

# B.C.G.「ワクチン」ノ保存方法ニ關スル研究

財団法人結核豫防會結核研究所  
(指導者 柳澤謙博士)

## 細 沼 一 惠

### 第1章 緒 論

BCG「ワクチン」が結核ノ發病防止ニ對シ極メテ有効ナ事ハ我國ノ多クノ研究者ノ接種成績ヨリ觀テ明白デアル。然ルニ BCG「ワクチン」ハ生菌「ワクチン」デアツテソノ生菌デアル點ニ効力ガ存スルノデアルカラ現在「ワクチン」ノ保存方法ノ研究ガ實施上重要ナ役割ヲ演ズル。

現在皮下用トシテ 1cc. 中 B. C. G. 0.02mg.—0.08mg 含有ノモノ、皮内用トシテハ 1cc 中 B.C.G. 0.2mg.—0.6mg. 含有ノモノガ廣ク使用サレテ居ル。サキニ柳澤謙博士ハ皮下用「ワクチン」ノ保存方法ニ關シ研究シ氷室内靜止保存テハ製造後少クトモ約一週間ハ生菌數ノ略不變ナル事ヲ證シ又一定量ノ浮游液中ニ含マルル B. C. G. が多量ニナレバナルダケ即チ濃厚「ワクチン」程生菌ノ減少率ノ低イ事ヲモ證シ得タ。余ハ氏ノ指導ノ下ニ稍異リタル實驗方法ヲ用ヒ上記實驗ヲ追試シ次記ノ如キ結果ヲ得タノテ此處ニ報告スル次第デアル。

### 第2章 皮下接種用 B.C.G. 超音波「ワクチン」ノ等力價期間ニ就テ

保存期間ノ檢討ニ入ルニ先立ツテ先ヅ同一操作ニ仍リ調製サレタ「ワクチン」ヲ同一方法デ保存シソノ發育能力ニ差異アリヤ否ヤ檢討シ然後保存セルモノニツキ論ズベキモノト思考セラルルヲ以テ次記ノ方法ヲ以テ實驗ヲ行ツタ。

#### 第1節 實驗方法

1. 材料トシテハ超音波裝置ニテ製シタ 0.5%「ゲラチン」加生理的食鹽水浮游液デ B. C. G. ヲ 1cc. 中 0.08mg. ヲ含ムモノヲ用ヒ製造條件ハ久保田製超音波發生裝置デ超音波ヲ 10分作用セシメタ。

超音波發生條件ハ入力電壓 2500V, 周波數每秒 560KC. 電流ハ 230mA. デアル。

2. 保存條件 5cc. 宛「アムブレ」ニ入レテ密封 5°C 内外ノ氷室内ニ靜止保存スル。

3. 培養方法 製造直後、一週、二週、三週、四週間保存後ノ各「ワクチン」ノ 0.5cc 宛テ「メス、ピペット」ニテ凝結水ヲ除イタ岡一片倉氏培地ニ移植シ 38°C 中ノ孵卵器中ニ液ガ常ニ培地全面ヲ濕スガ如ク保存シ液ノ乾クヲ待ツテ封蠟シタ。尙保存セル「ワクチン」ハ培養前充分ニ振盪シタ。

4. 集落ノ觀察方法 集落ハ培養後多クハ 2週以後 3週以前ニ認メラレルノデソノ間ハ毎日觀察シ集落ヲ確認シタ日ト培養 3週間目ノ集落數ニヨリ生菌數ヲ推定比較シタ。

#### 5. 成績判定標準

- (一) 集落ヲ認メザルモノ
- (+) 集落數 1—10以内ノモノ
- (++) 集落數 10以上 100以下ノモノ
- (+++) 集落數 100以上ニシテソノ占ムル面積ノ培養基面ノ半以下ノモノ
- (####) 集落數 100以上ニシテソノ占ムル面積ノ培養基面ノ半以上ニ及ブモノ
- (#####) 集落數 100以上ニシテ、ソノ占ムル面積ノ培養基面ノ殆ド大分ヲ占ムルモノ

#### 第2節 實驗成績

同一ノ事ヲ 10回反覆シタ成績ハ第一表—第五表ニ示ス如クデアル。即チ製造直後ニ於テハ各「ワクチン」ハ培養後 16日目カ 17日目ニ集落ヲ發見サレ且培養 3週日目ノ集落數ニハ殆ンド差異ヲ認メ難イ。1週間氷室保存ノ場合ニ於テハ各「ワクチン」何レモ大體培養後 16日目乃至 18日目ニ集落ヲ認メ

ラレ且培養後 3週日目ノ集落數モ亦製造直後ノモノニ比スレバ稍不揃ヒデアルガ大體ニ於テヨク一致シテキル。

然ルニ 2週、3週、4週保存「ワクチン」ハ製造直後ノモノト其集落發見日モ培養 3週日ノ集落數モ殆ンド差異ノナイ場合モ少數例ニハアルケレドモ一般ニハ保存ノ週ヲカサネルニ從ツテ集落ノ發見日モオクレ集落數モ次第ニ減少スル傾向ガ明カデアル。

