超音波わくちんノ研究

第2編 これら菌ヲ以テスル研究

(第3回報告)

神奈川縣中央衛生試験所 (前任 渡邊博士)
(現主任 兒玉威博士)

村 野 喜 代

Kiyo Murano

(昭和16年6月4日受付)

【内 容 抄 録】

超音波ヲこれら各型菌ニ作用シテ製シタル超音波殺菌わくちんニ對シ防腐劑ヲ添加シタル場合ト然ラザルモノトノ抗元性、抗體產生能及ビ感染防禦試験ヲ行ヒタリ、之ニ由レバ之等超音波殺菌わくちんハ生菌ヲ以テセルモノニ最モ近似ノ成績ヲ得タリ、防腐劑添加ノ影響ハ異型菌ニ於テ稍々大ナル如シ。

目 次

緒 言	第4項 補體結合原性ニ及ボス影響
第1章 實驗材料並ニ實驗方法	第2節 抗體產生能ニ關スル實驗
第1節 供試菌株	第1項 凝集素產生試験
第2節 實驗動物及ビ抗元注射方法	第2項 補體結合性物質產生試験
第3節 抗元ノ調製方法	第3項 沈降素產生試験
第4節 實驗方法	第4項 溶菌素產生試験
第2章 實驗成績	第3節 感染防禦試験
第1節 細菌ノ死滅時間並ニ抗元性ニ關スル實驗	第1項 自動免疫試験
第1項 細菌ノ死滅時間	第2項 他動免疫試験
第2項 凝集素ニ及ボス影響	第3章 實驗成績ノ總括的觀察並ニ結論
第3項 吸收試験	第4章 全編ノ總括的觀察並ニ結論
	主要文献

緒 言

余ハ第1編ニ於テ超音波ヲ以テ殺菌セル腸ちふすわくちんニ關スル實驗成績ニ就テ報告セリ、今回ハこれら菌わくちんヲ以テノ實驗ヲ行ヘリ、茲ニ其ノ成績ヲ報告シ大方諸賢ノ御批

判ヲ仰ガントス。

第 1 章 實驗材料並ニ實驗方法

第 1 節 供 試 菌 株

本實驗ニ使用セル菌株ハ當試驗所保管ノこれら本型菌、中間型菌及ビ異型菌ノ3株ナリ。

第 2 節 實驗動物及ビ抗原注射方法

實驗動物及ビ抗原注射方法ニ關シテハ第1編、第1章、第2節ニ記載セルト同様ナリ。

第 3 節 抗原ノ調製方法

第1節實驗用抗原ハ、第1節記載菌株ヲ以テ、第1編、第1回報告、第1章、第3節ニ記載セルト同様ノ方法ナリ。

第2節實驗用抗原ハ

イ。抗原用菌種ハこれら本型、中間型及ビ異型菌3株ヲ以テス。抗原ノ調製方法並ニ種類ニ關シテハ第1編、第2回報告、第1章、第3節ニ記載セルト同様ナリ。而シテこれら菌ニ於テハ超音波作用時間ヲ20分トセリ。本誌第32卷10號記載、渡邊外3氏發表、超音波これら抗原ヲ以テノ免疫學的研究ニ由ル。

ロ。凝集反應用抗原、各型菌ノ夫々生菌浮游液ヲ使用セリ。

ハ。補體結合反應用抗原、第1編、第2回報告、第1章、第3節ニ記載セルト同様ノ方法ヲ以テセリ。

ニ。沈降反應用抗原、前記菌株ノ生理的食鹽水浮游液(50mg.1cc)ニ超音波ヲ30分作用セシメ1晝夜氷室ニ靜止後遠心沈澱シソレガ上清ヲ使用セリ。

第 4 節 實 驗 方 法

1) 凝集反應、吸收試驗及ビ補體結合反應、成書記載ノ方法ヲ用ヒタリ。

2) 沈降反應、*Ascoli*ノ輪環法ニヨリ成績ヲ檢查ス、即チ被檢血清ノ一定量ヲ *Uhlenhuth*ノ小試験管ニ取り、之ニ稀釋反應元ヲ重複セシム、反應ノ判定ニハ重疊直後ニ輪環ノ出現スルモノヲ(+)、室溫ニ5分放置後出現スルモノヲ(±)、37°C孵卵器ニ20分靜止後明瞭ニ出現スルモノヲ(+), 弱陽性(±)トシ、陰性ヲ(-)トス。

3) 溶菌反應、第1編、第2回報告、第1章、第4節ニ記載セルト同様ナリ。菌液トシテハこれら各型菌18時間培養菌ヲ10%ふいよん食鹽水(1mg:1cc)ノ割合ニ浮游セシメ、更ニ之ヲ生

理的食鹽水ヲ以テ50倍ニ稀釋シテ使用セリ。

4) 感染防禦試驗, 實驗用動物ハ250—300g内外ノ海濱ヲ1週間以上飼育シ健康ナルモノヲ使用セリ。自働免疫試驗ニ於テハこれら各型菌ヲ第3節ニ記載セル抗原ヲ以テ第1回0.8cc, 第2回1.0ccヲ7日間ノ間隔ヲ以テ腹腔内ニ注射ス, 1群ノ頭數ヲ5頭トシ同日中ニ行ヘリ。次ニ強毒生菌(致死量, 本型菌0.4mg, 中間型0.5mg, 異型菌0.5mg)ヲ第2回注射後2週間ヲ經テ行ヘリ, 接種菌量ハ致死量ノ10倍量ヲ何レモ所要菌量ヲ1.0cc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。他働免疫試驗ニ於テハ免疫血清1.0ccヲ第1回接種セリ。接種菌ハ各型菌ノ致死量ノ5倍ヲ1.0ccノ生理的食鹽水ニ含有セシメタルモノヲ免疫血清接種24時間後ニ注射セリ。動物ハ生菌接種後3日間之ヲ觀察セリ。

