

原 著

BCG「ワクチン」ノ製法並ニ保存ニ關スル研究

(第一報)

財團法人結核豫防會結核研究所

柳 澤 謙
大 林 容 二
諏 訪 紀 夫
金 光 正 次

目 次

- 第1章 諸 論
- 第2章 BCGノ菌塊ノ細査法ニ就テ
手ズリ法ニ依ル場合ト器械ズリ法ニ依ル場合ト
ノBCG「ワクチン」ノ生菌量ノ比較
第1節 實驗方法
第2節 成 績
- 第3章 BCGノ浮游液トシテ蒸留水又ハ生理的
食鹽水ハ4倍稀釋 Santon 氏培地ニ比ベテドレ
程BCGノ發育力ノ保存ニ劣ルカ(培養實驗)
第1節 實驗方法
第2節 成 績
- 第4章 BCGノ浮游液トシテ蒸留水、生理的食
鹽水及ビ4倍稀釋 Santon 氏培地ノ何レガBC
Gノ免疫力保存ニヨイカ(動物實驗)
第1節 實驗方法
第2節 成 績
- 第5章 BCGノ浮游液トシテ生理的食鹽水ト4
倍稀釋 Santon 氏培地ト何レガBCGノ「ツベル
クリン・アレルギー」賦子性保存ガアルカ(人體
接種所見)
第1節 實驗方法
第2節 成 績
- 第6章 BCG「ワクチン」ノpH及ビ保存溫度ト
菌ノ自然凝集トノ關係
第1節 實驗方法
第2節 成 績
- 第7章 保護膠質ハBCGノ自然凝集ヲ阻止スル
カ
第1節 實驗方法
第2節 成 績
- 第8章 總 括
参考文献

第1章 緒 論

結核ノ豫防接種「ワクチン」トシテ BCG が發見
セラレテカラ既ニ20年以上ヲ經過シタ今日幾
多ノ研究カラ漸クソノ有效ナルコトガ一般ニ認

メラレルニ至ツタ。

佛國ニ於テハ主トシテ本「ワクチン」ヲ新生兒ニ
經口のニ使用シテキルガ我が國ニ於テハ「ツベ

ルクリン」反應陰性者デ既往症ニ結核ナキモノニ主トシテ皮下又ハ皮内ニ接種スル方法ガ試ラレテキルノデ我が國デハ佛國ニ於テ行ハレテキル製法ニソノ儘準ジテ作ツタ「ワクチン」デハ満足シ得ナイノデアル。

ソノ大キナ理由ノ一ツハ佛國法デハ、我々モ追試シタノデアアルガ、如何ニ努力シテモ均等ナBCG浮游液ヲ作り得ナイト云フコトデアアル。言葉ヲ換ヘテ云ヘバ、コノ方法デハBCGノ菌體ガ一ツ一ツバラバラニナツタ懸濁液ガ得ラレナイデ、培養基カラ得タBCGノ菌塊ヲ可成リ小サナ然シ肉眼デ認メ得ル程度ノ菌塊ニ挫クニ過ギナイ。從ツテ斯様ナBCG浮游液ハ製造後數分間靜止スレバ菌ノ大部分ハ沈澱シテシマウ。然シ經口的ニ用ヒル場合ニハ新生兒ニ於テサヘ1回10mg宛1日隔キニ3回即チ全量30mg飲マセルノデアアルカラ多少ハ菌塊ノ差異ヤ菌體ノ細挫法ニ不完全ナ點ガアツテモ大シタ支障ヲ來サナイヤウニ思ハレル。何トナレバBCGガPasteur研究所デ發見セラレソノ「ワクチン」製法モソコデ一度考察サレテカラ十數年ヲ經テキナガラ、ソノ間、BCG「ワクチン」ノ製法ニ關スル劃期的研究ガ殆ンド發表サレテキナイカラデアアル。又保存ノコトニ關シテモ冷暗所ニ貯ヘレバ製造後10日間ハ有效トサレテキルノミデソレニ關スル詳シイ研究發表等ニ接シタコトガナイ、余等ハBCGノ研究ヲ始メタ頭初カラ佛國式製法ハ皮下接種用「ワクチン」ヲ製造スル場合ニハ採用出來ナイコトヲ經驗シ、ソノ製法ト同時ニソノ保存法ヲ研究スルニ至ツタ次第デアアル。

理想的の皮下接種用「ワクチン」トシテハ(1)一定量(例ヘバ1cc)ノ或浮游液中ニイッデモ必ず一定量(例ヘバ0.04mg)ノBCGノ生菌ヲ含ムコト(2)菌體ハ一ツ一ツバラバラニナツテキルコトト(1)ト(2)トハ「ワクチン」ノ效力又ハ副作用ガ常ニ一定デアアルタメニ必要ナ事柄デアアル(3)製造後長ク生菌量ノ減ラナイコト(4)注射局所ニ不快感ヲ與ヘナイコト(5)雜菌ノ絶對ニ混入

シナイコト又僅カニ混入シテモソノ浮游液中デハ發育シナイコト、等ノ條件ヲ滿スモノガ望マシイノデアアル。以上ノ條件ヲ滿ス「ワクチン」ヲ作ルタメニハ少クトモ次ノ各項ニ關スル研究ガ必要トナツテ來ルト思フ。

(1)「ワクチン」製造用BCGノ培養基並ニ培養期間ノ研究

Calmette 及ビ Guérin ガ強毒牛型菌ヲ弱毒化シテBCGヲ得ルニ至ツタノハ培地中ノ牛膽汁ノ存在ノタメデアルトサレテキルノデ、爾來BCGノ毒力ヲ強メナイタメニ牛膽汁ノ入ツタ培地ヲ繼代培養用培地トシテ選ンデキル。然シ「ワクチン」製造ニハPasteur研究所ニ於テハ繼代培養用牛膽汁加「グリセリン」馬鈴薯培地カラ「グリセリン」馬鈴薯培地ニ移植シ更ニ之レヲSanton氏培地ニ移植シタBCGヲ用ヒテキル。我國ニ於テハ傳研デハ馬鈴薯「グリセリン」ブイヨンニ培養サレタBCGヲ、阪大今村教授ノトコロデハ「グリセリン」加牛膽汁馬鈴薯培地ニ發育シタBCGヲコレ迄「ワクチン」製造ニ供シテキタ。「ワクチン」ノ效力並ニ副作用(主トシテ接種局所ノ變化)ガ常ニ一定デアアルタメニハ先ヅ培養基ガ一定デナクテハナラナイノデハナイカ。同ジ培養基ニシテモ例ヘバ馬鈴薯基礎トシタモノデハ馬鈴薯ハ產地ニヨリ季節ニヨリ必ズシモ同ジ成分ヲ有スルトハ限ラナイカラBCGノ發育ニ關シ一定ノ培地ト見做シ得ルカドウカ、同様ナコトガ肉汁ニ就テモ膽汁ニ就テモ云ヒ得ラレヤウ。

又培養間ノ問題モ忽ニハ出來ナイコトノ一ツデアアル。BCGガアル培養基ニナラサレテソノ培養基上デハ例ヘバ培養1—2週ノ間ガ菌ノ發育増殖ノ速度ガ一番早ク3週以後ニナルト發育増殖ガ殆ンド止ムトスルト1—2週培養ノ菌ヲ使用シタ場合ト3週以後ノ培養菌ヲ使用シタ場合トデハ可成色々ノ性質ガ異ルデアラウ事ガ想像セラレル。又一培養基上ノ同一期間培養ノ菌ト云フ事デモ培養基上ノ菌集落ノ採り方ニ依リ必ズシモ同一ト見做シ得ナイ場合モアリハシナイ

