Treponema pallidum Immobilization Test の研究

第2報 培養条件及び反應の敏感度について

松 井 清 治 富 川 栄 一

東京都立衛生研究所細菌部 (部長 川路利順博士)

[受付: 1月8日 1954年]

前報¹⁾に於て吾々は主として *Treponema pallidum* (T.p と略記) の生存試験についての諸結果を報告し, その際 50%緩衝食塩水加入血清メヂウム 使用により T.p の生存が良い事を述べたが, その後更に本人血清メヂウムを中心として培養条件に種々検討を加えた結果について報告したい。

実験成績

I) メヂウムについて

1) 人血清 (不活化) に等量に (i) 緩衝食塩水 (ii) Tyrode 液 (iii) Glucosol 液²⁾ ((ii) の内容から重曹を除く) を各々加えたメヂウム及び (iv), (ii)+Cysteine HCl, (v), (iii)+Cystein HCl 各メヂウムで T.p の生存試験を行つた結果 第1図 a に示す如く吾々が前報で用いたメヂウムが T.p の生存に最も良く (iii), (v) が之に次ぎ, (ii), (iv) は劣つた。

2) 液状チオグリコール酸塩培地³⁾ から寒天及びカゼイン胨消化物を除き, 代りに dl-phenylalanine を 0.01 g/l の割合に加えた変法培地⁴⁾を用い, 吾々の従来の培養法¹⁾⁵⁾とローソク法⁷⁾とを併用して比較実験した結果は第1表に示す如くローソク培養法の結果は良くなかった。液状チオグリコール酸塩変法培地を用い吾々の従来の培養法で N₂, CO₂ 混合ガスの下で培養すると T.p の生存数は少々多くなるが, 人血清使用メヂウムには及ばなかった。

II) 浸出方法について

浮遊液中の T.p 数を多くするのに如何なる浸出法が効果的であるかについて試みた実験成績を第2表に示した。浸出に凍結融解を利用すると浮遊液中の T.p 数はかなり多いことが認められたが, 視野のよごれが著しく, T.p 数のカウントに非常な障碍となり且つ第1図 b に示す如く T.p の生存も従来の吾々の浸出法¹⁾⁵⁾に劣っていた。振盪は従来の廻転式 (毎分約 500 廻転) と往復

式 (毎分約 230 廻転) とを比較したが往復式の急激な振盪法によつた方が浮遊液中の T.p 数は多いことが認められ, 又之によつて T.p の生存に影響が見られない点からも優れていた。尙舉丸摘出後直ちに CO₂ ガス中で細薄片を作製して浸出を行つた際に浮遊液中の T.p 数

MATSUI, Seiji & FUKAWA Eiichi: Studies on the Treponemal Immobilization Test. (2) Condition of cultivation and sensitivity of test. Dept. Bact., Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences. — Jap. J. of Bact., 9(3), 219-221, 1954.

第1表 培養条件を変えた場合の T.P. 動%

メヂウム	T.P.浸出方法	ローソク法			ツンベルグ管 N ₂ 95% CO ₂ 5%		
		浮遊液	活性補体 + 浮遊液	非活補体 + 浮遊液	浮遊液	活性補体 + 浮遊液	非活補体 + 浮遊液
チオグリコレート変法メヂウム	睾丸細片そのまま	0	0	0	0	0	60
〃	輪切振盪	0	0	0	0	52	28
50%緩衝液加家兎血清	〃	32	24	28	80	84	60
〃 人血清	〃	80	60	56	100	100	100

第2表 凍結振盪による T.P. の浸出

区分	凍結	睾丸	振盪	1視野平均 T.P.数	1時間後の T.P.動%	視野のよごれ
A 1	(一)	輪切	廻轉	1.5	100	—
		〃	往復	3.7	100	+
B 1	(十)	大きいまま	廻轉	2.0	80	+
		輪切	往復	11.4	89	++

A 1¹, B 1¹の符号は第1図 b と関連する

が多く、生存も7日目で80%以上を示した例もあつた。

III) メヂウムの感度について

人血清使用メヂウムと他のメヂウムを併用し、抗体稀釈による各メヂウム使用の際の反応への影響—感度について検討した。第2図に示す如くネルソンメヂウムでは抗体稀釈1:2560に至り初めて T.p の生存曲線の上昇が見られたが、人血清メヂウムでは抗体稀釈1:40で

