淋菌及び軟性下疳菌の液狀培養について

第 2 篇

井 上 幸 助

傳染病研究所(指導 細谷省吾教授)

〔受付: 11 月 6 日 1950 年〕

軟性下疳菌は, 1889 年 Ducrey 氏によつて発見せられたのであるが, 1913 年伊藤徹太氏は初めて, 患者の陰部下疳及横痃が果して軟性下疳に由来するものであるか否かを鑑別するために皮内反應用抗原¹⁾²⁾として, 軟性下疳菌ワクチンを使用した。その卓越した診断的價值に対しては, 一般に承認せられ陰部下疳或は横痃を有す

て, 家兎及馬を免疫し, その血清中に特異性凝集素, 沈降素を証明したが, 茲では主として液狀培養の無菌的濾液の各分割を, 軟性下疳患者の皮内に注射した成績を記載する。なお観察は細谷教授等の淋菌の水様性菌体成分⁴⁾⁵⁾⁶⁾の皮内反應にない即時反應と遅発反應とを區別して觀察した。即時反應とは, 注射後 30 分後の反應,

表 1

軟性下疳菌培養(上野株) 5 日間 37°C 液狀培養

る患者に必らず, この伊藤氏反應を試みる事が常識になつた。

さきに私³⁾は, 軟性下疳菌の液狀培養上清を使用し

INOUE, Kosuke: Studies on the cultivation of gonococcus and Ducrey's bacillus in fluid media. Jap. J. Bact. 6(2) 85-88, 1951.

表2 軟性下痢菌抗原の軟性下痢患者に対する反應

患 者		即 時 反 應			遅 發 反 應		
氏 名	年齢	Dpt	D _F	伊東氏抗原	Dpt	D _F	伊東氏抗原
■■■■■	19	—	—	—	0.5×0.5cm 發 赤	—	1.5×1.5cm 發 赤
■■■■■	21	—	—	—	—	—	1.0×1.0cm 發 赤
■■■■■	22	1.0×1.0cm 發 赤	—	—	0.5×0.5cm 發 赤	0.5×0.5cm 發 赤	6.0×7.0cm 發赤水泡
■■■■■	16	1.0×1.0cm 發 赤	0.6×0.5cm 發 赤	0.5×0.5cm 發 赤	0.5×0.5cm 發 赤	1.0×1.0cm 發 赤	1.0×1.5cm 發 赤
■■■■■	13	1.0×1.2cm 發 赤	1.2×1.2cm 發 赤	—	0.5×0.5 2.0×2.0 發 赤	1.5×1.3cm 發 赤	5.0×5.0cm 發赤水泡
■■■■■	20	1.2×1.2cm 發 赤	2.0×2.0cm 發 赤	—	0.5×0.5 2.0×2.0 發 赤	1.8×1.8cm 發 赤	5.0×5.0cm 發 赤
■■■■■	29	2.5×2.0cm 發 赤	1.2×2.5cm 發 赤	0.5×0.5cm 發 赤	0.5×0.5cm 發 赤	—	1.0×1.0 5.0×5.0 發 赤
■■■■■	20	—	1.0×1.0cm 發 赤	0.6×0.6cm 發 赤	0.5×0.7 1.5×1.5 發 赤	0.5×0.5cm 發 赤	3.0×3.8cm 發 赤
■■■■■	35	—	—	—	1.0×1.0cm 發赤水泡	0.5×0.7cm 發 赤	1.0×1.0 4.0×4.0 發 赤
■■■■■	21	1.2×1.2cm 發 赤	1.5×1.5cm 發 赤	—	0.5×0.5 2.0×2.0 發 赤	—	0.5×0.5 5.0×5.0 發赤水泡
■■■■■	22	—	1.7×1.7cm 發 赤	—	0.5×0.5cm 發 赤	—	1.0×1.0cm 發 赤
■■■■■	18	2.5×2.5cm 發 赤	1.0×1.0cm 發 赤	1.2×1.3cm 發 赤	1.0×1.0cm 發 赤	—	2.0×2.0cm 發赤水泡
■■■■■	19	1.0×1.0cm 發 赤	1.8×1.8cm 發 赤	—	1.0×1.0cm 發 赤	—	2.0×2.0cm 發 赤