カ等々考へ來ル時、先ヅ BCG「ワクチン」ノ研究ニハソノ培養基ト培養期間並ニ菌集落ノ採リ方等ニツキ研究ヲ要スルデアラウ。

(2) 菌塊ノ細挫法ノ研究

Pasteur 研究所ニ於テハ鋼鐵ノ球ヲ幾何カ入レタ「ガラス」製「コルベン」ヲ廻轉スルコトニヨツテ菌塊ヲ細カクシテキルガ、コレデハ皮下接種用「ワクチン」トシテ満足シタモノヲ作ル事ガ出來ナイ事ヲ追試ニヨリ知り得タ。ソレデ余等ハ古來結核菌ノ均等懸濁液ヲ作ルタメニ用ヒラレテキタ瑪瑙乳鉢デ細挫スル方法ヲ不満足ナガラ久シク使用シテ來タノデアリ。然ルニ常ニ一定ノヨキ均等懸濁液ヲ作ルニハ相當ノ修練ヲ必要トシ又採作中ニ充分注意ヲシナイト雜菌ノ迷入スル點ガ多イノデ出來得ルナラ完全ニ細挫スルコト(菌體ヲ生キタマ、一ツ一ツバラバラニスルコト)ト同時ニ完全ニ無菌的ニ行ヒ得ル機械ニヨル細挫法ノ研究ガ必要ナル。

(3) 細挫サレタ BCG ヲ浮游スル液體ノ研究

コノ浮游液ニハ(1)BCGヲ生菌ノマ、デ出來ルダケ長ク保存シ得ル事(2)一ツ一ツバラバラニ細挫サレタ菌體ヲ凝集セシメナイコト(3)皮下ニ接種シタ場合局所ヲ刺戟シナイコト(4)尙ホ出來得ルナラバ BCG ニ何等ノ影響ヲ及ボサナイデ而モホカノ迷入シ勝チノ雜菌ヲ死滅セシムルカ、死滅セシメナイマデモ發育ヲ阻止シ得ルコト等ガ望マシノデアリ。コノ研究ガ進メバ BCG ハ製造後相當長イ期間有效ニナルコト、思フ。

以上ノ諸研究ヲ余等ハ手分ケナシテ行ツテキルノデアリガ目下研究續行中ノモノモアルノデコ、ニハ中間報告ノカタチデ大體纏ツタ成績ノ得ラレタモノノミヲ述ベルニ止メル。即チ 1) BCGノ菌塊ノ細挫法ニ就テ、2) BCG「ワクチン」製造用浮游液ニ就テ、3) BCG「ワクチン」ノ自然凝集ニ就テノ三項目ニ關シ余等ノ實驗トソレニ基イテノ余等ノ見解ヲ披瀝シ同學諸賢ノ參考ニ供シタイト思フ。

第2章 BCGノ菌塊ノ細挫法ニ就テ

手ズリ法ニ依ル場合ト器械ズリ法ニ依ル場合トノ BCG「ワクチン」ノ生菌量ノ比較

前記ノ Pasteur 研究所デ用ツテキル術式ヲ余等モソノマ、マネテ行ツテ見タガ一程度以上ニ菌塊ヲ細挫スルコトハ不可能デ、菌塊全部ヲバラバラノ菌體ニハナス等ハ到底思ヒモヨラナイトコロデアツタ。余等ハ多少ノ不都合ハ感じナガラモ數年來乳鉢法ニヨツテキル。即チ、瑪瑙ノ乳鉢ヲヨク洗ヒ特ニ脂肪分ハヨク石鹼デ洗ヒオトシ少クトモ一晝夜以上「アルコール」中ニ浸シテ消毒シテオキ使用前之レヲ「アルコール」中カラ上ゲ次ニ純「アルコール」デ二回洗ヒ、更ニ「エーテル」デー一回洗フトキハ乳鉢ハ直チニ乾ク。一方、一定培地ニ一定期間 38°Cニ培養シタ BCGノ菌塊ヲ濾紙間ニ挟ンデソノ水分ノ大部分ヲ取り化學天秤デ正確ニ秤量スル、秤量シタ菌ヲ上記ノ瑪瑙ノ乳鉢ニ入レテ細挫スルノデアリガ余等ノ經驗デハ乳鉢ノ内徑3寸内外ノモノデハ餘程手ガナレナイト 50mgノ菌塊ヲヨイ

懸濁液ニスル事ハ仲々ムヅカシイ。細挫スルニハ浮游液ヲ加ヘナイデ乾イタ乳鉢中ニ大部分ノ水分ヲ取り去ツテ秤量シタ菌塊ヲ入レテ乳鉢デ靜カニ力ヲ平等ニカケテ數分間擦ルノデアリガ菌塊ハ完全ニ乾イテハキナイノデ粉末ニナルコトナク薄イ膜ノ如クナツテ乳鉢ノ底ニ附著スル。之ニ一滴ノ浮游液ヲ滴下シ又靜カニ平等ニ擦ル、又一滴加ヘテ擦ル。カクシテ二滴三滴ト浮游液ヲ加ヘナガラ丹念ニ擦ル時ハ遂ニ均等ナ乳狀ノ液體トナル。ヨイ懸濁液ヲ得ルニハ擦リ始メガ大切ナノデー一滴二滴浮游液ヲ滴下スル邊リガ最モ修練ノ必要ナトコロデアラウ、浮游液 1 cc 以内ノ滴下デ平等ナ乳狀ヲ懸濁液ガ出來ケレバソノ後如何ニ努力シテ擦ツテモ決シテヨイモノニハナラナイ。

カクシテ平等ナ乳狀ノ液體ヲ作り得タナラバ更ニ浮游液ヲ加ヘテ例ヘバ 1 cc 中 4 mg トカ或ヒハ 1 cc 中 2 mg トカ今後ノ稀釋ニ便利ナヤウニ浮游液ヲ加ヘテソレヲ母液トシ、更ニコレヲ「コ

ルベン」中デ十進法ニヨリ稀釋シ、1 cc 中 0.04 mg トカ 0.02mg ナ含ム人體皮下接種用「ワクチン」トスルノdeal。操作ハスベテ無菌的ニ行フ事ガ最モ肝要ナコトdeal。

阪大今村教授ノトコロデハ器械ズリ法デ「ワクチン」ヲ製造シテキル、即チ硬質「ガラス」製ノ清淨滅菌 1 立ノ「コルベン」ニ同様硬質「ガウス」製ノヨク磨イタ清淨滅菌シタ小球ヲ 100 個入レル。一方、一定培地上ニ一定期間培養シタ BCG ノ水分ノ大部分ヲ濾紙間デ取り去り秤量シ 20—40mg ノ菌塊ヲ前記ノ「コルベン」中ニ入レ 1 分間 120—150 回回轉ノ回轉裝置ニ固定シテ先ヅ 30 分間回轉シ、ツイデ浮游液ヲ 1 cc 加ヘテ更ニ同様 5 分間回轉シ再ビ浮游液 2 cc 加ヘテ同様 5 分回轉シタ後、例ヘバ 1 cc 中 1 mg ニナルニ要スル浮游液量ヲ加ヘテ更ニ 10 分間回轉シ之レヲ母液トシテ稀釋シテ所要ノ「ワクチン」ヲ得ルノdeal。コノ方法デハ 1 分間 120—140 回回轉dealノデ相當ツヨイ遠心力ガ起ツテ「コル