第 2 章 實 驗 成 績

第 1 節 細菌ノ死滅時間並ニ抗原性

ニ關スル實驗

第 1 項 細菌死滅時間

各型菌株ノ生菌浮游液ノ超音波作用ニヨル死滅時間ニ關シテハ, 第1編, 第1回報告, 第2章, 第1節ニ記載セルト同様ノ方法ヲ以テ觀察セルニ, 各型菌共ニ超音波5分時作用ニテハ輕度死滅ヲ來セルガ10分時作用ニヨリ完全ナル死滅ヲ招來セリ。

第 2 項 凝集元ニ及ボス影響

各種これら生菌浮游液ニ超音波ヲ5分—60分時作用セシメタルモノ及ビ之等作用液ニ0.4% ほうまりん或ハ0.5%石炭酸添加セルモノヲ反應用抗原トシテ實驗ヲ行ヘリ。使用菌株ハこれ

第 1 表 凝 集 反 應

菌 株	本 型 菌			中 間 型 菌			酸 異 型		
	—	0.4% ほうまりん	0.5% 石炭酸	—	0.4% ほうまりん	0.5% 石炭酸	—	0.4% ほうまりん	0.5% 石炭酸
防腐劑 超音波 作用時間	—	—	—	—	—	—	—	—	—
對照(生菌)	12800	12800	12800	12800	12800	12800	6400	6400	6400
5 分	3200	1600	3200	1600	400	800	1600	—	—
10 "	1600	800	1600	800	400	400	800	—	—
20 "	1600	400	1600	200	100	200	—	—	—
30 "	400	200	400	200	—	100	—	—	—
40 "	"	±	±	100	—	±	—	—	—
50 "	100	—	—	100	—	—	—	—	—
60 "	±	—	—	—	—	—	—	—	—

ら本型菌，中間型及異型菌，供試血清ハ之等菌株免疫血清ナリ。之ガ實驗成績ハ第1表ニ示ス如シ。

本型菌ヲ以テセル實驗成績ヲ觀ルニ超音波抗原ハ作用時間ニ比例シ凝集價ノ低下ヲ來シ，20分時作用ニテ1600倍，60分時作用ニテ陰性ヲ示スニ對シ，防腐劑添加抗原ハ0.4%ほるまりン添加ハ20分時作用ニテ400倍，0.5%石炭酸添加抗原ハ1600倍，40分時作用後ハ兩者共ニ陰性ナリ。

中間型菌ヲ以テセル場合モ亦前者ト略々同様ニ超音波ノ作用時間ニ比例シ凝集價低減ス，防腐劑添加トシテ0.4%ほるまりンハ30分時作用ニテ凝集反應陰性ヲ示セリ。

異型菌ヲ以テセル場合ハ凝集價ノ低下著明ニシテ，超音波抗原ハ20分時，防腐劑添加抗原ハ5分時作用ニテ夫々凝集反應消失セリ。

第 3 項 吸 收 試 驗

これら各型菌ニ超音波ヲ5分—60分時作用セシメ，コレ等抗原ノ抗體吸收能力ノ消長ニ就テ實驗ヲ行ヒタル成績ハ第2表ニ示ス如シ。

第 2 表 吸 收 試 驗

菌 株 防腐劑 超音波 作用時間	本 型 菌			中 間 型 菌			異 型 菌		
	—	0.4% ほるまりん	0.5% 石炭酸	—	0.4% ほるまりん	0.5% 石炭酸	—	0.4% ほるまりん	0.5% 石炭酸
非吸收血清	12800	12800	12800	12800	12800	12800	6400	6400	6400
照 對	80	80	80	160	160	160	80	80	80
5 分	80	160	160	160	160	160	80	160	80
10 "	80	160	160	160	160	160	80	160	160
20 "	160	320	160	320	320	320	160	320	160
30 "	160	320	320	320	320	320	160	320	320
40 "	320	320	320	320	640	320	320	320	320
50 "	320	640	640	640	640	640	320	640	320
60 "	640	640	640	640	640	640	640	640	640

本型菌ヲ以テセル場合，對照抗原ハ80倍ノ凝集價ヲ示ス。超音波抗原ハ10分時マデ不變，20分時以後ハ作用時間ニ正比例シ抗體吸收能力不良トナリ，60分時ニ於テ640倍ヲ示ス。防腐劑添加抗原ハ5分時作用ヨリ作用時間ニ比例シ抗體ノ吸收能力不良トナリ0.4%ほるまりン添加抗原ハ20分時，0.5%石炭酸抗原ハ30分時ニテ夫々320倍ニ減弱セリ。

中間型菌ニ於テハ對照ノ凝集價ハ160倍ナリ。超音波抗原ハ10分時マデ不變，20分時後ヨリ吸收能力減弱ヲ示ス，而シテ防腐劑添加ノ影響著明ナラズ。

異型菌ヲ以テセル場合，對照ノ凝集價ハ80倍ナリ。超音波抗原ハ10分時マデ不變，20分時

ヨリ作用時間ニ比例シ、吸収能力減弱シ60分時作用ニテ對照ノ $\frac{1}{8}$ ヲ示セリ。防腐劑添加抗原ハ0.5%石炭酸添加ハサシタル影響ナキモ、0.4%ほるまりん添加ノ場合ハ5分時ヨリ減弱ヲ示シ、20分時作用ニテ對照ノ $\frac{1}{4}$ 低下タル320倍ヲ示ス。

第 4 項 補體結合原性ニ及ボス影響

これら各型菌ニ超音波5分—60分時作用セシメ、補體結合反應ヲ行ヒシ成績ハ第8表ニ掲ゲ如シ。

第 3 表 補體結合反應

菌 株 防腐劑 超音波 作用時間	本 型 菌			中 間 型 菌			異 型 菌		
	—	0.4% ほるまりん	0.5% 石炭酸	—	0.4% ほるまりん	0.5% 石炭酸	—	0.4% ほるまりん	0.5% 石炭酸
對照(生菌)	640	640	640	320	320	320	160	160	160
5 分	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
10 〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
20 〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
30 〃	320	320	320	〃	〃	〃	〃	〃	〃
40 〃	〃	〃	〃	160	〃	〃	80	80	80
50 〃	〃	〃	〃	〃	160	160	〃	〃	〃
60 〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃

