
ヲ抗原トシタ場合

分離液		第 1 回								第 2 回								K
溫度	稀釋度 凝集元	80	160	320	640	1280	2560	5120	S	80	160	320	640	1280	2560	5120	S	
5°C	T	+	+	-					-	+	-						-	-
	M	++	++	±	-					++	++	+	-					-
15°C	T	+	+	-					-	+	-						-	-
	M	++	++	+	-					++	++	+	-					-
25°C	T	+	+	+	-				±	+	+	-					-	-
	M	++	++	+	+	-			±	++	++	+	+	-				-
37°C	T	++	+	+	-				±	+	+	+	-				-	-
	M	++	++	++	+	+	-		±	++	++	++	++	+	-			-
45°C	T	++	++	+	+	-			±	++	+	+	-				-	-
	M	++	++	++	+	+	+	-	±	++	++	++	++	+	-			-
56°C	T	++	++	++	+	+	-		+	++	++	++	+	+	-	±	-	-
	M	++	++	++	++	+	+	±	+	++	++	++	++	+	+	±	-	-
60°C	T	++	++	++	+	+	-		+	+	+	+	-				-	-
	M	++	++	++	++	+	+	-	+	++	++	+	+	±	-		-	-
70°C	T	++	++	++	+	±	-		+	+	-						-	-
	M	++	++	++	++	+	+	-	+	++	+	+	-				-	-
75°C	T	±	-						+	-							-	-
	M	++	++	++	++	++	+	-	+	+	+	±	-				-	-
80°C	T	-							+	-							-	-
	M	-							+	-							-	-

		80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	50960	K
原 血 清	T	++	++	++	++	++	++	++	+	+	-	-
	M	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-
吸收後ノ上清	T	++	++	++	++	+	-					-
	M	++	++	++	++	+	-					-

(註) Tハちふす菌寒天培養生菌, Mハみゆんへん菌ぶいよん培養.

第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-)

60°Cデアル。即チ凝集素ヲ異ニスルコトニヨツテ分離至適溫度ヲ異ニシナイ事が分レ。而シテ5°Cノ低溫ニ於テモ兩凝集素共幾分ナリトモ分離セラレル事ハ注目スベキ事デアツテ前章ニ於テ蒸溜水洗滌ノ場合凝集素ノ逸出ヲ見タノハ本實驗ニヨリ當然ノ事デアルト考ヘラレルモノデアル。70°C以上ノ高溫ニ於テ漸次分離液凝集價低減スルノハ凝集素ガ熱ノ爲破壊セラレルニ基ヅクモノデ、H凝集素ガO凝集素ニ比シヨリ高溫ニ於テマデ分離セラレルノハ前者

一ノ後者=比シ熱抵抗性ノ大ナルヲ示スモノデアル。尙蛋白反應ハ低温ヨリ高温トナル=從テ陽性トナツテ來ル。

茲=凝集元=就テ注目スベキハ O凝集素分離液=於テ生菌ガ 100°C加熱菌ヨリモ低イ凝集價ヲ示ス事ト、H凝集反應=於テ *S. muenchen* ぶいよん培養菌ガちふす菌寒天培養生菌ヨリモ高イ凝集價ヲ示ス事ノ2點デアル。前者ハ三木ちふす菌ガ Vi 抗原ヲ有スル事=ヨリ了解シ得ベク、後者ハぶいよん培養菌ガ特ニ鞭毛ノ發育良好ノ爲微量ノ凝集素ノ存在=於テモヨク凝集セラルル爲ト考ヘラレル。

實驗 4. 蒸溜水及 0.85% 食鹽水中ニテノ分離比較試驗。40 倍稀釋血清 (HO 血清 No. 7) 1 cc = 對シ生菌 5mg ノ割ニ加ヘ 37°C 2 時間室温 1 夜放置後同量ノ食鹽水ニテ 3 回洗滌スル。分離試験=當ツテハ試験管ヲ 2 組=分チ 1 組=ハ蒸溜水ヲ、他=ハ 0.85% 食鹽水ヲ各々血清ト同量宛加ヘ第 21 表ニ記載シタ種々ノ溫度=30 分間加溫シテ遠心沈澱スル。凝集反應檢査=際シテハ特ニ H 及 O 凝集素ノ分離狀況ヲ見ルタメ=寒天培養ノちふす生菌及 100°C 30 分加熱菌ノ他=ちふす菌及 *S. muenchen* 特異相集落ヲぶいよん=5 時間培養後 0.5% ノ割ニ=はるまりんヲ加ヘ殺菌シタモノノ 4 種ヲ凝集元トシテ用ヒタ。

成績ハ第 21 表ニ示シタ如ク蒸溜水分離ニアツテハ 56°C~65°C ノ間デハ殆ド差違ヲ認メ難イガ食鹽水分離ノ場合ハ 65°C ヲ最適トスル。而シテ 56°C 加溫ノ場合=ハ食鹽水ハ蒸溜水=比シソノ分離成績劣ツテ居タノデアルガ、65°C =加溫スレバ兩者ノ間=毫モ優劣ノ差存シナイ事ガ明ニナツタ。コノ關係ハ H、O 兩凝集素共ニ全ク同一デアル。即チめちうむヲ異ニスル事ニヨリ分離至適溫度モ亦異ルモノデアル。尙食鹽水分離液ニアツテハ何レモ蛋白反應陰性デアル。且ツ食鹽水ハ蒸溜水ト共ニ日常使用スルモノデ最モ簡單ナめちうむデアルカラ食鹽水中 65°C 分離法ハ最モ推奨スルニ足ル方法ト云フベキデアル。