ベン」中ノ「ガラス」小球ガ「コルベン」ノ上部ニアガリ、タメニ菌體ガ「コルベン」ノ上部ニ附着スルカヲ時々回轉ヲトメテ「コルベン」ヲ手デ適當ニ振ツテコノ部分ニ附着シタ菌體ヲオトス必要ガアル。

余等ノ經驗デハ修練シタ術者ノ手ズリ法ニヨル場合ノ方ガ器械ズリ法ニヨルヨリ、ヨリ均等ナ懸濁液ニナルコトハ拒メナイ事實dealガ、手ズリ法ノ術者ノ腕ト注意力ノ大イニ要スルニ反シ、器械ズリ法デハ比較的呑氣ニ安心シテ一應細菌學ノ知識ノアルモノナラ誰デモ行ヘルト云フ利點ガアルノデ出來ルナラ器械ズリ法ニカヘタイトノ念願ヲ常ニ持ツモノdeal。ソレデ先ヅ兩法ニヨツテ作ラレタ「ワクチン」ヲ比較スル要ヲ感ジタ次第deal。

BCG「ワクチン」ノ性質中最モ大切ナモノハソノ生菌量dealカラ兩方法ニヨツテ作ラレタ「ワクチン」中ノ BCG ノ生菌量ヲ比較スルコトヲ企テタ。

第 1 節 實驗方法

「グリセリン」加牛膽汁馬鈴薯培地ニ 3 週間培養シタ BCG ヲ上記ノ手ズリ法ト器械ズリ法ノ兩法デ生理的食鹽水ヲ浮游液トシテ夫々 1 cc 中 BCG 10mg 及ビ 1 cc 中 BCG 2 mg ノ二種ノ懸濁液ヲ作ツタ、次ニ 400 瓦大ノ雄性天竺鼠ヲ 10—15 頭 1 群トシテ第一群ニハ手ズリ法ニヨル 1 cc 中 BCG 10mg ナ含ム懸濁液ノ 0.5cc 宛ヲ左側下腹部皮下ニ、更ニ同法ニヨル 1 cc 中 BCG 2 mg ナ含ム懸濁液ノ 0.1cc ナ右側腹部皮内ニ注射スル。各動物ハ一週隔キニ注射局所、局所淋巴腺、及ビ「ツベルクリン」皮内反應 (100 倍稀釋液 0.1 cc 皮内注射、注射後 24 時間判定) ヲ検査シ、兩部ヲ比較スル。注射局所及ビ所屬淋巴腺ノ硬結又ハ膿瘍ノ大サハ米粒大ハ (+) 大豆大ハ (++) 豌豆

豆大ハ (卅) トシ膿瘍ノ場合ハ 0 ヲ附シ潰瘍ヲ形成シタモノハ G ト記載シタ、又「ツベルクリン」反應ノ強サハ發赤ノ大サノ短長徑ヲ mm デ表シタ數字ヲソノマ、記載シタ。他方、上記ノ兩方ニヨル BCG 懸濁液ヲ 0.5cc 中、0.1mg 及ビ 0.01 mg 及ビ 0.001mg ナ含ムヤウニ稀釋シ夫々 0.5 cc 宛ヲ各 5 本宛ノ Petraghani 氏培地ニ移植シ發育狀況ヲ觀察スル。記載ハ 3 週間培養集落數ニヨリ集落數 10 ケ以内ノモノハ (+)、10 個以上 50 個以内ノモノハ (++)、50 個以上デナホ數ヘ得ルモノ (卅) 集落ノ融合シテ數ヘキレナイガ培養面ノ半バヲ滿サナイモノハ (卅)、培養面ノ半バ以上ヲ集落ガ滿スモノハ (卅) トシタ。

第 2 節 成 績

1. 動物實驗成績

コノ實驗ハ各回ノ手數ノ差異及ビ動物ノ個性差ヲ考慮シテ 3 回全ク同様ニ繰返シタ。第 1 回、

第 2 回、及ビ第 3 回成績ハ夫々第 1 表、第 2 表、及ビ第 3 表ノ如クdeal、即チ、手ズリ法ニヨル懸濁液ノ方ガ皮下注射ノ場合モ皮内注射ノ場

第1表 手ズリ法ト器械ズリ法トノ比較(第1回動物實驗)

		經 過																		
		接 種 方 法																		
		變 化																		
動物 番 號	製 法	1 週			2 週			3 週			4 週			5 週						
		皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル				
		局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應				
手 ズ リ 法	131	+	-	-	+	G+	12×20	⊕	-	+	17×26	⊕	+	-	20×34	⊕	+	-	18×30	
	132	++	⊕	+	⊕	++	13×20	⊕	+	+	15×24	⊕	+	-	20×20	⊕	+	-	13×18	
	133	++	G-	-	⊕	+	10×16	⊕	-	+	14×17	⊕	+	-	16×20	⊕	+	-	13×15	
	134	死亡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	135	++	⊕	+	死亡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	136	++	⊕	+	++	⊕	+	0	+	-	+	15×27	⊕	+	-	10×10	++	-	+	13×19
	137	++	G-	-	⊕	G+	13×16	⊕	-	++	13×16	⊕	+	-	13×15	死亡	-	-	-	
	138	-	⊕	-	-	-	5×8	-	-	-	0	-	-	-	15×20	-	-	-	10×10	
	139	++	++	+++	⊕	+++	0	-	-	-	0	死亡	-	-	-	-	-	-	-	
	140	死亡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
器 械 ズ リ 法	141	+	⊕	-	-	-	0	-	-	-	0	-	+	-	12×15	-	-	-	7×7	
	142	+	G-	-	++	++	0	++	++	0	-	+	-	8×8	-	-	-	9×10		
	143	死亡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	144	+	⊕	-	+	+	15×25	⊕	-	+	15×27	-	+	-	15×18	-	+	-	15×19	
	145	+	-	-	-	-	0	死亡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	146	+	-	-	-	-	0	-	-	-	0	死亡	-	-	-	-	-	-	-	
	147	-	-	-	-	-	0	-	-	-	0	死亡	-	-	-	-	-	-	-	
	148	+	-	-	-	-	0	-	+	-	0	-	+	-	0	-	-	-	0	
	149	-	-	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	8×10	
	150	-	-	-	-	G+	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	

第2表 手ズリ法ト器械ズリ法トノ比較(第2回動物實驗)

		經 過																	
		接 種 方 法																	
		變 化																	
動物 番 號	製 法	1 週			2 週			3 週			4 週			5 週					
		皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル			
		局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應	局 所	淋 巴 所 腺	反 應			
手 ズ	101	-	+	-	-	-	4×4	-	+	-	10×12	-	+	-	11×15	-	++	-	10×20
	102	-	++	-	⊕	+	16×20	-	+	-	15×25	-	-	-	15×23	⊕	-	-	14×25
	103	+	-	-	-	-	0	-	+	-	0	-	-	-	0	-	-	-	7×10
	104	+	-	-	-	++	0	-	++	-	17×20	G+	-	-	15×20	G	++	-	17×18

リ 法	105	--	+-				12×20	--	-+	15×22	--	-+	15×18	⊕	--	13×15
	106	死亡														
	107	--	--		⊕-	--	0	--	--	0	死亡					
	108	+-	--				15×25	G+	--	20×35	-+	--	20×25	--	--	25×26
	109	+-	+-		⊕+	--	14×21	-+	--	14×23	-+	--	15×18	-+	--	15×20
	110	++	⊕+		⊕+	--	18×18	G+	--	19×25	-+	--	20×22	G+	--	15×20
器械 ズリ 法	132	--	--				0	--	--	0	--	--	0	--	--	0
	133	+-	+-				0	--	--	0	死亡					
	135	--	+-				0	--	--	0	--	--	0	--	--	0
	136	--	--				0	--	--	0	--	--	0	--	--	0
	137	--	--		+-	--	12×15	--	--	10×10	--	--	5×5	--	--	8×8
	139	--	+-				0	--	--	0	死亡					
	140	--	--		死亡											