本型菌ニ於テハ對照ノ結合價ハ640倍ナリ。超音波抗原ハ20分時マデ不變、30分—60分時作用ニテ320倍ニ低下ス、本菌ニ於テハ防腐劑ノ影響ハ殆ド認めラレズ。

中間型菌ニ於テハ對照ノ結合價320倍ヲ示ス。超音波抗原ハ40分時後ニ於テ $\frac{1}{2}$ 低下タル160倍ヲ示ス、防腐劑ノ影響ハ極メテ輕度ナリ。

異型菌ヲ以テセル場合モ亦、對照ハ160倍ノ結合價ヲ示スニ對シ、超音波抗原ハ40分時後ニ於テ80倍($\frac{1}{2}$)ヲ示シ、防腐劑ノ影響ナシ。

第 2 節 抗體產生能ニ及ボス影響

第 1 項 凝集素產生試驗

イ. 本 型 菌

本型菌ヲ以テノ凝集素產生試驗ノ結果ハ第4表ニ示セリ。

第4表ニ就テ觀ルニ、對照血清ノ凝集價ハ6400—12800倍、超音波20分時抗原血清ハ略々之ト同様ナレド、0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ3200—6400倍ヲ、0.5%石炭酸抗原血清ハ6400倍ナリ。

第 4 表

わくちん種類	免 疫 元	本 型 菌								
	血清稀 家兎 番號	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600
對 照 (生 菌)	1	++	++	++	++	++	+	+	+	-
	2	++	++	++	++	++	++	+	±	-
超 音 波 20 分 わ く ち ん	3	++	++	++	++	++	++	+	±	-
	4	++	++	++	++	++	++	++	+	-
同 上 + 0.4%ほるまりん	5	++	++	++	++	++	++	+	-	-
	6	++	++	++	++	++	+	±	-	-
同 上 + 0.5%石 炭 酸	7	++	++	++	++	++	++	+	-	-
	8	++	++	++	++	++	++	+	-	-

ロ. 中 間 型 菌

中間型菌ヲ以テ抗原トセル免疫血清ノ成績ハ第5表ニ示ス如シ。

第 5 表

わくちん種類	免 疫 元	中 間 型									
	血清稀 家兎 番號	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	
對 照 (生 菌)	1	++	++	++	++	++	++	++	+	-	
	2	++	++	++	++	++	++	+	-	-	
超 音 波 わ く ち ん	3	++	++	++	++	++	++	++	+	-	
	4	++	++	++	++	++	+	+	-	-	
同 上 + 0.4%ほるまりん	5	++	++	++	++	++	+	+	-	-	
	6	++	++	++	++	++	+	+	-	-	
同 上 + 0.5%石 炭 酸	7	++	++	++	++	+	+	+	+	-	
	8	++	++	++	++	++	++	+	±	-	

對照血清ノ凝集價ハ6400—12800倍ヲ示スニ對シ、超音波抗原血清モ亦之ト同様ナリ0.4%ほるまりん添加抗原血清ニ於テハ6400倍ナレド、0.5%石炭酸添加ノ場合ハ對照ト略々大差ナシ。

ハ. 異 型 菌

異型菌免疫血清ノ成績ハ第6表ニ掲グ。

第6表ニ就テ觀レニ對照血清ハ3200—6400倍ナリ、超音波抗原血清ハ1600—3200倍、0.5%石炭酸添加抗原血清ハ1600倍ヲ示スニ對シ、0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ800倍ノ低價ヲ示シ抗體產生能ノ減弱ヲ示セリ。

第 6 表

わくちん種類	免 疫 元	異 型 菌						
	血清稀 家兎 番號	100	200	400	800	1600	3200	6400
對 照 (生 菌)	1	++	++	++	+	+	+	±
	2	++	++	++	++	+	+	+
超 音 波 20 分 わ く ち ん	3	++	++	+	+	+	±	-
	4	++	++	++	++	+	+	-
同 上 + 0.4%ほるまりん	5	++	+	+	+	±	-	-
	6	++	+	+	+	±	-	-
同 上 + 0.5%石 炭 酸	7	++	++	++	++	+	±	-
	8	++	++	++	+	+	±	-

第 2 項 補體結合性物質產生試験

イ. 本 型 菌

本型菌ヲ以テ抗原トセル免疫血清ノ成績ハ第7表ニ掲グ。

第 7 表

わくちん種類	免 疫 元	本 型 菌								
	血清稀 家兎 番號	10	20	40	80	160	320	640	1280	
對 照 (生 菌)	1	H	H	H	H	H	H	k	L	
	2	H	H	H	H	H	K	L	L	
超 音 波 20 分 わ く ち ん	3	H	H	H	H	fch	K	L	L	
	4	H	H	H	H	H	H	K	L	
同 上 + 0.4%ほるまりん	5	H	H	H	H	H	k	L	L	
	6	H	H	H	H	H	k	L	L	
同 上 + 0.5%石 炭 酸	7	H	H	H	H	H	L	L	L	
	8	H	H	H	H	fch	L	L	L	

對照血清ノ結合價ハ160—320倍ナリ。超音波抗原血清ハ之ト略々同様ノ結合價ヲ示シタレド、防腐劑添加抗原血清ニ於テハ160倍ニシテ、若干ノ減弱ヲ示セリ。

ロ. 中 間 型

中間型菌免疫血清ノ實驗成績ハ第8表ニ示ス如シ。

第8表ヲ觀ルニ對照血清ハ320倍ノ補體結合價ナリ、超音波抗原血清及ビ防腐劑添加抗原血清ハ夫々160倍($\frac{1}{2}$)ニ低下セリ。

第 8 表

わくちん種類	免 疫 元	中 間 型								
	血清稀 家免 番號	10	20	40	80	160	320	640	1280	
對 照 (生 菌)	1	H	H	H	H	H	H	k	L	
	2	H	H	H	H	H	feh	k	L	
超 音 波 20 分 わ く ち ん	3	H	H	H	H	feh	K	L	L	
	4	H	H	H	H	H	K	L	L	
同 上 + 0.4%ほるまりん	5	H	H	H	H	feh	k	L	L	
	6	H	H	H	H	H	K	L	L	
同 上 + 0.5%石 炭 酸	7	H	H	H	H	H	k	L	L	
	8	H	H	H	H	feh	K	L	L	