第 21 表 種々ノ溫度ニ於ケル分離 (其ノ 4, 蒸溜水めちうむト食鹽水めちうむノ比較)

溫度	稀釋度 凝集元	蒸 溜 水								食 鹽 水								K
		160	320	640	1280	2560	5120	10240	S	160	320	640	1280	2560	5120	10240	S	
45°C	T (寒)	++	++	+	+	-				++	+	+	-					-
	T (ぶ)	+++	++	++	++	+	+	-		++	++	+	-					-
	T (百)	++	++	+	-				±	++	+	+	-				-	-
	M (ぶ)	+++	++	++	+	+	-			++	+	-						-
56°C	T (寒)	++	++	++	+	±	-			++	++	+	±	-				-
	T (ぶ)	+++	++	++	++	+	+	-		++	++	++	+	+	-			-
	T (百)	++	++	+	±	-			±	++	++	+	-				-	-
	M (ぶ)	+++	++	++	++	+	+	-		++	++	++	+	±	-			-

め　ち　う　む		蒸　　　溜　　　水								食　　　鹽　　　水								K
温度	凝集元	160	320	640	1280	2560	5120	10240	S	160	320	640	1280	2560	5120	10240	S	
	稀釋度																	
60℃	T（寒）	+	+	+	+	±	-	-	±	+	+	+	±	-	-	-	-	-
	T（ふ）	++	++	+	+	+	+	-		++	++	+	+	+	±	-	-	-
	T（百）	+	+	+	+	-	-	-		+	+	+	±	-	-	-	-	-
	M（ふ）	++	++	+	+	+	+	-		++	++	+	+	+	-	-	-	-
65℃	T（寒）	+	+	+	+	±	-	-	±	+	+	+	+	±	-	-	-	-
	T（ふ）	++	++	+	+	+	+	-		++	++	+	+	+	+	+	-	-
	T（百）	+	+	+	+	-	-	-		+	+	+	+	-	-	-	-	-
	M（ふ）	++	++	+	+	+	+	-		++	++	+	+	+	+	+	-	-
70℃	T（寒）	+	+	+	+	±	-	-	±	+	+	+	+	±	-	-	-	-
	T（ふ）	++	++	+	+	+	+	-		++	++	+	+	+	+	+	-	-
	T（百）	+	+	+	±	-	-	-		+	+	+	±	-	-	-	-	-
	M（ふ）	++	+	+	+	+	+	-		++	++	+	+	+	+	+	-	-

		80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	50960	101920	K
原 血 清	T (寒)	++	++	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-
	T (ぶ)	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	-	-
	T (百)	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-
	M (ぶ)	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-
吸收後ノ上清	T (寒)	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	T (ぶ)	++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-
	T (百)	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	M (ぶ)	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(註) T(寒) ハチふす菌寒天培養生菌, T(ぶ) ハチふす菌ぶいよん培養, T(百) ハチふす
100°C加熱菌, M(ぶ) ハミゆんへん菌ぶいよん培養. 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-)

第3節 加 温 時 間

前回迄ノ實驗ニ於テハ分離ニ當ツテ30分間加温スルヲ常トシテ來タ。從來ノ報告ニ於テモソノ大部分ハ30分又ハ1時間加温ヲ行ツテ居ル。余ハ蒸溜水ト食鹽水トノ二者ニ就テソノ加温時間ヲ3種ニ分ケテ分離試験ヲ行ツテ見タ。

實驗方法. 抗原トシテ生菌及ほるまりん固定菌(0.5%ほるまりん食鹽水=1cc 50mgノ割ニ浮游, 3日後食鹽水ニテ2回洗滌シタモノ)ヲ用ヒ, 40倍稀釋血清(HO血清No. 7)1ccニ對シ5mgノ割ニ加ヘル。感作及洗滌法ハスベテ前實驗ト同様。洗滌後分離めちうむトシテ蒸溜水又ハ食鹽水ヲ加ヘ前實驗ニ於テ最適トサレタ溫度即チ蒸溜水ニアツテハ56°C, 食鹽水ニアツテハ65°Cニテ15分, 30分及1時間加温シタ後直チニ遠心沈澱スル。第2回分離試験モ第1回ト同ジ溫度ニ同ジ時間ダケ加温スル。

實驗成績. 第22表ニ見ル如ク蒸溜水, 食鹽水何レニアツテモ加温時間15分デ既ニ30分加温

ノ場合ト同様ニ成績ヲ得ル事ガ分ル。1時間加温スルモ好影響ヲ與ヘズ，寧ロ第2回分離液ニ於テ1時間加温ノ場合何レモ凝集價低イ事ヨリ推シテ長時間加温ハ却ツテ有害ナリト考ヘラレル。即チ凝集素分離ノ際ノ加温時間ハ至適温度ニ於テハ15分～30分間デ充分デアル。

