

クセン接種以外の原因でツベルクリン反応が陽性になることのあることを示すものである。これは自然感染によつてである。従つてこの谷を境にして二つの山を正しく分析追及することによつて、この集團の自然感染率を知ることが出来ると共に B.C.G ワクチンによる眞のツベルクリン反応の陽性率曲線をも求めることが出来る。参考までに B.C.G ワクチン接種前の昭和 16 年秋に於けるこの集團のツベルクリン反応陽性率を示すに第 11 表のようである。

第 11 表 B.C.G ワクチン接種前の対象集團の年齢別ツベルクリン反応陽性率(昭和 16 年 11 月調査)

年 齢	被検者数	陽性率(%)
8	452	7.4
9	423	7.6
10	441	8.3
11	403	9.4
12	398	9.8
13	388	11.6
14	316	12.0
15	227	12.7
16	104	13.6
計	3,152	8.3

## 5. 結 論

B.C.G ワクチン(B.C.G 0.04mg 含有)をツベルクリン反応陰性又は疑陽性の小學校及び中學校生徒の皮内に接種して、その後のツベルクリン反応陽性率の推移を見た成績から次のことが結論される。

(1) 1 回接種後の陽性率は 3 カ月で最高 85.1% を示したが、その後漸減して 1 カ年では 52.0%、2 カ年では 22.1% である。

(2) 接種回数をかさねるに伴つて早く高率に陽轉し、またその持続期間も長い。

稿を終るに臨み、この研究費の一部は日本學術振興會及び日本學術會議より援助を仰いだことを銘記し、感謝の意を表す。また、本研究實施に當つては財團法人結核豫防會結核研究所部員各位、公衆衛生院衛生微生物學部各員及び豫防衛生研究所結核部各員の大いなる援助に預つた。ここに衷心より深謝する次第である。

## 参 考 文 献

- (1) Rosenthal, S. R., Leslie, E. I., and Loewensohn, E.: J.A.M.A., 136:73—79, 1948.
- (2) Holm, J.: Publ. Health Rep., 61:1298—1315, 1946.
- (3) 染谷四郎、川村達: 日結, 7:372—378, 1948.

# 結核菌の定量培養に就いて

(其の五) 實驗的結核症の天竺鼠臟器よりの結核菌の定量培養……(2)

財團法人結核豫防會結核研究所(所長 隈部英雄)

(指導 柳 澤 謙)

小 川 辰 次 大 島 登 輝 夫 鳴 海 吾 郎

## I. 緒 論

我々は前報告<sup>(1)</sup>にひきつづいて、實驗的結核症の天竺鼠の臟器よりの、結核菌の定量培養の成績を報告し、大方の参考に供したい。

## II. 實驗方法

前報告と全く同様である。

## III. 實驗成績

(1) 接種菌の毒力と結核菌數

接種菌の毒力の如何によつて、ひき起される實驗的結核症の像も異なり、随つて、臟器中の結核菌數にも相違をきたすことは、考えられるところである。第 1 表中、柴野、柴田、近藤の三株は、喀痰より分離して半年足らずの菌株であり、F 株、陸 F 株は長期間に亙つて保存された菌株である。(1)(2)(3)の實驗は、これを同時に施行したのではないし、處理方法も、(1)(2)と(3)

第1表 接種菌の差異による結核菌数の変化

実験 番 号	接種 菌 株	菌 数			使、用 動物数	培養 方法
		脾	肝	肺		
(1)	F	103.4			9	2%硫
(2)	F	46.4			17	2%硫
(3)	陸F	1.2	0.04	0	12	1%苛
	柴野	351.0	87	88	5	1%苛
	柴田	208.	50	38	5	1%苛
	近藤	202.	212	26	5	1%苛

註 1)接種菌量は 0.1mg  
 2)菌接種後7~8週で屠殺  
 3)菌数は臓器 1.0mg 中に含むものを示す  
 4)培養方法は 2%硫は 2% 硫酸水で処理して岡片倉培地へ、1% 苛は 1%苛性曹達で処理して第一磷酸加里培地に植えた事を示す

とでは異なるので、これらのものを比較するのは多少無理と思われるが、その傾向だけはうかがい知ることが出来よう。先ず第1表で見ると、柴野、柴田、近藤株では菌数が最も多く、次いで(1)F、(2) F であり、陸Fは最も少い。(1)と(2)の実験は、同一菌株による実験であるが、(2)は(1)の実験後、6ヶ月目になされたものである。(1)に於ては、9正全部に、菌の發育を認めたが、(2)に於ては、17正中5正に於て、菌を證明することが出来なかつた。しかも(2)に於ては(1)に比して菌数が著明に少い。この場合、動物の状態、食餌の影響等は多少あつたにしても、6ヶ月の間に、菌株の毒力の低下を考えた方が、