ハ. 異 型 菌

異型菌免疫血清ノ實驗成績ヲ第9表ニ掲グ。

第9表ニ示ス如ク、對照血清ノ結合價ハ160—320倍ヲ示スニ對シ、超音波抗原血清及ビ0.5%石炭酸添加抗原血清ハ夫々80—160倍ニシテ、0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ80倍ヲ示セリ。

第 9 表

わくちん種類	免 疫 元	異 型 菌							
	血清稀 家免 番號	10	20	40	80	160	320	640	
對 照 (生 菌)	1	H	H	H	H	H	feh	L	
	2	H	H	H	H	H	K	L	
超 音 波 20 分 わ く ち ん	3	H	H	H	H	k	L	L	
	4	H	H	H	H	H	K	L	
同 上 + 0.4%ほるまりん	5	H	H	H	feh	L	L	L	
	6	H	H	H	H	k	L	L	
同 上 + 0.5%石 炭 酸	7	H	H	H	H	H	K	L	
	8	H	H	H	feh	K	L	L	

第 3 項 沈降素產生試験

イ. 本 型 菌

本型菌免疫血清ヲ以テノ成績ハ第10表ニ掲グ如シ。

對照血清ノ沈降價ハ200—320倍ヲ示スニ對シ 超音波抗原血清ハ200倍ニシテサシタル 減弱

ナシ。而シテ0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ100倍、0.5%石炭酸添加抗原血清ハ160倍ニ夫々低下ヲ示セリ。

第 10 表 沈降素産生成績

免疫血清種類	菌 株	本 型 菌							
	家兎 番號	抗元稀 釋度	20	40	80	100	160	200	320
對 照 (生 菌 免 疫)	1		++	++	++	+	+	+	+
	2		++	++	++	+	+	+	-
超 音 波 20 分 免 血	3		++	++	++	+	+	+	-
	4		++	++	++	+	+	+	-
同 上 +0.4% ほるまりん免血	5		++	++	++	+	±	-	-
	6		++	++	++	+	-	-	-
同 上 +0.5% 石 炭 酸 免 血	7		++	++	++	+	+	±	-
	8		++	++	++	+	+	±	-

ロ. 中 間 型 菌

免疫元トシテ中間型菌ヲ以テセル實驗成績ハ第11表ニ示ス如シ。

對照血清ノ沈降價ハ200倍、超音波抗原免疫血清ハ160倍ニシテ略々同様ナレド、防腐劑添加抗原血清ハ80倍ノ低下ヲ示シ影響稍々大ナル如シ。

第 11 表 沈降素産生成績

免疫血清種類	菌 株	中 間 型 菌							
	家兎 番號	抗元稀 釋度	20	40	80	100	160	200	320
對 照 (生 菌 免 疫)	1	++	++	+	+	+	+	+	±
	2	++	++	+	+	+	+	+	-
超 音 波 20 分 免 血	3	++	++	++	++	+	±	-	-
	4	++	++	++	+	+	±	-	-
同 上 +0.4% ほるまりん免血	5	++	++	++	±	-	-	-	-
	6	++	++	+	±	-	-	-	-
同 上 +0.5% 石 炭 酸 免 血	7	++	++	+	±	-	-	-	-
	8	++	++	+	±	-	-	-	-

ハ. 異 型 菌

異型菌ヲ以テ抗原トセル免疫血清ノ成績ハ第12表ニ示ス如シ。

第12表ニ就テ觀ルニ、對照血清ノ沈降價ハ320倍、超音波抗原血清モ亦200—320倍ヲ示セリ、之ニ對シ防腐劑添加抗原血清ハ160倍ニシテ對照ノ(1/2)ヲ示セリ。

第 12 表 沈降素産生成績

免疫血清種類	菌 株	異 型 菌							
	家兎 番號	抗元稀 釋度	20	40	80	100	160	200	320
對 照 (生 菌 免 疫)	1		++	++	++	++	++	+	+
	2		++	++	++	++	++	++	+
超 音 波 20 分 免 血	3		++	++	++	+	+	+	±
	4		++	++	++	+	+	+	+
同 上 +0.4% ほるまりん免血	5		++	++	++	+	+	±	-
	6		++	++	+	+	+	-	-
同 上 +0.5% 石 炭 酸 免 血	7		++	++	++	+	+	-	-
	8		++	++	+	+	+	-	-

第 4 項 溶菌素產生試験

イ. 本 型 菌

本型菌免疫血清ノ實驗成績ヲ第13表ニ掲グ。

生菌免疫血清ノ溶菌價ハ256萬倍稀釋マデ完全殺菌，512—2048萬倍稀釋ハ300—5000以下ノ集落數ナリ。超音波抗元血清ハ略々前者ト大差ナシ，0.5%石炭酸添加抗元血清ノ溶菌價ノ減弱ハ輕度ナレドモ，0.4%ほるまりん添加抗元血清ニ於テハ完全殺菌ハ32萬倍稀釋ニシテ溶菌價ノ低下ハ稍々大ナリ。

第 13 表 溶菌素産生成績

免疫血清種類	免 疫 元								
--------	-------	--	--	--	--	--	--	--	--

ロ. 中 間 型

中間型菌免疫血清ノ成績ハ第14表ニ示ス如シ。

即チ、生菌免疫血清ノ溶菌價ハ256—512萬倍稀釋マデ完全殺菌、2048萬倍稀釋以下ハ1000以下ノ集落數ヲ示ス。超音波抗原血清ハ對照ト略々大差ナシ、又、0.5%石炭酸添加抗原血清ハ極メテ若干集落數ノ増加ヲ來セル感アレド、0.4%ほるまりん添加抗原血清ニ於ケル集落數ノ増加ハ稍々大ナリ。