第 22 表 分離ニ及ボス時間ノ影響

分 離 液			第 1 回							第 2 回				K
實驗別	分離溫度及 時	稀釋度	160	320	640	1280	2560	5120	160	320	640	1280		
		凝集元												
A （生蒸菌溜水中ニテ吸收後分）	56℃ 15分	生百	++	++	++	+	±	-	++	+	+	-	-	
	〃 30分	生百	++	++	++	+	±	-	++	+	+	-	-	
	〃 60分	生百	++	++	++	+	±	-	++	+	±	-	-	
B （菌溜水中ニテ吸收後分蒸溜水ニテ固定）	56℃ 15分	生百	++	+	+	±	-		+	+	-		-	
	〃 30分	生百	++	+	+	±	-		+	+	-		-	
	〃 60分	生百	++	+	+	-			+	-			-	
C （生食菌溜水中ニテ吸收後分）	65℃ 15分	生百	++	++	+	+	-		+	-			-	
	〃 30分	生百	++	++	+	+	-		+	-			-	
	〃 60分	生百	++	++	+	+	-		±	-			-	

		80	160	320	640	1280	2560	5120	K
吸收後ノ上清	A {生	++	++	++	+	+	±	-	-
	百	+	+	-					
	B {生	++	++	++	+	+	+	-	-
C {生	百	++	++	±	-				-
	百	++	++	++	+	+	-		-
	百	++	++	++	+	+	-		-

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(-). 原血清凝集價ハ第16表参照

第 4 節 分離液ノ菌濃度ニ就テ

感作菌ヨリ凝集素ヲ分離スルニ當ツテ如上ノめぢうむ，温度及加温時間ノ他ニ更ニ考ヘラレル事ハ分離液中ニ感作菌ガ大量含マレテ居ル場合ト少量ノ場合トニヨツテ即チ分離液中ノ

菌濃度ノ差違ニヨツテ上記3條件ヲ一定ニシテモ分離成績ガ異ツテ來ルノデハナイカト云フ事デアル。從來ノ報告ハコノ點ニ關シテハ殆ド觸レテ居ナイ。曩ニ余ハ第3章ニ於テコノ事ニ就テ一言述ベル所ガアツタガ本節ニ於テ尙詳細ニ檢討スル事トシタ。

第3章第1節第1項抗原ノ量ニ關スル實驗ニ於テモ各分離液中ノ菌濃度ハ異ツテ居タノデアルガ、コノ場合ハ感作ノ際ニ於ケル抗原ト凝集素ノ量ノ關係モ亦互ニ異ナツテキルノデ置

ニ分離液中ノ菌濃度ノミノ影響ヲ見ル事ハ出來ナイ。故ニ本節ニ於テハ感作法及洗滌法ヲスベテ同一トシ唯分離液中ノ菌濃度ノミヲ異ナラシメテ實驗ヲ行ツタ。而シテコノ場合考ヘラレル事ハ一定量ノ感作菌ニ對シテ種々ノ量ノ分離液ヲ加ヘル場合ト一定量ノ分離液中ニ種々ノ量ノ感作菌ヲ含マシメル場合トノ二通りノ場合ガアル事デアル。實驗1ハ前者ノ場合ヲ、實驗2ハ後者ノ場合ニ就キ行ツタ。

實驗 1. 20倍稀釋血清 16cc = 生菌160mgヲ加へ均等ニナシテ 後 4cc 宛 = 四等分シ 37°C 2時間 室溫 1夜放置後 4cc ノ食鹽水 = テ 3回洗滌スル。次デ各沈渣 = 16cc, 8cc, 4cc 及 2cc ノ蒸溜水 ヲ加へ均等ノ液トナシテ 後 56°C = 30分間加溫スル。即チ各試験 管中ノ全菌量ハスベテ同一デア ルガ全液量ハ相違シテ居リ從テ、 分離液各 1cc 中ノ菌量モ亦相異 ルモノデ最小 2.5mg, 最大 20mg トナツテ居ル。分離液ノ原血清

第23表 分離液菌濃度ノ分離ニ及ボス影響
(其ノ1, 菌量ヲ一定ニシテ液量ヲ異ナラシメタ場合)

・ 分 離 液			實驗別	I (A. 1 血清使用)					II (A. 7 血清使用)					K	
全液量	全量量	1cc中 稀釋度 ノ菌量	稀釋度 ノ菌量	凝集元		稀釋度		80	160	320	640	1280	2560		5120
				生	百	生	百								
16cc	40mg	2.5mg	80倍			+	+	-		+	+	+	+	-	-
8	"	5	40			+	+	-		+	+	+	+	-	-
4	"	10	20			+	+	-		+	+	+	+	-	-
2	"	20	10			+	+	-		+	+	+	+	-	-
吸收 後 ノ 上 清						+	+	-		+	+	+	+	+	-

(註) 第3回沈滌液ハ何レモ第1管(-), 原血清凝集價ハNo. 1血清ハ第3表, No. 7血清ハ第16表参照

ニ對スル稀釋度ノ異ツテ來ルノハ云フマデモナイ。

第23表 = No. 1 血清及 No. 7 血清 = 就テ行ツタ成績ヲ示シタ。表ヲ見ル = 菌濃度 1cc 中 2.5 mg ト 5mg ノ場合トデハ大差ナイガ 10mg 及 20mg ノ場合ハ稍々不良ノ様デアル。即チ大體 = 於テ分離液中ノ菌濃度小ナル程分離成績良好デアルト見テ差支ヘ無イ様デアル。

第 24 表 分離液菌濃度ノ分離ニ及ボス影響(其ノ 2, 液量ヲ一定ニシメテ異ナシメタ場合)