第 1 表 製造直後

ワクチン No.	培地 No.	検査日								
		十四日 目	十五日 目	十六日 目	十七日 目	十八日 目	十九日 目	二十日 目	二十一日 目	
1	1				+					+
	2				+					+
	3				+					+
	4				+					+
	5				+					+
2	1				+					+
	2				+					+
	3				+					+
	4				+					+
	5				+					+
3	1				+					+
	2				+					+
	3				+					+
	4				+					+
	5				+					+
4	1				+					+
	2				+					+
	3				+					+
	4				+					+
	5				+					+
	1				+					+
	2				+					+

5	3				+					+
	4				+					+
	5				+					+
6	1							+		+
	2							+		+
	3							+		+
	4							+		+
	5							+		+
7	1							+		+
	2							+		+
	3							+		+
	4							+		+
	5							+		+
8	1							+		+
	2							+		+
	3							+		+
	4							+		+
	5							+		+
9	1							+		+
	2							+		+
	3							+		+
	4							+		+
	5							+		+
10	1							+		+
	2							+		+
	3							+		+
	4							+		+
	5							+		+

第 2 表 1 週間保存

ワクチン No.	培地 No.	検査日								
		十四日 目	十五日 目	十六日 目	十七日 目	十八日 目	十九日 目	二十日 目	二十一日 目	
	1								+	+

1	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1			+			+
2	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1				+		+
3	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1				+		+
4	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1				+		+
5	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1				+		+
6	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1				+		+
7	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
	1				+		+

8	1				+		+
	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
9	1				+		+
	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+
10	1				+		+
	2				+		+
	3				+		+
	4				+		+
	5				+		+

第3表 2週間保存

ブク チ ン No.	検 査 日 No.	十四日	十五	十六	十七	十八	十九	二十	二十一
		目	日	日	日	日	日	日	日
1	1								+
	2								+
	3								+
	4								+
	5								+
2	1				+				+
	2				+				+
	3				+				+
	4				+				+
	5				+				+
3	1			+					+
	2								+
	3			+					+
	4			+					+

	5					+	+
4	1					+	+
	2					+	+
	3					+	+
	4					+	+
	5					+	+
5	1		+	+			+
	2		+	+			+
	3		+	+			+
	4		+	+			+
	5		+	+			+
6	1					+	+
	2					+	+
	3					+	+
	4					+	+
	5					+	+
7	1					+	+
	2					+	+
	3					+	+
	4					+	+
	5					+	+
8	1					+	+
	2					+	+
	3					+	+
	4					+	+
	5					+	+
9	1		+	+			+
	2		+	+			+
	3		+	+			+
	4		+	+			+
	5		+	+			+
10	1						+
	2						+
	3						+

4							+
5							+

第4表 3週間保存

備考

ワッタン No.	検査 地 No.	日 目	検査日					備考
			十四日	十五日	十六日	十七日	十八日	
1	1						+	+
	2							+
	3						+	+
	4							+
	5							+
2	1			+				+
	2			+				+
	3			+				+
	4			+				+
	5			+				+
3	1					+		+
	2					+		+
	3					+		+
	4					+		+
	5					+		+
4	1					+		+
	2					+		+
	3					+		+
	4					+		+
	5					+		+
5	1					+		+
	2					+		+
	3					+		+
	4					+		+
	5					+		+
1						+		+

6	2								+
	3								+
	4							+	+
	5								+
	1							+	+
7	2							+	+
	3							+	+
	4							+	+
	5							+	+
	1							+	+
8	2							+	+
	3							+	+
	4							+	+
	5							+	+
	1							+	+
9	2							+	+
	3							+	+
	4							+	+
	5							+	+
	1							+	+
10	2							+	+
	3							+	+
	4							+	+
	5							+	+
	1							+	+

第5表 4週間保存

備考

ワクチン No.	検査 地 No.	検査日										
		十四日	十五日	十六日	十七日	十八日	十九日	二十日	二十一日	二十二日	二十三日	二十四日
1	1											
	2											
	3											
	4											

2	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
3	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
4	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
5	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
6	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
7	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
8	5								+	+
	1								+	+
	2								+	+

+
+
+
+
+
+

	4									+
	5									+
9	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
	5								+	+
10	1								+	+
	2								+	+
	3								+	+
	4								+	+
	5								+	+

### 第3章 B.C.G.超音波「ワクチン」ノ濃度ト生菌數ノ減少率トノ關係ニ就テ

#### 第1節 實驗方法

1. 材料トシテノ超音波「ワクチン」ノ製法ハ前述セルモノニ準ズル
2. 保存條件

(A) 室温 (16°~34°C)	a) 1cc 中 B.C.G. 2mg. 含有「ワクチン」	i	製造當日
		ii	1週保存
		iii	3週保存
		iv	6週保存
(B) 氷室 (4°~9°C)	b) 1cc 中 B.C.G. 0.02mg. 含有「ワクチン」	i	製造當日
		ii	1週保存
		iii	3週保存
		iv	6週保存