第2図 メヂウムの Sensitivity について

生存曲線は上昇を示し1:160では対照例と略々等しい生存が見られた。家兎血清メヂウム使用例では抗体1:10稀釈(原)において40%の生存 T.p が見られ、更に抗体稀釈に伴って生存 T.p 数は対照例に近くなった。

考案

人血清使用メヂウムが T.p の生存に優れている事は

吾々が繰返して行つて来た実験成績から明であり、且つ Magnuson⁹⁾ が述べている様に不活化人血清が20~40%に達すると T.p の生存に阻害的に働くと云う現象は認められなかつた。各メヂウム使用の際の反応の感度について検討した結果では、各メヂウムの T.p に対する生存条件の異同をひとまづ切り離して考えるとネルソンメヂウムの感度が高い様であつた。T.p の生存に良いメヂウム使用の際にも尙“false negative”の起る可能性も考えられ、此の点は更に検討中である。Saurino⁷⁾ は T.P.I. Test に用いるメヂウムの研究において海猿血清及び人血清が T.p の生存に良い事を述べ、とりわけ海猿血清を過剰に用いると T.p の生存には良いが、T.p を不動にする抗体との反応を阻害するのではないかと暗示を与え、更に家兎血清から浸出した T.p に対し、正常家兎血清は特異的な反応を示さないの良くないことを指摘している。Nelson⁸⁾ は T.P.I. Test の“false negative”は被検血清の抗補体作用が否定出来る場合は未知の理由によつて浮遊液が非常に抗補体性となる為であろうと考えている。吾々も上述の諸点に該当すると思われる経験を屢々繰返し、之を解明すべく補体の影響について検討しその一部は既に報告したが、更に得られた実験成績と纏めて次の機会に報告し度い。

綜括

1) 人血清に等量に (1) 緩衝食塩水 (2) Tyrode 液, (3) Glucosol 液〔(2) から重曹を除く〕を加えたメヂウム及び (4), (2) + Cysteine HCl, (5), (3) + Cysteine HCl 各メヂウムで *Treponema pallidum* の生存試験を行つた結果では (1) が良く (3), (5) が之に次いだ。チオグリコレート酸塩変法培地を用いローソク法で培養した結果は良くなかつたが、吾々の用いて来た Thunberg 管により、N₂, CO₂ 混合ガス下で培養を行うと生存 T.p 数は少々多くなるが人血清メヂウムには及ばない。

2) T.p の浸出に凍結融解を利用すると視野中の T.p 数は多くなるが視野が汚く、生存も吾々の従来の浸出法に劣る。振盪は廻轉式を従来用いて来たが、急激に往復

振盪するとメヂウムに出る T.p 数は多くなる。

3) 人血清メヂウムが T.p の生存によいことは再度明にされたが、此のメヂウムの敏感度について、家兎血清メヂウム、ネルソンメヂウムを併用し抗体稀釈が各メヂウムを使用した反応に及ぼす影響を見たが、敏感度はネルソンメヂウムが最も高く、人血清メヂウムを用いる上に此の点の検討が更に必要なものと思われる。

終りに臨み御助言御校閲を賜った細菌部長川路博士及び御援助を戴いた予防衛生研究所遠山雄三博士に感謝します。尙本論文の要旨は昭和 28 年 11 月第 8 回日本細菌学会関東支部総会に於て報告した。

文 献

- 1) 松井清治, 富川栄一: 日本細菌学雑誌, 8 (6), 651~656, 1953.
- 2) Parker, R. C.: Method of Tissue Culture, 2nd ed, 79 p. 1950.
- 3) Difco Manual 9th ed, 195p 1953.
- 4) 佐藤広之, 市川洋一, 山口勝一: 性病, 37 (2), 84~88 p. 1951.
- 5) 富川栄一: 衛生検査, 2 (4) 17~23. 1953.
- 6) Thompson, F. A., Breenberg, G. Magnuson, H. J. &: J. Bact., 60, 473~480. 1950.
- 7) Saurino, V. R.: J. Syph. Gonorr. and Ven. Dis., 37 (2), 112. 1953.
- 8) Nelson, R. A.: J. Immunol, 66, 679. 1951