試管 類別	分 離 液				實驗別		I (生菌ニテ吸収)								II (はるまりん固定菌ニテ吸収)								K
	全液量	全菌量	1cc中 菌量ノ 濃度	稀釋度	稀釋度		80	160	320	640	1280	2560	5120	80	160	320	640	1280	2560	5120			
					凝集元	稀釋度																	
A	4cc	10mg	2.5mg	80倍	生 百				++	++	++	++	+	-		+	+	+	+	-	-		
B	"	20	5	40	生 百		++	++	++	++	++	+	-		++	++	++	++	+	+	-	-	
C	"	40	10	20	生 百	++	++	+	++	+	++	+	-	++	++	++	++	+	+	-	-		
D	"	80	20	10	生 百	++	++	+	++	+	++	+	-	++	++	++	+	-			-	-	
吸 收 後 ノ 上 清					生 百	++	++	++	++	+	+	-		++	++	++	+	+	+	+	-	-	

(註) 第3回洗滌液ハ何レモ第1管(一)原血清濃集價ハ第16表参照

實驗 2. 實驗 1 = 於テハ液量
小ナルモノハ 2cc, 大ナルモノ
ハ 16cc デアツテ液量ノミノ差ガ
或ハ關係スルノデハナイカト考
ヘ, 本實驗 = 於テハ液量ヲ一定
ニシテ其ノ中ニ含マレル菌量ヲ
異ラシメタ。血清ト No. 7 血清,
抗元ハ生菌及はるまりん固定菌
(2 日間固定後食鹽水 = テ 2 回洗
滌スル) ヲ用ヒタ。20 倍稀釋血
清 15cc = 菌 150mg ヲ加ヘ均等ト
ナシタ後 37°C 2 時間室温 1 夜放
置スル。同量ノ食鹽水 = テ 3 回
洗滌シタ後 7.5cc 蒸溜水ヲ加ヘ
均等ナ液トスル。コノ内 4cc ヲ
他ノ試験管ニ移シ之ヲ D トシ殘
液 3.5cc = 蒸溜水 3.5cc ヲ加ヘヨ
ク混ジタ後ソノ 4cc ヲ再ビ他ニ
移シ C トスル。殘液 3cc = 更ニ
3cc ノ蒸溜水ヲ加ヘヨク混ジタ
後ソノ 4cc ヲ他ニ移シ B トシ, 殘
液 2cc = 蒸溜水 2cc ヲ加ヘ之ヲ
A トスル。即チ各管共全液量ハ
スベテ 4cc デ同一デアルガ其ノ
中ニ含マレル全菌量ハ相異ルモ
ノデ A) 10mg, B) 20mg, C)
40mg, D) 80mg デアル。從テ

分離液 1cc 中ノ適量ハ實驗 1 ト同様デ第24表記載ノ如クナル。各管ヲ 56°C 30 分加温シテ分離

セシメル。

實驗成績ハ第24表ニ示シタ。本實驗ノ示ス所モ前實驗ノ成績ト略々同様デ、大體ニ於テ菌量小ナル程分離成績良好デアツテ單ニ液量ノ差ノミデハナイ事ガ分ル。即チ菌量ヲ一定ニシテ液量ヲ異ナラシメタ場合デモ、液量ヲ一定ニシテ菌量ヲ異ナラシメタ場合デモ何レニ於テモ分離液中ノ菌濃度小ナル程分離成績良好デアル。然シナガラ分離試験ノ際ニ用ヒル菌量ハ第3章第1節第2項ノ實驗ニヨツテソノ血清ニ對スル最適菌量ガ大體定メラレルモノデアルカラ實際ニハ分離液量ノミヲ可及の大ニセシムレバ良イ事トナル。然シ之モ餘リニ大ニスレバ分離液ノ原血清ニ對スル稀釋度モ亦從テ大トナリ、不都合トナルノデアルガ、兩實驗成績ヲ見ルノニ1cc 2.5mgノ場合ト1cc 5mgノ場合トデハソノ分離成績ニ殆ド優劣ヲ見出ダン得ナイ。從テ分離液中ノ菌濃度ハ大體ニ於テ1cc 5mg程度ヲ最適ト考ヘテ差支ヘナイ様デアル。

第5節 本章ノ小括

1) 感作菌ヨリ凝集素ヲ分離セシムル際ノ分離めぢうむトシテハ56°C30分加溫ノ場合ニハ蒸留水、低張食鹽水、10%蔗糖溶液、5.6%葡萄糖溶液、M/100炭酸曹達水及M/100炭酸曹達加食鹽水等ガ最も良好デアツテ其等ノ間ニハ格段ノ差違ヲ認メ難イ。

2) 分離ニ當ツテめぢうむノpHハ6.0~9.0ニ於テハ殆ド影響ヲ與ヘナイ。

3) 分離ニ最適ノ溫度ハ分離めぢうむヲ異ニスル事ニヨリテ又異ルモノデアツテ、蒸留水めぢうむノ場合ハ56°C~60°C、食鹽水めぢうむノ場合ハ65°Cガ最適デアル。而シテコノ事ハH及O凝集素ノ兩者ニ對シテ共通デアル。

4) 加溫時間ハ至適溫度ニ於テ15分~30分間デ充分デアル。

5) 分離液中ノ菌濃度小ナル程分離成績良好デアル。而シテ最適ノ菌濃度ハ1cc中5mg内外ト考ヘラレル。

第6章 總括並ニ考察

感作抗原ヨリ凝集素ヲ分離スルニ當ツテ如何ナル要約ガ最も重要デアルカ、如何ナル方法ガ最も優良ナ分離法デアルカニ就テちふす菌凝集素ニ就キ系統的ニ詳細ニ檢討シテ來タ。茲ニ其ノ成績ヲ總括シ若干ノ考察ヲ加ヘテ見ル事トスル。