第2表 陸F株の保存、動物通過による結核菌数の変化

実験番号並に 実験日	接 種 菌 量	屠殺迄の 期 間	脾の 菌 数	使 用 動 物 数	培 養 方 法
(1)19.3.19	0.01mg	VII週	19.2	5	2%H
(2)19.6.15	0.01mg	XVIII週	19.5	9	2%H
(3)22.10.10	0.1mg	VII週	1.2	12	1%N
(4)23.8.31	0.01mg	X週	36.4	10	

註: 1)実験日は昭和・月・日を示す  
 2)菌数は臓器 1mg 中の平均値を示す  
 3)培養方法の 2%Hは 2% の硫酸水で処理して、岡片倉培地へ、1%Nは 1%、苛性曹達水で処理して第一磷酸加里培地に培養した事を示す

最も妥當のように思われる。

次に(3)の実験に於ては、同量の菌の感染にかかわらず、柴田、柴野、近藤の三株は陸F株に比して、菌数が著明に多い。即ち、分離して間もない菌株は、毒力が強く、陸F株はこれらに比して毒力が著明に弱いということが出来る。

第3表は陸F株を接種した動物よりの脾の培養成績であるが、(1)の実験と(2)の実験では菌数に差がないが、これと同一の菌株を、3ヶ年間、グリセリン馬鈴薯培地に繼代培養をやつて保存したものを接種した成績は、実験(3)のように、前二者の場合の 10 倍量の菌の接種をやり、又培養方法も改善されたにかかわらず、菌数は著明に減少している。これは明らかに毒力の低下を物語るものである。この毒力の低下した菌株を天竺鼠に注射して、脾より分離して動物通過をやり、(3)の実験の 1/10 量、即ち、0.01mg 接種したものは、実験(4)でみるように、菌数が著明に増加している。即ち毒力が(1)(2)の実験の場合以上に回復した事を示すものである。このように臓器よりの定量培養は、肉眼的所見によるよりは、更に一層明確に、その毒力を示してくれる。

(2) 臨牀的所見と菌数

第3表 F株 0.1mg 接種動物の臨牀所見

屠殺迄の 期 間	體 重			ツベルクリン 反 應
	初	終	増減	
III週	311 (245~375)	343 (265~390)	+32	16
VII週	257.5 (295~410)	349.5 (290~390)	-17.5	17.2
XV週	308 (260~435)	443.5 (380~580)	+135.5	21.5
XXIII週	340.7 (300~390)	480 (360~620)	+139.3	11.7

註 1)體重は平均( )の中は最大と最小を示す  
 又増減は平均を示す單位は g である  
 2)ツベルクリン反應は 100倍、24時間判定で發赤の縦、横を平均したものである 單位は mm である

體重 245g~435g の大きさの天竺鼠に F株を 0.1mg 皮下に接種し、感染後 3 週、7 週、15 週、23 週に互つて屠殺して、脾を培養し、臨牀的の所見と對比してみた。培養は 2% の硫酸水で処理して、 $10^{-2}$  倍に稀釋し、岡片倉培地に培養した。

第4表 F株 0.1mg 接種動物の屠殺時の脾の肉眼的病變

肉眼的病變	-	+	++	+++	++++	+++++
經過日數						
Ⅲ週		1	4	4		
VII週	1		1	3	4	1
XV週		1	2	1	2	4
XXIII週	1		3	1	1	1

註; 1)肉眼的病變は佐藤、柳澤氏等の標準による  
2)數は動物數を示す

第5表 F株 0.1mg 接種動物の脾の中の菌の消長

屠殺迄ノ期間	菌數 平均值 (最少~最多)	使用動物數
Ⅲ週	188.9(9.3~566)	9
VII週	106.4(5.4~247.3)	9
XV週	9.9 (0~103)	10
XXIII週	6.5 (0~31.5)	7

註; 1)培養方法: 2% 硫酸水、岡片倉培地  
2)菌數は臓器 1mg の中に含むものを示す

即ち臓器 1.0mg に相當する菌量を算出した。その成績は第4、第5、第6表のようである。先ず體重の動きをみると、第4表のように、いずれも5~55gの増加で、平均 32gの増加である。7週では5正が10g~35g増加し、5正が15g~40g減少し、平均 17.5gの減少となつている。又15週、23週では、いずれも増加し、平均夫々135.5g、139.3gの増加である。又、ツベルクリン反應を100倍、24時間の判定でやつてみると、第3表のように3週、7週、と次第に強くなり、15週で最高を示し、23週では著明に弱くなつている。次に肉眼的の病變は、第4表でみるように、ツベルクリン反應と平行して、3週、7週となるにつれて變化が強くなり、15週で最も強い變化を示し、23週では、病變は弱くなつてきている。