第3表 手ズリ法ト器械ズリ法トノ比較(第3回動物實驗)

		經 過														
		接 種 方 法														
		變 化														
製 法	動物 番 號	1 週			2 週			3 週			4 週			5 週		
		皮下	皮内	ツリ	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル	皮下	皮内	ツベル
		局 所 腺	局 所 腺	ペン 反 應	局 所 腺	局 所 腺	クリ ン 反 應 mm	局 所 腺	局 所 腺	リ ン 反 應 mm	局 所 腺	局 所 腺	クリ ン 反 應 mm	局 所 腺	局 所 腺	クリ ン 反 應 mm
手 ズ リ 法	111	+-	+-		++	--	21×25	⊕-	--	22×30	⊕-	--	16×20	死亡		
	112	+-	+-		⊕-	G-	0	⊕+	G+	15×20	G+	G+	15×15	-+	-+	15×23
	113	--	--		死亡											
	114	+-	--		⊕-	G+	14×22	⊕-	G-	15×25	⊕-	--	18×20	--	--	18×19
	115	--	++				15×18	--	--	15×15	⊕-	--	10×15	⊕-	-+	15×19
	116	--	--		++	G+	16×22	⊕+	G+	15×25	⊕+	G+	15×20	⊕-	-+	17×23
	117	--	--		+-	-+	0	-+	-+	16×20	⊕-	-+	15×17	G+	-+	15×19
	118	++	+-		⊕+	-+	0	⊕+	-+	10×15	⊕+	-+	15×20	G+	-+	15×18
	119	+-	--		⊕+	G+	20×23	⊕-	--	死亡						
	120	+-	+-		⊕-	G-	0	⊕-	G+	16×21	G+	--	15×25	--	--	18×19
器械 ズ リ 法	121	--	--		-+	--	0	-+	--	0	--	--	5×5	--	--	5×8
	122	--	--		死亡											
	123	--	--		死亡											
	124	++	++		G+	-+	8×10	G+	-+	11×13	-+	--	11×12	--	--	13×15
	125	--	--		死亡											
	126	--	+-				0	--	--	0	--	--	0	--	--	0
	167	--	--		-+	--	0	--	--	20×25	--	--	15×20	--	--	18×20
	128	--	+-		G+	--	14×15	G-	--	15×15	--	--	11×13	--	--	19×20
	129	--	--				0	--	--	0	--	--	0	--	--	0
	130	--	--				死亡									
131	+-	--		⊕+	--	0	--	--	死亡							
134	--	--				0	--	--	0	--	--	死亡				
138	--	+-		-+	--	13×15	--	--	15×18	--	--	12×15	G+	--	13×20	

第4表 手ズリ法ト器械ズリ法トノ比較
(培養實驗)

細挫法	培養菌量		
	0.1mg	0.01mg	0.001mg
手ズリ法	##### #####	##### #####	##### #####
器械ズリ法	##### #####	##### ####	##### #####

合モ性射局所ニモ所屬淋巴腺ニモ器械ズリ法ノ場合ニ比ベテ變化ガ早ク現ハレ又強クナリ更ニ遅クマデ遠ル傾向ガ明カデアル、又、「ツベルクリン」反應モ手ズリ法ノ場合ガ器械ズリ法ヨリヨク出來テキル即チ均等ナコトガ認メラレル。

2. 培養實驗成績

培養實驗ハ動物實驗ノ第2回實驗ニ相當スルモノノミヲ行ツタ。ソノ成績ハ第4表ニ示ス如クデ手ズリ法ニ於テ發育菌量ノ多イ事ガ明カニ認め得ラレル。

修練シタ人ノ手ズリ法ニヨル場合ハ器械ズリ法ニヨル場合ヨリ均等ナ懸濁液ガ得ラレル點ト、以上ノ實驗成績トカラ器械ズリ法デハ秤量サレタ BCG 生菌ノ幾何カハ或ヒハ操作中死滅スル

カ或ヒハ器械ノドコカニ附著シテ浮游液中ニハ手ズリ法ヨリ生菌量ガ少イコトガ明カデアル。故ニ同ジ1 cc中 BCG 0.02 mg 含有「ワクチン」ト云フコトデモ手ズリ法ト器械ズリ法トデハ生菌含有量ガヤ、異ル譯デアルカラ人體ニ使用スル場合ニハ細挫法ヲ明記シテ置カナイト誤解ガ生ズル虞レガ起ラナイトモ限ラナイ。手ズリ法デハ術者ガ相當ノ修練ヲ必要トスル點雜菌ノ迷入スル虞レノ多イ點等ニ缺點アリ、器械ズリ法デハ生菌量ノ減少スル點、菌體ガバラバラニナル度合ガ充分デナイ點ガアツテ、兩方トモ充分満足ノユケル良細挫法トハ云ヒ難イ。余等ハ其後色々ノ考想カラ二三ノ細菌細挫器ヲ組立テ、ハ見タガウマク挫ケル場合ニハ無菌的ニ行ヒ難ク又無菌的デアツテモホカノ塵ガ入ツタリシテコ、ニ述ベル價値ノナイモノバカリデアル。然ルニ近來超音波ヲコノ目的ニ使用スル研究ヲ行ヒツ、アルガ相當見ルベキ成績ヲ得、或ヒハ上記兩方ニ優ルトモ劣ラナイ方法デハナイカトモ考ヘルニ至ツテキルガ未ダ研究ノ完成ヲ見ナイノデ發表ハ次回ニ譲ルコト、スル。

第3章 BCG ノ浮游液トシテ蒸溜水又ハ生理的食鹽水

ハ4倍稀釋 Santon 氏培地ニ比ベテドレ程 BCG ノ發

育力ノ保存ニ劣ルカ (培養實驗)

BCG ヲ細挫シタ時ト同ジ状態ニ長ク保存シ得ル浮游液ヲ選ブコトハ BCG 「ワクチン」ノ效力保存上大切ナコトデアル。カ、ル意味カラ浮游トシテ直チニ考ヘニ浮ブモノハ結核菌ノ液體人工培地デアル。即チ現ニ Pasteur 研究所ニ於テコノ目的ニ使用セラレテキル4倍稀釋 Santon 氏培地ガ最モ合理的デハナイカト想像セラレル、然ルニ實際問題トシテ4倍稀釋 Santon 氏

培地ハ皮下注射スル時ハ注射局所ニ注射後數分間相當ナ疼痛ヲ起サシメルノデ出來ルナラカ、ル副作用ノナイ浮游液ヲ選ビタイノデアル。ソレデ、一應、大部分ノ「ワクチン」ノ浮游液ニ使用サレ、皮下注射デモ何等副作用ヲ起サナイ生理的食鹽水ヤ全然榮養素ヲ含マナイ蒸溜水ヲ浮游液トシタ場合ノ BCG ノ發育力ノ保存ヲ培養實驗デ比較シテ見タ。