1) 凝集素結合ノ際ノ諸要約ニ就テ

先ヅ凝集素ヲ結合セシムベキ抗原トシテ生菌、56°C加熱菌、各種消毒藥固定菌及菌侵出濾液等ヲ用ヒテ分離試験ヲ行ヒ抗原質の差違ニヨル影響ヲ見タノデアルガ、其等ノ成績ハ大同小異デ各々ノ間ニ著明ナ差違ヲ見出ダン得ナカツタ。次ニ種々ノ量ノ菌ヲ以テ凝集素ヲ吸收シ分離試験ヲ行ツタ所大量ノ菌ヲ用ヒタ場合ハ第1回分離液中ニハ凝集素ヲ殆ド見出ダン得

ズ、菌が比較的少量ノ場合ニ分離成績良好デアル。即チ抗原ニ關シテハ質ヨリモ量ノ方ガ重要デアツテ比較的少量ノ抗原ニ過剰ノ凝集素ガ結合シテ居ル場合ニ此等過剰凝集素ガ容易ニ分離セラレルモノデアル。然シ抗原ガ餘リニ少量ニ過ギル時ハ結合凝集素モ亦少量トナリ從テ分離凝集素量モ小トナル。因テ茲ニ大ニ過ギズ又小ニ過ギナイ菌量ヲ必要トスルノデアルガ實驗ノ結果ニヨレバ大體原血清中ヨリ7%~1%内外ノ凝集素ヲ吸收スル程度ノ菌量が最適デアル。コノ場合ハ唯1回ノ分離操作ニヨリ結合凝集素ノ殆ド大部分ガ分離セラレルノデアルガ、大量ノ菌ヲ用ヒタ場合ハ之ニ反シ分離操作ヲ2回或ハ3回ト反覆スル事ニヨツテ漸次分離セラレテ來ルモノデアル。牧野⁽³³⁾ハ動物ニ抗原ヲ少數回注射スル事ニヨツテ得タ血清ト多數回注射ニヨツテ得タ血清トノ間ニハソノ凝集素結合力ニ差アル事ヲ凝集素分離試験ニ於テ示シテキル。即チ前者ニ於テハ第1回分離操作ニヨリ多量ノ凝集素ガ分離セラレ以後回ヲ重ネルニ從ヒ減少スルニ反シ、後者ニ於テハ第1回ヨリモ寧ロ第2回ニ於テ多量ニ分離セラレルト。コノ事ハ丁度余ノ實驗シタ抗原量ノ問題ト類似ノ關係ニアルモノデ、抗原量大ナル時ハ抗原抗体ノ結合強ク第1回操作ニ於テハ殆ド分離セラレナイノデアル。然ルニ強固デアツタ結合モ1回ノ操作ニヨリ稍々不安定トナリ更ニ同様ナ操作ヲ繰返ス事ニヨリ終ニ凝集素ノ分離ヲ見ルモノデ、續イテ3回、4回ト漸次結合凝集素ノ大部分ヲ分離スルニ至ルモノデアル。以上ノ關係ハH凝集素、O凝集素何レニ對シテモ共通ノ現象デアツテ特ニ兩者ノ間ニ差違ヲ認メ得ナイ。

ほるまりん石炭酸及昇汞固定菌ニアツテハ時日ノ經過ト共ニソノ吸收能力幾分減退スルガ、稍々大量ノ菌ヲ用フレバ相當ノ時日ヲ經ルモノ分離用抗原トシテ毫モ差支ヘナイモノデアル。新宮⁽³⁷⁾ハ種々ノ濃度ノほるまりん中ニ菌ヲ固定シ1日~7日ニ亘ル期間ニ於テ分離試験ヲ行ヒ、0.5~2.0%ニテ1日~3日間處置スルヲ適當トスルト報告シテ居リ筆者ノ成績ト一致シナイ點モ存スルノデアルガ、之ハ主ニ菌量ノ關係ニヨルモノデハナカト考ヘラレル。此等消毒藥固定菌ハ常ニ食鹽水ニテ洗滌シタ後用ヒテキタノデアルガ偶々石炭酸固定菌ヲ洗滌ヲ行ハナイデ用ヒタ事ガアツタ。然シコノ場合モ洗滌シタ場合ト何等差違ヲ認メ得ナカツタ。血清凝集素ハほるまりんニヨツテハ比較的容易ニ害セラレルガ石炭酸ニヨツテハ害セラレ難イ事ヨリ石炭酸固定菌ノ場合ハ特ニ洗滌ヲ行ハナクテモ差支ヘナイモノト考ヘラレル。コノ事及ビ生菌ヨリモ死菌ヲ用ヒル方ガ操作ニ安全デアル事更ニ菌侵出液ハソノ作製ニ手數ヲ要スル等ノ事ヨリ、抗原トシテハ石炭酸固定菌ヲ用ヒルノガ最モ好都合デアルト考ヘルモノデアル。

凝集素結合ノ際ノ其他ノ要約ニ就テハ特ニ重要ナ影響ヲ及ボスモノハナカツタ。血清稀釋ハ食鹽水ニテ20倍~40倍トスルノガ良ク又感作溫度及時間ハ常法ノ如ク37°C 2時間後室温ニ