尙、この表でみるように經過のながびくと共に種々の程度の病變を含むようになる。即ちツベルクリン反應、肉眼的所見からみると、15週目が最も強い病變を示しているが、體重の動きからみると7週目位が最も變化が強く、15週目、23週目ではかなり治癒に向いつつある状態ではないかと推定

される。しかるに臓器中の結核菌の消長を見ると、第5表のように、これらの臨牀的所見や肉眼的所見とは一致せず、3週目で最も多く、それより經過のながびくにつれて、次第に減少し、15週、23週では著明に減少してきた。即ちこの事實は、臓器中の結核菌は、臨牀的所見よりも、かなり早期に動きを示すものであることを暗示するものである。尙、15週、23週に於て急激に菌の減少したことは毒力の比較的弱い菌をもつて感染したことを、培養の方法が適當でなかつたがためと思われる。

第6表 陸F、柴野、柴田、近藤株接種動物の臨牀所見

菌株の種類	體重		ツベルクリン反應	
	初	終	11日目	23日目
陸 F	338 (270~570)	419 (310~500)	14	27.5
柴野	289 (245~330)	326 (275~415)	21.5	28.5
柴田	348 (330~370)	397 (355~430)	22	28
近藤	340 (275~380)	369 (300~420)	24	26

註; 1)體重はg單位で、平均( )ノ中は最大、最小を示す  
2)ツベルクリン反は應10倍、24時間判定、縦、横の發赤の大きさと mm<sup>2</sup> ではかつてその平均を示す

第7表 陸F、柴野、柴田、近藤株接種動物の脾の肉眼的の病變

肉眼的の病變		-	+	++	+++	++++
菌株の種類						
陸 F	F	4	8			
柴野	野			1	3	1
柴田	田			2	2	1
近藤	藤			1	3	1

註; 1)肉眼的病變は佐藤、柳澤氏等の標準による  
2)數は動物數を示す

次に、陸F株、柴野株、柴田株、近藤株と夫々0.1mg宛接種して、7~8週目に屠殺、脾、肝、肺を培養し、菌數と臨牀的所見を對比してみた。その成績は、第6表、第7表、及び第1表、實驗(3)である。先ず體重の動きをみると、第6表のように、いずれも増加している。又、ツベルクリ

ン反應は、10倍、24時間の判定で、感染後、11日目では、陸F株に比して、柴野、柴田、近藤の三株は著明に強い。しかし23日目では、これら四株の間には著明の差がない。又、肉眼的病變は、第7表で示すように、陸Fでは病變は軽度であるが、柴野、柴田、近藤の三株は共に病變が著明であつて、これに相應して菌數も著明の差のあることは、第1表、實驗(3)に示すようである。即ちこの事實から、ツベルクリン反應は、接種後早期に於ては感染菌の強弱、即ち毒力の強弱を判定することが出来るが、感染から時期のへだたるとつれて、感染菌の強弱を判定することは、むすかしくなると考へてよい。

(4) 稀釋倍數に就いて

定量培養に於ては、臓器を、處理液で適當に稀釋して1本の培地に發育した菌數を數え得る程度にし、しかも菌數が多いことが望ましい。第8表はF株を、0.1mgを接種して、脾を培養した成績で

第8表 同一臓器を二段三段に稀釋して培養した成績

感染後の 経過日數	動物 番號	稀釋 倍數 肉眼 所見	稀釋倍數			
			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
III週	222 (卅)	卅	163	16		
	221 (卅)	卅	158	14		
	229 (卅)	卅	187	25		
VII週	234 (-)		5.4	0.4	0.2	
	247 (卅)		60.8	6.0	1.2	
	233 (卅)		22.6	2.0	0.2	
	239 (卅)		247.3	21.0	2.2	
XV週	257 (卅)		103	6.8	0.2	
	258 (卅)		3.4	0.8	0	
XXIII週	256 (卅)	3.0	1.0	0		
	268 (卅)		3.0	1.0		
	261 (卅)	卅	31.5	1.0		
	269 (卅)	1.0	0	0		

註; 1)培養方法は2%硫酸水、岡片倉培地使用

あるが、3週目と2週目に於ては10<sup>-1</sup>倍、10<sup>-2</sup>倍、10<sup>-3</sup>倍とその三段の各について培養している

し、7週、15週では10<sup>-2</sup>倍、10<sup>-3</sup>倍、10<sup>-4</sup>倍と稀釋して、その各々を培養している。この場合、3週7週では臓器の稀釋が10<sup>-1</sup>倍、10<sup>-2</sup>倍、10<sup>-3</sup>倍となるに随つて、菌數も、大體1/10、1/100、等となつてゐる。随つて、若しこの際、10<sup>-1</sup>倍の稀釋、即ち10mgの臓器の菌數を知ることが必要であれば、222號の動物では、1630ヶであるといえるし、又234號の動物であれば、54ヶと計算することが出来る。以上は3週、7週のように、比較的早期の場合であるが、15週、23週では、これは全然あてはまらない。