第1節 實驗方法

馬鈴薯「グリセリンブイオン」2週間培養ノ BCG ヲ取り濾紙間ニ挟ンデ水分ヲ去リ秤量シテ瑪瑙乳鉢中デ細挫シ蒸溜水デ1 cc中 BCG 10 mg ヲ含ム懸濁液ヲ作ル。之レヲ原液トシテ蒸溜水、

生理的食鹽水、及ビ4倍稀釋 Santon 氏培地ヲ以テ十進法稀釋ニヨリ夫々1 cc中 BCG 0.1 mg 含有ノモノ竝ビニ1 cc中 BCG 0.01 mg 含有ノモノヲ作り、是等ノ約10ccヲ容レル「アンブー

ル」中ニ密封シ一半ハ室温(15°C—22°C)ニ保存シ一半ハ氷室(0°C—5°C)ニ保存スル。保存後1週間隔キニ1cc中BCG 0.01mg含有浮游液ハ0.1cc宛テ、1cc中BCG 0.1mg含有浮游液ハ各浮游液ヲ以テ10倍ニ稀釋シ即チ各1cc中BCG

0.01mgヲ含ムモノニ稀釋シタモノノ0.1cc宛テ3本ノPetraghani氏培地ニ移植シ37°Cニ培養シ培養3週間後ニ生ジタ集落數ヲ以テ比較ノ目安トスル。

第 2 節 成 績

1) 室温中ニ保存シタ場合

a) 1cc中BCG 0.1mgヲ含ム浮游液トシテ保存シ、ソレヲ培養前10倍ニ稀釋シ即チ1cc中BCG 0.01mgヲ含ム浮游液トシテ培養シタ場合ハ第5表ノ如クデアル。コノ成績ニヨルト生理的食鹽水及ビ4倍稀釋Santon氏培地ヲ浮游液トシタ場合ハ保存3週間マデハ發育能力アルコトヲ示ス。

第 5 表 室温中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG發育力保存比較(ソノ1)

(1cc中0.1mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シ、ソレヲ培養前10倍ニ稀釋シ、即チ1cc中0.01mgヲ含ム浮游液トシテ培養シタモノ——培養3週後ノ集落數ヲ以テ比較)

浮游液	保存日數	2 週	3 週	4 週
蒸 溜 水		115	0	0
生理的食鹽水		116	16	0
4 倍 稀 釋 Santon 氏 培 地		475	2	0

第 6 表 室温中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG發育力保存比較(ソノ2)

(1cc中0.01mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シ、ソノマ、培養シタモノ——培養3週後ノ集落數ヲ以テ比較)

浮游液	保存日數	2 週	3 理	4 週
蒸 溜 水		0	0	0
生理的食鹽水		0	0	0
4 倍 稀 釋 Santon 氏 培 地		25	0	0

b) 1cc中0.01mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シタモノノ成績ハ第6表ノ如クデコノ場合ハ上記ノ1cc中0.1mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シタ場合ニ比シ發育能力少ク既ニ2週間ニ於テ4倍稀釋Santon氏培地ヲ浮游液トシ

タ場合以外ハ全然發育ヲ見ナイ。

第 7 表 氷室中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG發育力保存比較(ソノ1)

(1cc中0.1mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シ、ソレヲ培養前10倍ニ稀釋シ、即チ1cc中0.01mgヲ含ム浮游液トシテ培養シタモノ——培養3週後ノ集落數ヲ以テ比較)

浮游液	保存日數	2 週	3 週	4 週	5 週
蒸 溜 水		201	∞	0	0
生理的食鹽水		∞	∞	0	0
4 倍 稀 釋 Santon 氏 培 地		∞	∞	7	0

第 8 表 氷室中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG發育力保存比較(ソノ2)

(1cc中0.01mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シ、ソノマ、培養シタモノ——培養3週後ノ集落數ヲ以テ比較)

浮游液	保存日數	2 週	3 週	4 週	5 週
蒸 溜 水		12	166	0	0
生理的食鹽水		1	15	0	0
4 倍 稀 釋 Santon 氏 培 地		∞	∞	3	0

2) 氷室中ニ保存シタ場合

a) 1cc中0.1mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シソレヲ培養前10倍ニ稀釋シテ培養シタモノハ第7表ニ示ス如ク4倍稀釋Santon氏培地ニ於テハ保存4週間マデ發育能力ガアリ其他ノ浮游液ニ於テモ保存3週間ニ於テハナホ相當ノ發育ヲ示シテキル。

b) 1cc中0.01mgヲ含ムBCG浮游液トシテ保存シタモノハ第8表ノ如クコノ場合モ4倍稀釋Santon氏培地最モヨク4週間マデ發育能力アルヲ示ス、其他ノ浮游液ノ場合ハ集落ノ生ジ方ニ多少理ニ合ハザルトコロアルモ蒸溜水、生

理の食鹽水ニ於テハ3週間マデ發育能力アルヲ示ス、コノ場合モ室溫中ニ保存シタ場合ト同様1cc中0.1mgヲ含ム浮游液トシテ保存シタ場合ガ1cc中0.01mgヲ含ム浮游液トシテ保存シタ場合ヨリ長ク發育能力ヲ示スモノ、ヤウデアアル。カカル實驗方法ニヨツテ行ハレタ成績カラ餘リ細イトコロマデハ云々セラレナイガ蒸溜水又ハ生理的食鹽水ヲ浮游液トシタ場合ハ4倍稀釋 Santon 氏培地ヲ浮游液トシタ場合ヨリ發育力保存能力ガ劣ルコトハ明カデアアル。

第 4 章 BCG ノ浮游液トシテ蒸溜水、生理的食鹽水、及ビ4倍稀

釋 Santon 氏培地ノ何レガ BCG ノ免疫力保存ニヨイカ (動物實驗)

今日ノ生菌免疫ノ理論カラ BCG ノ生菌量ト免疫力トハ略々平行ナルコトハ想像ニ難クナイガ

發育力保存能力ノ點ニ關スル研究ニヨレバ吉田⁽²⁾ハ0.5%「マルトゼ」含有4倍稀釋 Santon 氏培地ガ多クノ浮游液中最モ優秀トナシ海老名⁽³⁾ハ5%「マンニト」水ガ最モヨイト報告シテキル。尙ホコノ實驗カラ BCG ノ濃イ濃度デ保存シタ方ガウスイ濃度デ保存シタ場合ヨリ發育能力ガ長ク保存セラレルコトモ判ツタ。又一般ニ細菌ニ就テ當然ノコトデハアルガ、BCGニ於テモ氷室保存ノ方ガ室溫保存ノ方ヨリ發育力ヲ損ジナイコトモ實證シ得タ。

一應實驗シテ見ルコトニシタ。

第 1 節 實驗方法

コノ實驗ハ天竺鼠ガ多數ニ要ルノ程度ニ上記3種類ノ浮游液ヲ比較スルコトハ出來ナカツタ、第1回實驗ニ於テハ生理的食鹽水及ビ4倍稀釋 Santon 氏培地ヲ浮游液トシタ場合ヲ比較シ、第2回實驗ニ於テハ生理的食鹽水ノ場合ト蒸溜水ノ場合トヲ比較スルコトニシタ。