1 夜放置スルヲ適當トスル。

2) 洗 滌 = 就 テ

洗滌ノ目的ハ前述シタ如ク血清殘餘成分ノ除去ニアルノデアツテ感作ノ際ノ血清稀釋度或ハ菌量ノ差違等ニヨツテソノ洗滌方法モ異ツテ來ルモノデアル。又洗滌ノ際結合凝集素ヲ逸出セシメタリ、或ハ分離ニ對シテ惡影響ヲ及ボス様ナ方法ハ避ケナケレバナラナイ。此等ノ點ニ關シテ種々檢討ヲ加ヘタ結果ニヨルト血清殘餘成分除去ノタメニハ感作時血清稀釋度ガ20~40倍ノ時ニハ同量ノ洗滌液ニテ3回洗滌スレバ充分デアル。而シテ蒸溜水ニテ洗滌スル時ハ結合凝集素ノ一部逸出スルモノデ從テ蒸溜水洗滌ハ適當デアルトハ言ヘナイ。又最終回洗滌ヲ食鹽水ニテ行ツタガ爲ニ殘存スル微量ノ食鹽ハ分離ニ對シ殆ド影響ヲ及ボサナイモノデアル。從テ洗滌ハ3回共食鹽水ニテ行フノガ最良ト考ヘラレル。然シ最終回ノミヲ蒸溜水ニテ洗滌シタ場合ハタトヒ一部凝集素ハ逸出スルモノ食鹽水3回洗滌ノ場合ト分離成績ニ於テハ殆ド差違ヲ認メ難イ。因テ特ニ食鹽含有ヲ避ケル場合ニハ最終回洗滌ノミヲ蒸溜水ニテ行ヘバ良イ。

尙蒸溜水洗滌ノ際ニ逸出スル凝集素量ハ室溫ニヨリ左右セラレルモノデアツテ、コノ事ハ蒸溜水中ニテ凝集素ヲ分離セシムル場合比較的低溫ニ於テモ分離可能デアアルガ更ニ溫度ノ上昇ト共ニ分離率増大スル事カラ考ヘテ當然ノ事デアル。コノ事カラ凝集素分離ハ感作菌ヲ單ニ蒸溜水中ニ浮游スル事ノミニヨツテモ行ハレ得ルモノデアル事ガ分ル。

3) 凝集素分離ノ際ノ諸要約ニ就テ。

分離ノ際ノ諸要約中第1ニ考ヘラレルノハ分離めぢうむデアツテ從來諸家ノ最モ意ヲ注イダ點デアル。筆者ハ蒸溜水、食鹽水、糖溶液其他種々ノ溶液ヲ用ヒテ分離比較試驗ヲ行ツタノデアアルガ、ソノ成績ニヨレバ蒸溜水、低張食鹽水、10%蔗糖溶液、5.6%葡萄糖溶液、M/100炭酸曹達水及M/100炭酸曹達加食鹽水等ガ優良ナめぢうむデアツタ。然ルニ之ハ56°C加溫ノ場合デアツテ更ニ種々ノ溫度ノ下ニ蒸溜水ト食鹽水トニ就テ比較實驗ヲ行ツタ所、食鹽水ノ場合ハ65°Cニ加溫スレバ蒸溜水中ニテ56°C加溫ノ場合ト同等ノ成績ヲ得ルモノデアル事ガ明ニナツタ。尙洗滌ノ項ニ於テモ述ベタ如ク蒸溜水中ニテハ室溫或ハソレ以下ノ溫度ニ於テモ尙且ツ分離セラレルモノデアル。此等ノ事ニヨツテ凝集素分離現象ハめぢうむガ單ニ蒸溜水又ハ糖溶液ノ如キ無鹽ノ液デアル事ニヨツテモ起ルト共ニ、又唯加溫スル事ニヨツテモ起ルモノデアル事ガ分ル。滲透壓モ亦或程度ノ關係ヲ有シテ居ル様デハアルガ重大ナ影響ヲ與ヘルモノトハ思ハレナイ。蒸溜水又ハ糖溶液ノ場合ニハめぢうむガ無鹽デアル事ト加溫トノ2ツノ因子ガ作用スルタメニ56°Cニ加溫スレバ充分デアリ、モハヤソレ以上ニ加溫シテモヨリ以上ノ成績ヲ得ナイノニ反シ、食鹽水ノ場合ニハ唯加溫ノミガ分離發現因子トナル爲

凝集素破壊ニマデ至ラナイ最高温度即チ 65°C 迄ノ加温ニ於テハ温度ニ比例シテ分離度増大シ 65°C ニ至ツテ最高ニ達スルモノデアル。

荒川⁽²¹⁾ハ溶血素分離試験ニ於テめぢうむノpHニ就テ實驗シpH 5.6ヨリ9.0ノ間ニ於テハpHガ中性ヨリ隔タル比例シテ酸、鹽基何レノ側ニ於テモ溶血素分離量ノ増加スル事ヲ報ジテキルガ、筆者ノ凝集素分離試験ニ於テハpH6.0ヨリ9.0迄ノ間ニ於テハ何等影響ヲ及ボザナイ。從テ新鮮ナ殆ドpH 7.0ニ近イ蒸溜水又ハ食鹽水デモ又室内ニ永ク保存シオキ稍々酸性ニ傾イタモノデモ何レヲ用ヒテモ毫モ差支ヘナイモノデアル。以上ノ事ヨリ凝集素分離現象ハ主ニ加温トめぢうむノ無鹽デアル事ニヨリ惹起セラルルモノデアルト言ヒ得ル。尙此等ノ關係ハH凝集素及O凝集素ノ何レニ對シデモ殆ド同様デアツテ特ニ認ムベキ差違存シナイ。