第 14 表 溶菌素産生成績

免疫血清種類	免 疫 元 中 間 型								
	血清稀釋度 家兔番號	32	64	128	256	512	1024	2048	4096
對 照 (生 菌 免 血)	1	0	0	0	0	0	100	1000	∞
	2	0	0	0	0	20	50	600	∞
超 音 波 20 分 免 血	3	0	0	0	5	20	100	1000	∞
	4	0	0	0	0	100	200	500	∞
同 上 +0.4% ほるまりん免血	5	0	0	0	30	100	1000	5000	∞
	6	0	0	0	40	500	3000	∞	∞
同 上 +0.5% 石 炭 酸 免 血	7	0	0	0	5	50	500	1000	∞
	8	0	0	0	0	60	350	2000	∞

ハ. 異 型 菌

異型菌ヲ以テノ免疫血清ノ成績ハ第15表ニ示ス如シ。

第 15 表 溶菌素産生成績

免疫血清種類	免 疫 元	異 型 菌										
	家免 番號	血清稀 釋度	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096
對 照 (生 菌 免 血)	1		0	0	0	0	0	0	150	350	5000	∞
	2		0	0	0	0	0	0	160	500	1000	∞
超 音 波 20 分 免 血	3		0	0	0	0	70	500	2000	∞	∞	∞
	4		0	0	0	0	200	500	1000	1000	2000	∞
同 上 +0.4% ほるまりん免血	5		20	23	40	160	320	2000	5000	∞	∞	∞
	6		50	100	300	1500	2000	∞	∞	∞	∞	∞
同 上 +0.5% 石 炭 酸 免 血	7		0	0	0	0	80	500	2000	∞	∞	∞
	8		0	0	20	40	100	200	1500	2000	∞	∞

第15表ニ示ス如ク、對照血清ノ溶菌價ハ256萬倍稀釋マデ完全殺菌ヲ示シ、超音波抗原血清ハ64萬倍稀釋マデ完全殺菌ナリ。之ニ對シ、0.4%ほるまりん添加抗原ハ8萬倍稀釋トイヘドモ尙若干ノ集落數ヲ認め、而シテ0.5%石炭酸添加抗原血清ハ16—64萬倍稀釋マデ完全殺菌ニシテ無添加抗原血清ト略々大差ナシ。

第 3 節 感 染 防 禦 試 験

第 1 項 自 働 免 疫 試 験

イ. 本 型 菌

これら本型菌ヲ以テノ成績ハ第16表ニ示ス如シ。

第 16 表 自 働 免 疫

本 型 菌 わくちん種類	豫 防 接 種				本型菌生菌接種 (2週間後)			海 豚 生 存 数		
	第 1 回		第 2 回		注射量	感 菌 染 量	頭数	第1日	第2日	第3日
	量	頭数	量	頭数						
生 菌	0.25	5	0.5	5	0.5	10MLD	5	5%	5%	5%
超音波 20 分	0.8 ^{cc}	5	1.0 ^{cc}	5	〃	〃	〃	5%	5%	5%
わくちん	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	4%	3%	3%
同上 +0.4%	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	4%	4%
はるまりん	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	4%	4%
同上 +0.5%	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	4%	4%
同石炭酸	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	4%	4%

第16表ニ示ス如ク、生菌免疫及ビ超音波抗原免疫ニ於テハ本型菌(致死量0.4mg)ノ致死量10倍接種ニ對シ海豚生存數ハ5%ナリ、防腐劑添加抗原ニ於テ0.4%はるまりん%, 0.5%石炭酸添加抗原ヲ以テセル場合ハ5%ニシテ前者ニ比シ感染防禦力稍々劣ル。

ロ. 中 間 型 菌

中間型菌わくちんヲ以テノ實驗成績ハ第17表ニ掲グ如シ。

第 17 表 自 働 免 疫

中 間 型 わくちん種類	豫 防 接 種				中間型菌生菌接種			海 豚 生 存 数		
	第 1 回		第 2 回		注射量	感 菌 染 量	頭数	第1日	第2日	第3日
	量	頭数	量	頭数						
生 菌	0.25	5	0.5	5	0.5	10MLD	5	5%	5%	5%
超音波 20 分	0.8 ^{cc}	〃	1.0 ^{cc}	〃	〃	〃	〃	5%	5%	5%
わくちん	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	5%	5%
同上 +0.4%	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	5%	5%
はるまりん	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	5%	5%
同上 +0.5%	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	5%	5%
同石炭酸	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5%	5%	5%

生菌及ビ超音波わくちん免疫ニ於テハ5%ノ海豚生存數ナリ、防腐劑添加わくちんニ於テ、0.4%はるまりん添加ハ5%、0.5%石炭酸添加わくちんハ5%ヲ示シ感染防禦力ハ若干減弱ヲ示セリ。

ハ. 異 型 菌

異型菌わくちんヲ以テノ實驗成績ハ第18表ニ示ス如シ。

生菌免疫ニ於ケル海狸生存數ハ $\frac{5}{100}$ 、超音波わくちん及ビ0.5%石炭酸添加わくちんハ $\frac{4}{100}$ ニシテ前者ト略々大差ナキモ、0.4%ほるまりん添加わくちんハ $\frac{3}{100}$ ニシテ感染防禦力ノ減弱ヲ示セリ。

第 18 表 自 働 免 疫

異 型 菌 わくちん種類	豫 防 接 種				異型菌生菌接種			海 狸 生 存 數		
	第 1 回		第 2 回		注射量	感 染 量	頭數	第1日	第2日	第3日
	量	頭數	量	頭數						
生 菌	0.3	5	0.6	5	0.5	10MLD	5	$\frac{5}{100}$	$\frac{5}{100}$	$\frac{5}{100}$
超 音 波 20 分 わ く ち ん	0.8 ^{cc}	"	1.0 ^{cc}	"	"	"	"	$\frac{4}{100}$	$\frac{4}{100}$	$\frac{4}{100}$
同 上 +0.4% ほ る ま り ん	"	"	"	"	"	"	"	$\frac{4}{100}$	$\frac{3}{100}$	$\frac{3}{100}$
同 上 +0.5% 石 炭 酸	"	"	"	"	"	"	"	$\frac{5}{100}$	$\frac{4}{100}$	$\frac{4}{100}$