馬鈴薯「グリセリンブイオン」17日培養 BCG ノ水分ヲ取り、秤量シ、瑪瑙乳鉢デ細挫1cc中 BCG 10mg 含有蒸溜水浮游液ヲ作り、次ニ之ヲ原液トシテ各浮游液ヲ以テ第1回實驗ノ場合ハ1cc中 BCG 1mg 含有浮游液ヲ作り、第2回實驗ニ於テハ1cc中 BCG 0.01mg 含有浮游液ヲ作ツタ。約10cc宛「アンブール」ニ入レ室溫(15°C—20°C)ニ保存シタ。各浮游液ニツイテ製造直後ノモノ、製造後1週間保存ノモノ、2週間保存ノモノ、3週間保存ノモノ及ビ4週間保存ノモノヲ同日ニ10頭—15頭ヲ1群トシタ天竺鼠ノ皮下ニ1cc宛注射シタ。コノ時 BCG ノ加熱死菌ヲ同量含ム浮游液ヲ皮下注射シタ動物群ヲ置キ、對照 I トスル。コレ等ノ各動物群ヲ

約10週間ヲ經テ人型結核菌 H₂ 株 0.1mg (第1日實驗) 又ハ 0.01mg (第2回實驗) ヲ皮下ニ接種シテ結核ニ感染セシメル。コノ際 BCG ヲ注射シナイ動物群ヲモウケ之レヲモ同様結核ニ感染セシメ對照 II トスル。感染後更ニ約10週經過後實驗ニ供シタ全天竺鼠ヲ一勢ニ致死セシメ解剖所見ニヨリ結核性變化ノ多寡ヲ各群ニ就イテ比較シタ。ソノ比較方法ハ1頭ノ天竺鼠ニ就テ肺臟、肝臟及ビ脾臟ノ3内臟々器竝ニ左右膝腓腺、左右鼠蹊腺、左右腋窩腺、後胸腺、後腹膜腺、門脈腺及ビ氣管腺ノ10淋巴腺ノ結核性變化ヲ検査シソノ變化ノ輕重ニ從ツテ1點カラ4點マデノ點數ヲ與ヘ一頭ニツイテノ淋巴腺及ビ内臟ノ夫々ノ總和ヲ求メ一實驗動物群ニツキ一頭ニツイテノ淋巴腺、竝ニ内臟ノ結核性變化ノ點數ノ平均ヲ出シコレヲ以テ各實驗動物群ノ結核性變化ノ目安トシタ。尙ホ天竺鼠結核ニ於テハ脾臟ノ重量ガヨク結核性變化ノ重サト比例シテ増加スルノデ脾臟ノ重サノ一實驗群ニツイテノ平均ヲモ求メテ結核性變化ノ比較ノ參考ニ供シタ、

第 2 節 成 績

第 9 表ハ第 1 回實驗成績、第 10 表ハ第 2 回實驗

成績デアアル、第 1 回實驗デハ第 9 表ニ於テ明カ

第9表 室溫中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG 免疫力保存比較(第1回動物實驗)

検査臓器		保存日数						
		直後	1週	2週	3週	4週	對照 I	對照 II
4倍稀釋 Santon 氏培地	内臓	3.1	4.4	3.1	7.7	6.4	8.3	9.2
	淋巴腺	12.9	14.5	13.3	17.9	15.8	19.7	17.8
	脾臓重量(g)	1.4	1.5	1.0	2.0	2.1	3.3	4.9
生理的食鹽水	内臓	1.4	3.5	3.6	3.4	4.9	8.3	9.2
	淋巴腺	11.3	14.0	14.7	13.1	14.4	19.7	17.8
	脾臓重量(g)	1.0	1.6	1.4	1.3	1.6	3.3	4.9

對照 I: 加熱死 BCG 接種群 對照 II: 無接種群

第10表 室溫中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG 免疫力保存比較(第2回動物實驗)

検査臓器		保存日数						
		直後	1週	2週	3週	4週	對照 I	對照 II
生理的食鹽水	内臓	2.1	3.6	1.9	3.0	4.0	4.3	5.9
	淋巴腺	11.1	11.2	11.3	10.3	12.3	12.6	15.6
	脾臓重量(g)	1.1	1.3	1.0	1.3	1.1	1.5	1.4
蒸溜水	内臓	3.3	2.3	2.4	5.4	6.6	4.3	5.9
	淋巴腺	11.3	10.7	10.4	14.0	14.0	12.6	15.6
	脾臓重量(g)	1.3	0.9	0.9	1.9	1.9	1.5	1.4

對照 I: 加熱死 BCG 接種群 對照 II: 無接種群

ナ如ク4倍稀釋 Santon 氏培地浮游液デハ保存2週間マデハ略々製造直後ト同程度ノ效力ヲ示スケドモソレ以後ハ次第ニ衰ヘ保存4週間ニ於テ輕ウジテ效力ヲ保チ得ル程度デア、生理的食鹽水浮游液ノ場合ハ保存3週間マデハ略々效力ノ低下ヲ見ナイガ保存4週間ニ於テヤ、效力ガ減ズルカノ如ク思ハレル。

第2回實驗デハ BCG 接種量ハ第1回實驗ノ場合ノ $\frac{1}{10}$ デ強毒菌ノ感染量モ第1回實驗ノ $\frac{1}{10}$

デア。第10表ノ如ク生理的食鹽水浮游液ノ場合ハ3週間保存ノ場合マデ效力ガ認メラレ、蒸溜水浮游液ノ場合ハ2週間保存マデシカ效力ヲ認メラレナイ。

以上ノ動物實驗カラ見ルト BCG ノ效力保存能力ハ4倍稀釋 Santon 氏培地ト生理的食鹽水トハ略々同等デ蒸溜水ハ生理的食鹽水ヨリ稍々劣ルト考ヘラレル。

第5章 BCG ノ浮游液トシテ生理的食鹽水ト4倍稀釋 Santon 氏培地ト何レガ BCG ノ「ツベルクリン・アレルギー 賦與性保存ニ相異ガアルカ(人體接種所見)

第1節 實驗方法

馬鈴薯「グリセリン・ブイヨン」2週間培養 BCG ノ水分ヲ濾紙間デトリ秤量シ瑪瑙乳鉢中デ再蒸溜水ニヨル1cc中 BCG 1mg ノ BCG 懸濁液ヲ作り之レヲ原液トシテ1cc中 BCG 0.02 mg ヲ

含ム如ク生理的食鹽水及ビ4倍稀釋 Santon 氏培地ヲ以テ稀釋スル。即チ1cc中ニ BCG 0.02 mg ヲ含ム生理的食鹽水 BCG 懸濁液ト4倍稀釋 Santon 氏培地 BCG 懸濁液トノ二種ヲ同一

原液カラ作り得タ譯デア。同様ナ BCG 懸濁液ヲ同様ナ方法ニヨリ日ヲ異ニシテ後 2 回製造シ第 1 回製造ノモノハ製造直後ニ、第 2 回製造ノモノハ製造後 2 週間室温 (10°C-18°C) ニ保存後ニ人體ニ接種シタ。

年齢 16-17 歳ノ健康男子デ「ツベルクリン」2000 倍稀釋液 0.1cc 皮内注射 48 時間判定デ發赤直径 4 mm 以下ノモノ約 30 名宛 6 群ニ分チ上記ノ各種 BCG「ワクチン」ヲ 1 cc 宛皮下ニ接種シタ。

第 11 表 室温中ニ於ケル各種浮游液ノ BCG「アレルギー」賦與力保存比較 (人體實驗)
(ソノ一) 製造直後ノ「ワクチン」ニヨル「ツ」反應ノ陽轉率

浮 游 液	接種後 40 日目ノ「ツ」反應			接種後 90 日目ノ「ツ」反應		
	被検査人員	發赤 5 mm 以上	發赤 10mm 以上	被検査人員	發赤 5 mm 以上	發赤 10mm 以上
生理的食鹽水 4 倍稀釋	36	25 (69.4%)	14 (38.9%)	36	28 (77.8%)	17 (47.2%)
Santon 氏培地	36	23 (63.9%)	10 (27.8%)	34	27 (79.4%)	17 (50.0%)