次ニ加温時間ハ至適温度ニ就テハ15~30分間デ充分デアツテソレ以上ハ寧ろ害アルモ益ハナイ。

更ニ分離ニ當ツテ重要ナノハ分離液中ノ菌濃度デアル。實驗ノ結果ニヨレバ菌濃度小ナル程分離成績良好デアル。而シテ分離液中ノ菌濃度ヲ小ニスルタメニハ吸收菌量ヲ小ニスルカ或ハ分離液量ヲ大ニスルカノ何レカラ選バナケレバナラナイ。然レニ吸收菌量ハ前述ノ如クソノ血清ニヨツテ大體定マツテ來ルモノデアルカラ從テ分離液量ヲ可及的大ニシナケレバナラナイ事トナル。然シ分離液量ヲ大ニスレバ稀釋度大トナリ從テ得ラント分離液ハ原血清ニ比較シテ非常ニ稀薄ナモノトナル。故ニ餘リニ液量ヲ大ニスル事モ不可能デアルカラ此等ノ點ヲ考慮シテ差支ヘナイ程度ニ菌量ヲ大ニスル事ガ必要デアル。實驗ノ結果ニヨレバ大體ニ於テ1cc中5mg以下ニスル必要ナク且ツ該濃度ガ最も適當デアル様ニ考ヘラレル。

サテ然ラバ凝集素吸收ノ際ノ菌量ト分離液中ノ菌濃度ト何レヲ重要視スベキカ。コノ事ハ第3章第6表ノ實驗成績ニヨツテ明デアル。即チコノ場合ハ最適吸收菌量ハ1cc中25mgデアツテ、從テ分離液中ノ菌濃度モ1cc 25mgノ場合ガソレ以下ノ場合ヨリモ分離成績良好デアツタノデアル。即チ吸收菌量ノ方ガ分離液中ノ菌濃度ヨリモ重要デアル事ガ分ル。故ニ先ヅ第1ニ最適吸收菌量ヲ定メ然ル後分離ニ際シ大體1cc 5mg内外トナル様ニ分離液量ヲ定メルベキデアル。

以上感作、洗滌及分離ニ三大別シテ各要約ニ就テ論ジタノデアルガ此等ノ内最も重要ナモノヲ更ニ擧ゲテ見ルト次ノ3因子即チ吸收菌量、分離めぢうむ及分離温度デアツテ、分離試験ニ際シテハ必ズ常ニ此ノ3點ニ就テ考慮ヲ拂フ事ヲ要スルモノデアル。次ニ上記諸點ヲ綜合シテ最も高價ナ分離液ヲ得ル最良ノ方法ヲ記述スル。

抗元ハ生菌又ハほるまりん、石炭酸及昇汞固定菌ノ何レデモ良イガソノ吸收菌量ガ重要デアツテ大體ニ於テ原血清中ヨリ $\frac{7}{8}$ ~ $\frac{15}{16}$ 内外ノ凝集素ヲ吸收スル程度ノ菌量ヲ用ヒル事ヲ要

スル。唯操作上カラ考ヘレバ石炭酸固定菌ヲ用ヒルノガ最モ便デアル。血清ハ食鹽水ニテ20～40倍ニ稀釋シ上記抗原ヲ加ヘタ後37°C 2時間次デ室温ニ1夜放置スル。次ニ感作時血清ト同量ノ食鹽水ニテ3回洗滌ヲ行フ。分離ハ蒸溜水中ニテ56°C～60°C或ハ0.85%食鹽水中ニテ65°Cニ15～30分加溫スル。而シテ分離液量ハ大體1cc 5mg位ノ濃度トナル様ナ量ヲ選ブノガ良イノデアルガ分離液稀釋度ノ關係カラヨリ少量ヲ用ヒテモ差支ナイ。

第 7 章 結 論

1) 凝集素分離試験ニ際シテ抗原ノ質ノ問題ハ餘リ重大ナ關係ヲ有シナイモノデ、生菌、56°C加熱菌、ほるまりん、石炭酸及昇汞固定菌並ビニ菌侵出濾液等ノ間ニハ著明ナ差違ヲ見出ダシ得ナイ。唯此等ノ内使用ニ最モ便ナノハ石炭酸固定菌デアル。

2) 然ルニ抗原ノ量ハ分離ニ對シ非常ニ重要ナ影響ヲ與ヘルモノデアツテ、大體ニ於テ原血清中ヨリ $\frac{1}{8}$ ～ $\frac{1}{16}$ 内外ノ凝集素ガ吸收スル程度ノ菌量ガ最適デアル。但シ大量ノ菌ヲ用ヒタ場合モ分離操作ヲ反覆スル事ニヨリ漸次結合凝集素ヲ分離セシメ得ルモノデアル。