第 2 項 他働免疫試験

イ. 本 型 菌

本型菌免疫血清ヲ以テセル成績ハ第19表ニ示ス如シ。

第 19 表 他 働 免 疫

本 型 菌 血清製造用 わ く ち ん	豫 防 接 種		本型菌生菌接種			海 狸 生 存 數		
	量(cc)	頭 數	注射量	感 染 量	頭 數	第 1 日	第 2 日	第 3 日
對照(生菌免血)	1.0cc	5	0.5cc	5MLD	5	$\frac{5}{100}$	$\frac{4}{100}$	$\frac{4}{100}$
超音波20分免血	"	"	"	"	"	$\frac{4}{100}$	$\frac{3}{100}$	$\frac{3}{100}$
同 上 +0.4% ほ る ま り ん 免 血	"	"	"	"	"	$\frac{3}{100}$	$\frac{2}{100}$	$\frac{2}{100}$
同 上 +0.5% 石 炭 酸 免 血	"	"	"	"	"	$\frac{4}{100}$	$\frac{4}{100}$	$\frac{4}{100}$

生菌免疫血清ヲ以テノ場合、致死量5M.L.Dニ於テ海狸生存數ハ $\frac{4}{100}$ 、超音波抗元血清ニ於テハ $\frac{3}{100}$ ヲ夫々示セリ、之ニ對シ、0.5%石炭酸添加抗元血清接種ニ於テハ生菌免疫血清ノ場合ト大差ナキモ、0.4%ほるまりん添加抗元血清ニ於テハ $\frac{2}{100}$ ヲ示セリ。

ロ. 中 間 型

中間型菌免疫血清ヲ以テセル成績ハ第20表ニ示ス如シ。

中間型生菌免疫血清ノ場合、5M.L.D接種ニ於テ $\frac{5}{100}$ ノ海狸生存數ナリ。超音波抗元血清及ビ0.5%石炭酸添加抗元血清ニ於テハ $\frac{4}{100}$ 、0.4%ほるまりん添加抗元血清ハ $\frac{3}{100}$ ヲ夫々示シサシ

タル差異ヲ認メズ。

第 20 表 他働免疫

中間型菌 血清製造用 わくもん	豫防接種		中間型菌生菌接種			海狸生存数		
	量(c.c)	頭数	注射量	感菌 染量	頭数	第1日	第2日	第3日
對照(生菌免血)	1.0cc	5	0.5cc	5MLD	5	5%	5%	5%
超音波20分免血	"	"	"	"	"	5%	4%	4%
同上 +0.4% ほるまりん免血	"	"	"	"	"	4%	3%	3%
同上 +0.5% 石炭酸免血	"	"	"	"	"	5%	4%	4%

ハ. 異型菌

異型菌免疫血清ヲ以テセル成績ハ第21表ニ示ス如シ。

第21表ニ就テ觀ルニ、生菌及ビ超音波抗原血清ニ於ケル海狸生存数ハ5%ナリ、防腐劑添加抗原血清ハ%—1%ノ生存数ニシテ前者ニ比シ感染防禦力劣レリ。

第 21 表 他働免疫

異型菌 血清製造用 わくもん	豫防接種		異型菌生菌接種			海狸生存数		
	量(c.c)	頭数	注射量	感菌 染量	頭数	第1日	第2日	第3日
對照(生菌免血)	1.0cc	5	0.5cc	5MLD	5	5%	5%	5%
超音波20分免血	"	"	"	"	"	5%	5%	5%
同上 +0.4% ほるまりん免血	"	"	"	"	"	3%	2%	2%
同上 +0.5% 石炭酸免血	"	"	"	"	"	5%	4%	3%

第 3 章 實驗成績ノ總括的觀察並ニ結論

以上實驗成績ノ總括的觀察ヲ試ムルニ次ノ如シ。

1. これら本型、中間型及ビ異型菌生菌浮游液ニ超音波ヲ作用セシメタルニ10分時作用ニテ完全ナル死滅ヲ來セリ。

2. 超音波作用ノこれら各抗原ニ及ボス影響ニ關スル實驗成績ヲ一括シテ示セバ第22表ノ如シ。

(イ) 超音波抗原ノ被凝集性ハ作用時間ニ比例シ減弱ヲ來シ、殊ニ0.4%ほるまりん添加抗原ニ於テ影響大ナリ。本型菌ニ於テハ20分時作用ニテ $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{32}$ 低下、中間型ハ $\frac{1}{64}$ — $\frac{1}{128}$ ノ低下ヲ示スモ異型菌ニ於テハ5分時作用デ全ク被凝集性ノ消失ヲ來セリ。

(ロ) 超音波抗原ノ抗體吸收能力モ亦超音波ノ作用時間ニ比例シ不良トナレリ。超音波20分時作用ニ於テ對照ノ $\frac{1}{2}$ ノ減弱ヲ示ス、コノ場合モ亦0.4%ほるまりん添加抗原ハ前者ニ劣レ

リ。

第 22 表 超音波ノ抗原ニ及ボス影響(總括的成績)

抗原ノ種類	供試菌株	超音波作用時間	防腐劑添加			對 照 (生 菌)
			—	0.4% ほるまりん	0.5% 石 炭 酸	
被 凝 集 性	本 型	20分	1600($\frac{1}{8}$)	400($\frac{1}{32}$)	1600($\frac{1}{8}$)	12800(1)
	中間型	"	200($\frac{1}{64}$)	100($\frac{1}{128}$)	200($\frac{1}{64}$)	12800(1)
	異 型	"	—	—	—	6400(1)
凝 集 素 吸 收 能	本 型	"	160($\frac{1}{2}$)	320($\frac{1}{4}$)	160($\frac{1}{2}$)	80(1)
	中間型	"	320($\frac{1}{2}$)	320($\frac{1}{2}$)	320($\frac{1}{2}$)	160(1)
	異 型	"	160($\frac{1}{2}$)	320($\frac{1}{4}$)	160($\frac{1}{2}$)	80(1)
補 體 結 合 素	本 型	"	640 (1)	640 (1)	640 (1)	640(1)
	中間型	"	320 (1)	320 (1)	320 (1)	320(1)
	異 型	"	160 (1)	160 (1)	160 (1)	160(1)