(ソノ二) 製造後 1 週間保存「ワクチン」ニヨル「ツ」反應ノ陽轉率

浮 游 液	接種後 40 日目ノ「ツ」反應			接種後 90 日目ノ「ツ」反應		
	被検査人員	發赤 5 mm 以上	發赤 10mm 以上	被検査人員	發赤 5 mm 以上	發赤 10 mm 以上
生理的食鹽水 4 倍稀釋	33	13 (39.4%)	5 (15.2%)	30	16 (53.3%)	9 (30.0%)
Santon 氏培地	29	11 (37.9%)	6 (20.7%)	29	12 (41.4%)	8 (27.6%)

(ソノ三) 製造後 2 週間保存「ワクチン」ニヨル「ツ」反應ノ陽轉率

浮 游 液	接種後 40 日目ノ「ツ」反應			接種後 90 日目ノ「ツ」反應		
	被検査人員	發赤 5 mm 以上	發赤 10mm 以上	被検査人員	發赤 5 mm 以上	發赤 10mm 以上
生理的食鹽水 4 倍稀釋	39	14 (35.9%)	4 (10.3%)	39	25 (64.1%)	11 (28.3%)
Santon 氏培地	37	19 (51.4%)	10 (27.0%)	37	27 (72.9%)	15 (40.5%)

接種後 40 日目及ビ 90 日目ニ被接種者全部 2000 倍稀釋「ツベルクリン」液ヲ以テ「ツベルクリン・アレルギー」ノ程度ヲ測定シタ。即チ、「ツベルク

リン」2000 倍稀釋液 0.1cc 皮内注射後 48 時間ニ於ケル發赤直径ヲ測定ノ標準トシタ。

第 2 節 成 績

第 11 表ニ示ス如ク 製造直後及ビ 1 週間保存ノ場合ニ於テハ生理的食鹽水ヲ浮游液トシタ「ワクチン」ト 4 倍稀釋 Santon 氏培地ヲ浮游液トシタ「ワクチン」トノ間ニ「ツベルクリン」反應陽轉率ニ殆ンド差異ハ認めラレナイガ、2 週間

保存ノ場合ニハ 4 倍稀釋 Santon 氏培地ヲ浮游液トシタ「ワクチン」ハ生理的食鹽水ヲ浮游液トシタ「ワクチン」ヨリ遙カニ「ツベルクリン・アレルギー」賦與性が高いトガ認めラレル。

第 6 章 BCG「ワクチン」ノ pH 及ビ保存溫度ト菌ノ

自然凝集トノ關係

BCG ノ效力保存ノ點ニ於テ 4 倍稀釋 Santon

氏培地ヨリヤ、劣ルトコロガアツテモ製造及ビ

皮下注射ノ實際の問題カラ考ヘレバ生理的食鹽水ヲ浮游液ノ基礎トシテ選ブ事ノ有利ナル事ハ前章ニ於ケル成績カラ誰シモ肯シ得ルトコロデアラウ。然シコ、ニ余等ガコレマデ BCG「ワクチン」製造上餘リ意ヲ注ガナカツタ一ツノ事實ガアル。ソレハ非常ニヨイ BCG 懸濁液ヲ作ツテモ製造後1日又ハ2日以内ニ菌體ハ自然凝集ヲ起シ如何ニ強ク振盪シテモ再ビ前ノ如キヨキ BCG 懸濁液ニハ返ラズ肉眼ヲ以テモヨク認

メ得ル顆粒狀ノ菌塊ガ浮游スルコトデアル。コノ菌塊ハ BCG「ワクチン」ノ均等性ヲ不確實ニシ且又注射局所ノ濃瘍及ビ潰瘍形成ヲ誘發セシメルモノデアルノデ何等カノ方法ニヨリ菌ノ自然凝集ヲ防止スル必要ガアル。余等ハ先ヅ第一ニ BCG 懸濁液ノ pH 又ハ保存溫度ガ菌ノ自然凝集ニ關係シナイカラ檢ベテ見タ。

第1節 實驗方法

馬鈴薯「グリセリン・ブイオン」18日培養 BCGノ水分ヲ濾殘間デ取り去リ秤量シ瑪瑙乳鉢内デ pH 5.6ノ再蒸溜水デ1cc中 BCG 10mgヲ含ム BCG 懸濁液ヲ作り之レヲ原液トスル。別ニ pH

5.3カラ 8.0マデヲ 0.2—0.3 間隔デ磷酸鹽緩衝液 12種ヲ作り之等ヲ以ツテ BCG 懸濁液原液ヲ夫々1cc中 BCG 0.1mgヲ含ム懸濁液ニ稀釋シ別ニ對照トシテ再蒸溜水ヲ以テ同様1cc中

第12表 BCG 浮游液ノ自然凝集ニ及ボス pH ノ影響(室溫實驗)

pH	5.3	5.6	5.9	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.7	8.0	蒸溜水(5.6)
保存日數													
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

第13表 BCG 浮游液ノ自然凝集ニ及ボス pH ノ影響(氷室實驗)

pH	5.3	5.6	5.9	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.7	8.0	蒸溜水(5.6)
保存日數													
1	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1mgノ懸濁液ヲ作り10ccノ「アンプル」ニ入レテ—半ハ室溫中(10°C—18°C)中ニ—半ハ氷室(0°—2°)中ニ保存シ製造後毎日觀察シテ肉眼的ニ菌ノ自然凝集現象ノ起ツタカドウカヲ檢ベタ。

第2節 成績

室溫保存ノ場合ノ成績ハ第12表ニ示ス如クデ pH 5.9—6.2ノ附近ニ於テ稍々自然凝集現象ガ促進サレルヤウニ見エルガ其他ノ pH 域ニアツテハ大部分ハ製造後4日ニ於テ凝集ヲ認メタ。

氷室保存ノ場合ノ成績ハ第13表ニ示ス如クデ室溫保存ノ場合ト略々同 pH 域即チ 5.9附近ニ於テ稍々自然凝集現象ガ促進サレルガ他ノ pH 域デハ多クハ製造後2日ニ於テ凝集ヲ認メタ。

室温保存ノ場合ト氷室保存ノ場合トヲ比較スルト氷室保存ノ場合ハ遙カニ早く凝集ガ現レテ來ルコトハ明カナ事實デアル。

ナホ對照トシテトツタ蒸溜水懸濁液ニ於テハ觀察9日間ニハ凝集ヲ見ナカッタ。コレ等ノ事ヲ

綜合シテ BCG「ワクチン」ノ自然凝集ハ浮游液ノ pH ニヨツテ影響サレルトコロハ極メテ少ク且菌ノ凝集ハ浮游液中ニ含マレル鹽類ニヨルモノデアルト考ヘルニ至ツタ。

第 7 章 保護膠質ハ BCG ノ自然凝集ヲ阻止スルカ

今假リニ BCG 懸濁液ヲ疎水膠質液様ノモノト考ヘルナラバ親水膠質ヲ加ヘル事ニヨリソノ安定度ヲ増スノデハナイカト云フ考ヘガ浮ブ。余等ハカ、ル考ヘ方カラ保護膠質トシテ Gelatin,