3) ほるまりん、石炭酸及昇汞固定菌ノ凝集素結合能力及分離能ハ時日ノ經過ト共ニ漸次減退スルモノデアルガ3ヶ月後ニモ尙相當ノ能力ヲ有シテ居ル。

4) 感作ノ際ノ血清稀釋度ハ殆ト關係ヲ有シナイ。又蒸溜水ニテ血清ヲ稀釋スルモ食鹽水稀釋ノ場合ト大差ナイ。

5) 感作溫度及時間ハ37°C 2時間後室温ニ1夜放置スルカ或ハ37°Cニ20時間放置スルノガ良イ。

6) 感作時血清稀釋度が20～40倍ノ時ニハ血清ト同量ノ食鹽水ニテ3回洗滌スレバ充分デアル。

7) 蒸溜水ニテ洗滌ヲ行フ時ハ結合凝集素ノ一部逸出スルヲ以テ、蒸溜水洗滌ヲ必要トスル場合ハ最終回ノミニ止ムベキデアル。

8) 分離めちうむトシテハ56°C加溫ノ場合ニハ蒸溜水、低張食鹽水、10%蔗糖溶液、5.6%葡萄糖溶液、M/100炭酸曹達水及M/100炭酸曹達加食鹽水等ガ優良デアル。めちうむノpHノ影響ハ6.0～9.0ノ間ニ於テハ認め難イ。

9) 分離ニ最適ノ溫度ハ分離めちうむヲ異ニスル事ニョツテ又異ルモノデ、蒸溜水めちうむノ場合ハ56°C～60°C、食鹽水めちうむノ場合ハ65°Cガ最適デアル。蒸溜水中ニアツテハ室温又ハソレ以下ノ溫度ニ於テモ凝集素分離セラレタルモノデアル。

10) 加溫時間ハ至適溫度ニ於テ15～30分間デ充分デアル。

11) 分離液中ノ菌濃度小ナル程分離成績良好デアル。而シテソノ最適菌濃度ハ1cc中5mg

内外デアル。

12) 以上ノ關係ハH凝集素及O凝集素何レニモ共通デアル。

摺筆スルニ當リ御懇篤ナ御指導ト御校閲ヲ賜ハツタ恩師細川教授ニ深腔ノ謝意ヲ捧ゲ、種々御鞭撻ヲ賜ハツタ西龜課長並ビニ横山技師ニ謹シテ謝意ヲ表スル。

文 献

- 1) **Weil u. Felix** : Z. Immun. forschg. 29, 24, 1920. 2) **Arkwright** : J. Path. & Bact. 23, 358, 1920. 3) **Andrews** : J. Path. & Bact. 25, 505, 1922. 4) **Kauffmann u. Mitsui** : Z. Hyg. 111, 740, 1930. 5) **Topley & Wilson** : The Principles of Bacteriology and Immunity 2nd. ed., London, 1936. 6) **Kauffmann** : Z. Hyg. 120, 194, 1937. 7) **Kauffmann** : Z. Hyg. 117, 431, 1935. 8) **Hahn u. Trommsdorff** : Münch. med. Wschr. 1900, 413. 9) **Landsteiner u. Gagic** : Münch. med. Wschr. 1903, 764. 10) **Liebermann u. Fenyvessy** : Cbl. Bakter. I. Orig. 34, 70, 1903. 11) **Bail u. Tsuda** : Z. Immun. forschg. 1, 546, 1909. 12) **Spaet** : Z. Immun. forschg 7, 712, 1910. 13) **Matsui** : Z. Immun. forschg 23, 233, 1915. 14) **Chickering** : J. exper. Med. 22, 248, 1915. 15) **Weinstein** : J. of Immun. 3, 17, 1918. 16) **松井** : 日本鐵道協會雜誌, 7卷, 38, 88, 133, 大10年. 17) **Kosakai** : J. of Immun. 3, 109, 1918. 18) **Furuhata** : Japan. med. World No. 16, 1, 1921. (30ヨリ引用). 19) **Ogata** : Z. Immun. forschg. 39, 270, 1924. 20) **内田** : 成醫會雜誌, 46卷, 237, 252, 昭2年. 21) **荒川** : 大阪醫學會雜誌, 29卷 3195, 昭5年. 22) **Huntoon** : J. of Immun. 6, 123, 1921. 23) **三輪** : 衛生學傳染病學雜誌, 17卷, 179, 大11年. 24) **谷田貝** : 細菌學雜誌, 354號, 570, 大14年. 25) **須之内** : 岡山醫學會雜誌, 41年, 1740, 昭4年. 26) **Nelson** : J. exper. Med. 48, 825, 1928. 27) **竹下** : 衛生學傳染病學雜誌, 26卷, 826, 昭5年. 28) **渡邊** : 細菌學雜誌, 427號, 675, 昭6年. 29) **桑名** : 岡山醫學會雜誌, 43年, 1801, 昭6年. 30) **大岩** : 岡山醫學會雜誌, 46年, 691, 1044, 昭9年. 31) **Suma** : Arb. a. d. Med. Fakultät Okayama 4, 471, 1935. 32) **Felton** : J. of Immun. 22, 453, 1932. 33) **Heidelberger & Kendall** : J. exper. Med. 64, 161, 1936. 34) **Heidelberger & Kabat** : J. exper. Med. 67, 181, 1938. 35) **Duncan** : Brit. J. exper. Path. 18, 108, 1937. 36) **Haku** : Arb. a. d. Med. Fakultät Okayama 1, 246, 1929. 37) **新宮** : 朝鮮醫學會雜誌, 19卷, 249, 昭4年. 38) **新宮** : 朝鮮化學會會報, 9卷, 7, 43, 昭13年. 39) **牧野** : 朝鮮醫學會雜誌, 29卷, 897, 1146, 昭14年. 40) **Felix & Pitt** : J. Path. & Bact. 38, 409, 1934.