(ハ) 補體結合性抗原ニ於ケル影響ハ20分時作用ニ於テハ對照ト殆ド大差ナク30分或ハ40分時以後ニ於テ對照ノ $\frac{1}{2}$ 低下ヲ來ス、コノ場合ハ防腐劑添加ノ影響大ナラズ。

3. 超音波殺菌わくちん及ビ同わくちん防腐劑添加ノ抗體產生能力ヲ生菌わくちんと比較セル成績ヲ一括シテ第23表ニ示セリ。

第 23 表 超音波ノ抗體產生能ニ及ボス影響(總括的成績)

抗體種類	わくちん種類	免 疫 血 清 種 類		
		本 型	中 間 型	異 型
凝 集 價	20分超音波わくちん	6400—12800 (1)	6400—12800 (1)	1600—3200 ($\frac{1}{2}$)
	同上+0.4%ほるまりん	3200—6400 ($\frac{1}{2}$)	6400 ($1-\frac{1}{2}$)	800 ($\frac{1}{8}$)
	同上+0.5%石炭酸	6400 ($1-\frac{1}{2}$)	6400—12800 (1)	1600 ($\frac{1}{2}-\frac{1}{4}$)
	生菌(對照)	6400—12800 (1)	6400—12800 (1)	3200—6400 (1)
補 體 結 合 價	20分超音波わくちん	160—320 (1)	160 ($\frac{1}{2}$)	80—160 ($\frac{1}{2}$)
	同上+0.4%ほるまりん	160 ($1-\frac{1}{2}$)	160 ($\frac{1}{2}$)	80 ($\frac{1}{2}-\frac{1}{4}$)
	同上+0.5%石炭酸	160 ($1-\frac{1}{2}$)	160 ($\frac{1}{2}$)	80—160 ($\frac{1}{2}$)
	生菌(對照)	160—320 (1)	320 (1)	160—320 (1)
沈 降 價	20分超音波わくちん	200 (1)	160 (1 以下)	200—320 (1)
	同上+0.4%ほるまりん	100 ($\frac{1}{2}$)	80 ($\frac{1}{2}$)	160 ($\frac{1}{2}$)
	同上+0.5%石炭酸	160—200 ($\frac{1}{2}$)	80 ($\frac{1}{2}$)	160 ($\frac{1}{2}$)
	生菌(對照)	200—320 (1)	200 (1)	320 (1)
溶 菌 價	20分超音波わくちん	64萬—256萬($1-\frac{1}{4}$)	256萬 ($1-\frac{1}{2}$)	64萬 ($\frac{1}{4}$)
	同上+0.4%ほるまりん	32萬 ($\frac{1}{8}$)	128萬 ($\frac{1}{2}-\frac{1}{4}$)	4萬 ($\frac{1}{84}$)
	同上+0.5%石炭酸	128萬 ($\frac{1}{2}$)	256萬 ($1-\frac{1}{2}$)	16—64萬 ($\frac{1}{4}-\frac{1}{16}$)
	生菌(對照)	256萬 (完全殺菌)	256—512萬 (1)	256萬 (1)

(イ) 凝集素産生成績＝就キ觀ル＝本型菌＝於テハ超音波抗原血清ハ生菌血清ト同價ナレド防腐劑添加抗原血清ハ對照ノ $\frac{1}{2}$ ナリ。中間型菌免疫血清＝於テハ0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ生菌血清ノ $\frac{1}{2}$ ノ凝集價ヲ示シタレド異型菌免疫血清＝於テハ超音波抗原血清ハ生菌血清ノ $\frac{1}{2}$ ノ凝集價ニシテ、0.5%石炭酸添加抗原之ニ次ギ、0.4%ほるまりん添加抗原ハ對照ノ $\frac{1}{8}$ ニシテ、最モ凝集價劣レリ。

(ロ) 補體結合性物質産生成績＝於テ、本型菌ヲ抗原トセル場合ハ生菌免疫血清及、超音波抗原血清ハ略々同價ナレド防腐劑添加抗原血清極メテ若干減弱ヲ示ス。中間型免疫血清＝於テハ超音波抗原血清ハ生菌血清ノ $\frac{1}{2}$ ニシテコノ場合防腐劑ノ影響殆ド認メジレズ。異型菌免疫血清＝於テモ略々コレト同様ナレドモ0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ極メテ若干減弱セリ。

(ハ) 沈降素産生成績＝就テ觀ルニ、各型菌共＝超音波抗原血清ハ生菌免疫血清ト大差ナキモ、防腐劑添加抗原血清ハ對照ノ $\frac{1}{2}$ 低價ヲ示セリ。

(ニ) 溶菌素産生成績＝就テ觀ル＝本型菌及ビ中間型菌免疫血清＝於テハ超音波抗原血清及0.5%石炭酸添加抗原血清ハ對照血清ノ $1-\frac{1}{2}$ 或ハ $\frac{1}{4}$ 低下ヲ示ス＝對シ0.4%ほるまりん添加抗原血清ハ更ニ減弱大ナリ。異型菌免疫血清＝於テモ亦之ト略々同様ノ關係ヲ示シ殊ニ0.4%ほるまりんノ影響著明ナリ。

4. 感染防禦試驗成績＝關シテハ第24表ヲ作製セリ。

第 24 表 感染防禦試驗(總括的成績)