Agar-Agar, 馬血清等ヲ生理的食鹽水ニ加ヘルコトニヨリ自然凝集ヲ阻止出來ルヤ否ヤヲ檢シタ。

第 1 節 實驗方法

馬鈴薯「グリセリン・ブイオン」培養 BCG ノ水分ヲトリ秤量シテ瑪瑙乳鉢中デヨク細挫シ、再蒸溜水デ 1 cc 中ノ 1 mg 含有ノ BCG 懸濁液ヲ作り、コノ懸濁液ヲ無菌のニ一度化學濾殘デ濾過シ、濾液 5 cc ヲ下記ノ 6 種ノ液體中ニ夫々分注シ、密栓シテ室温 (2°C—10°C) 中ニ保存スル。液體トシテ次ノモノヲ選ンデ比較シタ。

1. 生理的食鹽水
2. 4 倍稀釋 Santon 氏培地
3. 再蒸溜水
4. 0.5% Gelatin 加生理的食鹽水
5. 1% 馬血清加生理的食鹽水
6. 0.01% Agar—Agar 加生理的食鹽水

自然凝集ノ起ツタカドウカノ觀察ハ毎日數10回強ク振盪シタ後肉眼デ行ヒ肉眼デ判然ト凝集塊ノ認メ得ルモノハ (+) 疑ハシモノハ (±) 全然認メ得ナイ場合ハ (—) トシタ。尚ホ製造 2 週間

第 2 節 成績

肉眼ニヨル觀察成績ハ第 14 表ノ如ク生理的食鹽水ノ場合ニ於テハ製造翌日ニ既ニ凝集塊ヲ認メ得タノニ生理的食鹽水ニ保護膠質トシテ 0.5% Gelatin, 1% 馬血清又ハ 0.01% Agar—Agar ヲ加ヘタモノニハ凝集塊ヲ認メ得ラレナカッタ。4 倍稀釋 Santon 氏培地ノ場合ニハ生理的食鹽水ノミノ場合ノ如ク速カニシカモ判然トハ凝集ハ認メラレナカッタガ製造後日頃カラ凝集

第 14 表 各種浮游液ノ BCG 自然凝集比較

浮游液	經過日數							
	1 日	2	3	4	6	8	10	14
生理的食鹽水	+	+	+	+	+	+	+	+
4 倍稀釋 Santon 氏培地	—	—	—	—	±	±	±	±
再蒸溜水	—	—	—	—	—	—	±	±
0.5% Gelatin 加生理的食鹽水	—	—	—	—	—	—	—	—
1% 馬血清加	—	—	—	—	—	—	—	—
生理的食鹽水 0.0% Agar—Agar 加生理的食鹽水	—	—	—	—	—	—	/	/

後各懸濁液ヲ數十回強ク振盪シタ後夫々毛細管「ピペット」デソノ少量ヲ吸ヒ取り之ヲ載物硝子上ニトリ自然乾燥ヲ俟ツテ Ziehl-Neelsen 法デ染色鏡檢シ、菌凝集ノ多寡ヲ比較シタ。

ル塊ガ現ハレタヤウニ感ジラレタ。再蒸溜水ノ場合ハ 4 倍稀釋 Santon 氏液ヨリモ更ニ遅レテ微カニ凝塊ガ現レタヤウニ思ハレタ。製造後 2 週間經過シタモノヲ染色鏡檢シタ成績モ亦肉眼的所見トホバ一致シ生理的食鹽水ノ場合ニ最モ菌塊ガ多數ニ認メラレ 4 倍稀釋 Santon 氏培地及ビ再蒸溜水ノ場合ニハ生理的食鹽水ノ場合ヨリ菌塊遙カニ少ク、シカモ菌塊ノ大サガ

小デアル。保護膠質ヲ加ヘタモノニ於テハ菌塊ハ數視野ニ一個程度デシカモソノ菌塊ハ甚ダ小さい。

以上ノ實驗カラ菌ノ凝集ハ浮游液ノ鹽類ニヨリオコリソノ凝集ハ保護膠質ニヨリ或程度防止ス

總

余等ハ BCG 「ワクチン」ノ製法竝ニ保存ニ關スル研究中今日迄ノ實驗デ略々見當ノツイタ成績ノミヲコ、ニ記述シタソレヲ總括スルニ、

1) BCG ノ培養菌塊ヲ細挫スルニハ Pasteur 研究所ニ於テ使用シテキル器械ニヨル方法デハ余等ノ使用セントスル皮下接種用「ワクチン」トシテハ餘リニ細挫サレタ菌塊ガ大ニ過ギ使用不可能デアル。古來行ハレテキル瑪瑙乳鉢ニヨル方法ハ不満足ナガラコロニ代ルベキモノガナイノデ今日迄使用シテキタ。ソノ間、阪大今村教授ノトコロデハ「コルベン」中ニ「ガラス」球ヲ入レテコレヲ廻轉器ニカケテ廻轉シ菌塊ハ「ガラス」球間デ細挫サレル理ノ器械ヲ考案シ之レヲ使用シテキルノデソノ方法ト瑪瑙乳鉢ニヨル手ズリ法トヲ比較シテ見タ。ソノ成績ニヨルト器械ズリ法デハ手ズリ法ヨリ細挫ノ程度ガ悪イ、シカモ器械ズリノ方ガ生菌量ガ手ズリ法ヨリ減ズル傾向ヲ認メタ。

2) 次ニ BCG ノ浮游液トシテ生理的食鹽水ト4倍稀釋 Santon 氏培地トヲ比較シタ、4倍稀釋 Santon 氏培地ノ方ガ BCG ノ效力保存ニ關シ

ルコトガ出來ルコトヲ知ツタ。

余等ハ Gelatin ガ人體ニ注射シテ全然副作用ノナイコトヲ知ツテキルノデ BCG 「ワクチン」ノ自然凝集ヲ阻止スルタメニハ浮游液ニ Gelatin ヲ加ヘルトヨイト思フ。

括

テハ稍々生理的食鹽水ニ優ルガ、少クトモ1週間以内ノ保存デハ殆ソド差異ガナイ。然ルニ4倍稀釋 Santon 氏培地ノ場合ハ皮下接種局所ニ疼痛ヲ覺ユル點、雜菌ノ發育シ易キ點等ノ缺點ガアルノデ余等ハ今日デハ生理的食鹽水ヲ基礎トシタ浮游液ヲ使用スル事ニ傾イテキル。

3) 生理的食鹽水ノ如キ鹽類ノ含マレタ浮游液デ作ラレタ BCG 「ワクチン」ハ數日以内ニ自然凝集ヲ起ス事ヲ知り、之レヲ阻止スルニハ保護膠質ヲ加ヘル必要ガアル事ヲ認メタ、保護膠質中デモ Gelatin ヲ加ヘル事ガ最モ無難デアルヤウニ思フ。

稿ヲ終ルニ臨ミ日本學術振興會第8委員會前委員長故長與又郎先生竝ニ現委員長熊谷岱藏先生ニ敬意ヲ表シ終始御懇篤ナル御指導ヲ賜ツタ前傳染病研究所所員佐藤秀三教授ニ滿腔ノ謝意ヲ表シ、尙ホ實驗ニ使用シタ器械類ノ製作ハ大阪帝國大學教授今村荒男博士ノ御好意ニ依ルトコロガ多イ。コ、ニ深甚ナル謝意ヲ表スル。又、本研究ノ費用ハ日本學術振興會ノ援助ニヨルモノデアル併セテ深謝スル。

文

- 1) Rosenthal, S. R., Amer. Rev. Tuberc., 1937, 35, 678. 2) 吉田長之, 結核, 昭和14年, 第17

獻

- 卷, 第10號, 855頁. 3) 濱老名敏明, 東北醫學雜誌, 昭和16年, 第28卷, 914頁.