3. 生菌測定法 B.C.G.「ワクチン」ノ 1cc 中 2mg. 含有ノモノヲ培養直前ニ「メス、コルベン」ヲ用ヒ 0.5%「ゲラチン」加生理的食鹽水ニテ 100 倍ニ稀釋シ、即チ 1cc 中 0.02mg 含有ノモノトナシ、元來 1cc 中 0.02mg. 含有ノモノト夫々  $10^{2n}$  (但  $n=1, 2, 3, \dots, 15$ ) 倍ニ一毎毎「メス、ピペット」ヲ換ヘテ階段稀釋ヲナシ、十分ニ振盪シタ後各稀釋毎ニ別々ノ「メス、ピペット」ヲ用ヒテ 0.5cc 宛凝結水ヲ除イタ岡一片倉氏培地 3本宛ニ注入シ前述ノ方法ニ準ジテ培養シ培養 4週後ノ集落數ヲ計測

シタ。以上ノ實驗ヲ 3 回反覆施行シタノデ 9 本ノ培地上ノ集落數平均値ヲ以テ比較シタ。

### 第2節 實驗成績

第6表  $10^2$ 倍ニ稀釋セルモノノ培養後 4週目ノ集落數(9本ノ算術平均値)

保存週	「ワクチン」濃度		保存週	「ワクチン」濃度	
	1cc 中 2mg	1cc 中 0.02mg		1cc 中 2mg	1cc 中 0.02mg
0	393	393	0	393	393
1	278	78	1	288	247
3	8	0	3	360	70
6	0	0	6	0	0

(A) 室温 (B) 氷室

第7表  $10^4$ 倍ニ稀釋セルモノノ培養後 4週目ノ集落數(9本ノ算術平均値)

保存週	「ワクチン」濃度		保存週	「ワクチン」濃度	
	1cc 中 2mg	1cc 中 0.02mg		1cc 中 2mg	1cc 中 0.02mg
0	21	21	0	21	21
1	11	1	1	20	25
3	1	0	3	22	1
6	0	0	6	0	0

(A) 室温 (B) 氷室

實驗成績ハ第 6 表及ビ第 7 表ニ示スガ如ク室温保存ノ場合ハ濃厚「ワクチン」(1cc 中 2mg 含有ノモノ)ハ稀薄「ワクチン」(1cc 中 0.02mg 含有ノモノ)ヨリ保存週數ニヨル生菌數ノ減少率が少ク、3週間保存ニ於テモ前者ハ尙少數ヲ生菌數ノ認メラレルニ反シ後者ニアツテハ生菌ヲ證明出來ナイ。又氷室保存ノ場合ハ濃厚「ワクチン」ニアツテハ 3週間保存マデ生菌ノ大シタ減少ヲ認メナイ。コレニ反シ稀薄「ワクチン」デハ 1週間保存迄ハ生菌數ノ減少率極メテ少イガ 3週間保存デハ顯著ナル減少ヲ示シテキル。

### 第4章 總括

以上ノ實驗成績ヨリ超音波製 B.C.G.「ワクチン」ハ毎月ホボ同様ノ生菌數ヲ保有シノ等力價期間ハ皮下用「ワクチン」デ大體一週間デアル事ヲ實驗的ニ證明スル事ガ出來タ。又保存ノ條件トシテ溫度ナル因子ガ重大ナル關係ヲ持チ氷室内保存ガ「ワクチン」ノ有効性ヲ長カラシメルニハ絕對ニ必

要ナル事が判明シタ。シカシテ現在用ヒラレテキルモノハ皮下用及ヒ皮内用ノ2種デアリ皮内用ノモノニツイテハ實驗ヲ行ハナカツタケレドモ之ハ皮下用ノモノヨリ濃厚デアツテ、濃厚ナモノハ然ラザルモノニ比シテ保存性ノ勝ル事ハ第3章ニベタ實驗デ明カデアルカラ皮内用「ワクチン」ノ等力價期間モ1週間ヨリ短イ事ハ無イト思ハレル。BCG「ワクチン」ノ濃厚ナモノハシカラザルモノニ比シ生菌ノ減少率少ク1cc中2mg.ヲ含ムモノニ於テハ之ヲ氷室内ニ保存スル時ハ3週間ニワタリ培養法デハ生菌ノ減少ヲ殆ド認メラレナイ事が明ニサレタ。

## 第5章 結 論

余ハB.C.G.「ワクチン」ノ保存ニ關シテ研究シ次ノ結論ヲ得タ。

1、皮下接種用「ワクチン」ノ等力價期間ハ氷室靜止保存ノ場合ニ於テ約1週間デアル。

2、B.C.G.超音波「ワクチン」ノ濃度ト生菌數ノ減少率トノ關係ヲ見ルニ濃厚ナモノ程減少率ハ少イ。

3、B.C.G.「ワクチン」ノ効力保存性ニ對スル溫度ノ影響ヲ見ルニ氷室内保存ハ室温保存ニ勝ル。

稿ヲ終ルニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導ヲ賜ツタ恩師柳澤謙氏ニ滿腔ノ謝意ヲ表スル。

## 文 献

柳澤 謙、其ノ他、結核昭和17年、第20卷、第10號。  
505頁-518頁