(註) Dpt は軟性下痢菌トリクロール醋酸沈澱

D_F は軟性下痢菌トリクロール醋酸上清

0.5×0.5 は直徑 2.0 糎の發赤の中に更に 0.5 糎の著明なる發赤を示す。0.5 糎以下の薄い
2.0×2.0 發赤は(—)とせり。
發 赤

遅發反應とは、即時反應消失後約 12 時間後に再び起る反應にして、24 時～48 時間まで觀察した。

軟性下痢菌液状培養上清抗原の製法(表 1)

傳研ワクチン室から分與された上野株を使用しさに發表した Miller のヘモグロビン加ブイオン³⁵日間 37°C 培養液の遠心上清 400 cc を、細谷教授等の菌体外毒素精製法⁷⁾によつて処理した。即ち 50 gr/dl ZnCl₂ を 1/100 量 37°C 加温しながら加え、上清と沈澱とに分け、上清に

ZnCl₂ を其以上滴加しても沈澱を生じない事を確め、遠心して上清を傾斜し、沈澱を 1 回蒸溜水で洗い、10% Na₂HPO₄ 溶液 1/20 量を加え、pH 8.0～3.4 として、37°C 水溫中で充分攪拌すると黄褐色の沈澱は一旦溶けて、すぐに磷酸亜鉛の白色の沈澱を生じ、透明な上清が得られる。此上清を一夜氷室に保存し沈澱を吸引濾過して除去し、褐色透明な濾液を得る。0°—2°C に一夜靜置して、析出した磷酸ナトリウムの結晶を除き、濾液に 50 gr/dl

表 3 軟性下疳菌抗原の健康者に対する反應

健康人	即 時 反 應				—			
	Dpt	Gpt	D _F	伊東氏抗原	Dpt	Gpt	D _F	伊東氏抗原
太 田 原	1.3×1.3cm 發 赤	1.3×1.3cm 發 赤	—	—	—	—	0.5×0.5cm ウスイ發赤	0.7×5.7cm 發 赤
村 井	—	—	—	2.1×2.3cm 發 赤	—	—	1.3×1.3cm グスイ發赤	$\frac{0.5 \times 0.5}{3.0 \times 3.0}$ 發 赤
澤 村	—	—	—	2.0×2.0cm 發 赤	—	—		0.7×0.7cm 發 赤

(註) Dpt は軟性下疳菌のトリクロール醋酸 pH 4 の沈澱
D_F は軟性下疳菌のトリクロール醋酸 pH 4 の上清
Gpt は淋菌のトリクロール醋酸 pH 4 の沈澱
 $\frac{0.5 \times 0.5}{3.0 \times 3.0}$ cm は直徑 3.0 種の中に更に 0.5 種浸潤發赤を示す
發 赤

トリクロール醋酸を pH 4.0 迄加えて、上清と沈澱とに分割した。この沈澱を少量の蒸留水に浮べ、NaOH 水溶液で中和溶解すると、40 cc の黄褐色透明の溶液が得られる。之を凍結乾燥して保存する。上清を、NaOH 水溶液で中和し硫酸安門結晶を $\frac{1}{3}$ 飽和迄加え、37°C 2 時間放置後生じた褐色の沈澱を取り、少量の蒸留水に溶解して、Carl Schleicher & Schüll の透析膜に置いて、一夜大量の蒸留水に対して透析を行い、その内液を凍結乾燥して保存する。此凍結乾燥粉末を最初の培養液量の $\frac{1}{100}$ 量の滅菌生理的食塩水に溶かし、使用の直前 100 倍に稀釈して、その 0.1 cc を患者の上膊或は前膊屈側の中央部皮内に接種した。尙同時に、傳研製軟性下疳菌ワクチン 0.1 cc を接種して観察した。

患者に対する反應(表 2 及 3)

軟性下疳患者に対する 48 時間の判定即ち遅発反應は、トリクロール醋酸を以て pH 4 で沈澱した劃分では、13 名中 12 名陽性 1 名陰性(陽性率 92.2%)、pH 4 で沈澱しない劃分では 6 名陽性、7 名陰性(陽性率 46.1%)を示し、対照の軟性下疳に全く関係のない健康者に対しては pH 4 で沈澱する劃分は、3 名中全例に陰性で、pH 4 で沈澱しない劃分は 3 名中 2 名陽性、1 名陰性を示した。