免 疫 材 料		豫 防 接 種		感染菌量	耐 過 海 濕 數		
					本 型	中間型	異 型
自動免疫	生 菌	0.25cc	0.5cc	10M.L.D (2週間後)	5%	5%	5%
	20分時作用わくちん	0.8	1.0	"	5%	5%	4%
	同上+0.4%ほるまりんわくちん	"	"	"	3%	2%	3%
	同上+0.5%石炭酸わくちん	"	"	"	4%	3%	4%
他動免疫	生 菌 免 血	血 清 1.0cc		5M.L.D (24時間後)	4%	5%	5%
	20分作用わくちん免血	"		"	3%	4%	5%
	同上+0.4%ほるまりん免血	"		"	3%	3%	3%
	同上+0.5%石炭酸免血	"		"	4%	4%	3%

自動免疫試験＝於テ、10M.L.Dヲ接種セル場合ハ超音波わくちんハ生菌免疫ト略々大差ナキ防禦力ヲ示ス。防腐劑添加ノ影響ハ0.5%石炭酸添加ハ極メテ微弱ナレド0.4%ほるまりん添加ハ前者ニ比シ稍々大ナル如シ。

他動免疫試験＝於テ、生菌5M.L.D接種セル場合ハ、超音波抗原血清ハ生菌免疫血清ト略々大差ナシ、コノ場合モ亦防腐劑添加ノ影響ハ0.4%ほるまりんニ於テ大ナル如シ。

以上總括的觀察ヨリ次ノ如キ結論ヲ下サントス。

1. 超音波10分時作用ニテこれら各型菌ハ完全死滅ヲ招來ス。
2. 超音波ノこれら抗原ニ及ボス影響ハ一般ニ作用時間ニ正比例シ抗原性ノ減弱ヲ來ス、補體結合原性ニ對シテハ影響弱度ナレドモ、被凝集性及ビ抗體吸收能力ニ對シテハ稍々著明ナリ、而シテ防腐劑ノ影響ハ0.4%ほるまりんニ於テ殊ニ大ナリ。
3. 抗體產生能ニ關シテハ超音波抗原血清ハ生菌免疫ト略々同等ナリ、防腐劑添加ノ影響ハ0.5%石炭酸ノ場合ハ少ナキモ、0.4%ほるまりん添加ニ於テ稍々著明ナリ。コノ關係ハ沈降素或ハ溶菌素產生能ニ於テ明ナリ。
4. 感染防禦試驗ニ於テハ生菌免疫血清最モ優良ニシテ、超音波抗原之ニ次グ。防腐劑添加ノ場合ハ0.4%ほるまりん添加抗原稍々前者ニ劣レリ。

第 4 章 全編ノ總括的觀察並ニ結論

超音波ヲ腸ちふす各型菌及ビこれら各型菌ノ生菌浮游液ニ之等ガ完全ニ死滅スルマデ作用セシメ、抗原性、抗體產生能及感染防禦試驗ニ關シ、防腐劑ヲ添加セルモノト然ラザルモノトノ實驗成績ノ總括的觀察ヲ試ムルニ次ノ如シ。

1. 超音波作用ニヨル菌ノ死滅時間ハ腸ちふす菌ニ於テハ菌型ニヨリ異リViR型菌ハ30分、V型菌及H型菌ハ40分時ニテ完全殺菌、O型菌ハ60分時作用ニテモ尙一部菌ノ生存ヲ示ス。これら各型菌ハ10分時作用ニテ完全死滅ヲ來セリ。
2. 超音波ノ抗原性ニ及ボス影響ハ一般ニ超音波ノ作用時間ニ正比例シ減弱ヲ來セリ。防腐劑添加ノ影響ハ腸ちふす菌ニ於テハVi抗原ニ對シ0.5%石炭酸ヲ以テセル場合大ナレド、O及ビH抗原ニ對シテハ全ク防腐劑ノ影響認メラレズ。これら菌ニ於テハ0.5%石炭酸ノ影響弱度ナレドモ、0.4%ほるまりん添加ニ於テハ稍々大ナル如シ。
3. 超音波殺菌わくちんノ抗體產生能力ハ生菌免疫ト略々同等ニシテ、防腐劑添加ノ影響ニ關シテハ腸ちふす菌ニ於テハVi抗體產生能ニ對シ、0.5%石炭酸添加ノ場合減弱大ナリ。これら菌ニ於テハ0.4%ほるまりん添加ノ影響ヲ認メタリ。殊ニ溶菌素產生能ニ於テ著明ナリ。
4. 感染防禦試驗ノ結果ヲ觀ルニ第1位ハ生菌免疫、第2位ハ超音波わくちん、次ハ防腐劑添加わくちんニシテコノ場合、腸ちふす菌ニ於テハ0.5%石炭酸添加わくちん最モ劣ル、而シテこれら菌ニ於テハ0.5%石炭酸ノ影響大ナラザルモ、0.4%ほるまりん添加ノ場合ハ防禦力最モ減弱セリ。

以上總括的觀察ヨリ次ノ如キ結論ヲ下サントス。

1. 超音波作用ニヨル菌ノ死滅時間ハ腸ちふす菌ハ略々30分--60分時、これら菌ハ10分時

トス。

2. 超音波作用ノ抗元ニ及ボス影響ハ作用時間ニ比例シ減弱シ、防腐劑ヲ添加スルコトニヨリ更ニ大ナリ。

3. 超音波わくちん及防腐劑添加わくちんノ抗體產生能及ビ感染防禦試験ノ結果ハ超音波殺菌わくちんハ生菌免疫ト略々同等ニシテ、防腐劑添加ノ影響ハちふす菌ニ於テハ0.5%石炭酸、これら菌ニ於テハ0.4%ほるまりん添加ノ場合、減弱大ナル如シ。

要之、著者ハ生菌浮游液ニ超音波ヲ菌ガ完全ニ死滅スルニ至ル迄作用セシメ、更ニ何等ノ防腐劑ヲ添加スルコトナク之ヲ抗元トシテ使用シ優秀ナル成績ヲ收メタリ。

稿ヲ終ルニ臨ミ常ニ御懇薦ナル御指導ト嚴正ナル御校閲ヲ賜リタル恩師渡邊博士並ニ兒玉威博士ニ感謝ヲ捧グ。

主 要 文 献

- 1) 村野, 日本微生物學會雜誌, 35卷, 3號.