即時反應は、pH 4 で沈澱した劃分では、13 名中 8 名陽性、5 名陰性(陽性率 61.6%)、pH 4 で沈澱しない劃分では、9 名陽性、4 名陰性(陽性率 69.2%)を示し、対照の健康者では、pH 4 で沈澱する劃分は、3 名中 1 名陽性、2 名陰性、pH 4 で沈澱しない劃分では、全例に於て陰性である。これ等の患者は、すべて接客を業としているもので、既往に於ける供述は必ずしも信は置け

ない。又罹患後の日数が比較的短いためか、100%の陽性は得られなかつたが、後述する本菌ワクチンを用いた伊藤反應よりも特異性が却つて高いことは注目値する。渡辺繁彌氏⁹⁾が伊藤氏反應の実験に於て、罹患後 7 日では陰性のものが、10 日目に陽性に現れ、罹患後 4 日では陰性のものが、16 日目に陽性となつたと報告して居る。

傳研製ワクチン即ち伊藤氏抗原の接種後 48 時間の遅発反應は、13 名中全例に於て陽性を示したが、対照の健康者 3 名も悉く陽性を示した。即時反應では患者 13 名中 4 名陽性、9 名陰性(陽性率 30.7%)で、対照の健康者では 3 名中 2 名陽性、1 名陰性を示した。即ち、ワクチンを以てする伊藤反應の特異性については、再検討を要するものと云えよう。以上の様に、本菌ワクチンを皮内注射すると、48 時間目に於ける成績は、軟性下疳患者は勿論この疾病の既往症ない者にも全例陽性に現れた。この問題は今後例を重ねて報告するであらう。

即ち従来の伊藤氏抗原は軟性下疳患者に対して陽性率が高く、一見その特異性が認められる様に見えるが、健康者にも少数ではあるが、すべてに陽性を示したから特異性反應と云う事はできない。所が、軟性下疳菌液培養抗原の、トリクロール醋酸の pH 4 で沈澱する劃分は、遅発反應に於て、軟性下疳患者に高率に陽性反應を示し、現在並既往に全く軟性下疳を有せざる健康者に注射した場合、すべて陰性に反應したから特異性抗原なりと云う事ができよう。今後例数を重ねて、特異性の問題を充分に検討したいと思つている。

結 論

1) 軟性下疳菌の液状培養からの抗原を、皮内に接種した場合に軟性下疳患者の遅発反應に於て、トリクロール醋酸の pH 4 で沈澱する劃分が、92.2% の高率を示し、其特異性が明に認められる。即ち伊藤氏反應を行う場合、液状培養上清のトリクロール醋酸の pH 4 で沈澱する劃分が最も有力な役割を演ずるものと思われる。

2) 軟性下疳菌ワクチン即ち伊藤氏抗原を軟性下疳患者 13 例に皮内接種し、48 時間に觀察した場合、全例に陽性反應を呈するが、軟性下疳に全く関係のない健康者 3 名にも、すべて陽性反應を呈した。即ち此反應のみを以て軟性下疳を診断する事は非常に危険なものと考えられる。

終りに本研究の御提案並に終始御懇篤な御指導を賜りました恩師細谷教授に心から感謝致します。尙患者の使

用に御好意を寄せられた安藤畫一教授並に横浜屏風浦病院長に深謝致します。

文 献

- 1) 寺田康：細菌学雑誌 384 号及 387 号，昭和 3 年。
- 2) 鈴木餘四郎：実験医学雑誌 21 卷 12 号，22 卷，5.6 号，昭和 12~13 年。
- 3) 井上幸助：熱帯医学研究，第 1 卷，第 3~4 号，昭和 18 年。
- 4) 眞柄・鈴木・横井・細谷：東京医事新誌，3106 号，昭和 13 年。
- 5) 眞柄・細谷・鈴木・安藤：東京医事新誌，3156 号，昭和 14 年。
- 6) 細谷・眞柄・安藤・鈴木：東京医事新誌，3159 及 3160 号，昭和 14 年。
- 7) 細谷・宮田：実験医学雑誌，14，115，(1930)。
- 8) 渡辺繁彌：細菌学雑誌，510 号，昭和 13 年。