第9表 0.1mgの菌接種動物の適當な稀釋の概要

臓器の種 類	経過日數 菌株	III週	VII— VIII週	XIII— XVIII週	XXIII週
		脾	強毒 (1000×) -3	(1000×) -3	
	普通 (100×) -2	(100×) -2	(100×) -2	(100×) -2	
肝	強毒 (100×) -2	(100×) -2	(100×) -2	(100×) -2	(100×) -2
	普通 (10×) -1	(10×) -1	(100×) -2	(100×) -2	
肺	強毒 (100×) -2	(100×) -2	(100×) -2	(100×) -2	
	普通 (10×) -1	(10×) -1	(100×) -2	(100×) -2	

註: 1)強毒とは分離培養して間もない菌株である  
2)普通とは保存菌株を示す  
3)-1 -2等は10<sup>-1</sup> 10<sup>-2</sup>倍を示す

これは前にも述べたように、比較的、菌株の毒力が弱かつたことと培養の方法が餘り適當でなかつたためと思われるが、現在使用している1%の苛性曹達で處理する方法によれば、これらの場合でもあてはまるもののように思われる。

我々の經驗に依ると、大體1本の培地では、菌を200ヶ位迄數えるのは容易であるが、250ヶ位となると、かなり骨が折れる。又250ヶ以上となると、不正確なものとなつてくる。この數え得る適當の稀釋は接種菌株の毒力、接種菌量、接種の方法及び菌接種後、屠殺する迄の期間等によつて、種々であると思われるので、先ず豫備實驗に於て、検討して、これを基準にして、本實驗をすることが望ましい。我々は種々の實驗に於て、脾肝、肺等を、第8表のように、いろいろと稀釋して、その二段、或いは三段の各々について培養してきたので、これらの實驗を基礎にしてどの程度

の稀釋が適當であるかを検討してみた。

しかしこれらの成績は處理方法も一定していないし、又接種した菌株も前述のように様々であつて、それに諸々の研究室で使用している菌株とも毒力の點では異なると思われるし、更に同一の菌株を使用して、同一の實驗をしても、其處に多少の差の出ることは避けられない。随つて、我々のように稀釋しても、必ずしも、適當とはいかないかも知れないが。

#### IV. 總括及び考察

我々は接種する菌株の種類によつて、又菌量によつて、又屠殺培養する迄の期間によつて、臓器中の菌數も、亦種々變化することを知つた。又同一菌株でも、分離してからの経過した年月によつて、菌數に著明の差の表われることをみた。これらの菌の消長は、かなりはつきりしており、臨床的所見が大差なくとも、又剖検時の肉眼的病變が大差なくとも、その間に判然とした菌數の差のあるのが常である。随つて、菌の毒力の評價に定量培養は、大きな役目を演ずることが出来るのではなからうか？

尙、動物實驗に使用する菌株が、比較的毒力が

弱いと、殊に菌接種後の期間がながいと、動物の間に、かなりの菌數の差が出てくるのを實驗している。又あまりに毒力が強いと動物は斃死するものが多くなり、實驗の正確は期せられない。随つて接種に使用する菌株は、豫め豫備實驗で毒力を判定し、接種菌量を決定することが妥當である。菌の消長は、臨床所見とは平行しないで先行するものである。

#### V. 結論

1)分離して間もない菌株の接種による場合と、分離後、ながく保存した菌株の接種の場合の臓器中の菌數を比較すると、前者の方が著明に菌數が多い。又同じ菌株でも、ながく保存したものでは菌數が少いし、これを動物通過して接種したものでは、又著しく菌數が多くなつてくる。

2)臓器中の菌の消長は、臨床所見とは必ずしも平行しない。そして菌の動きは臨床所見に先行する。

3)菌數の計算出来る稀釋倍數は、接種する菌株の毒力及び菌量、経過日數等で區々である。

#### 文獻

1)小川、大島、鳴海、未發表『結核』に採載の豫定

## 結核の素質に関する研究

(母子の關係について 第一報)

公衆衛生院微生物學部

豫防衛生研究所結核部

川 村 達

近時、B.C.G 接種後のツベルクリン、アレルギーは、免疫効果と大體平行して消長するものであると認められ<sup>(1)</sup>、接種後のツベルクリン(以下ツと略記)反應の強さを集團的に比較することは、接種方法に関する研究などにおいてとりあげられているけれども、反面、その際のツ反應の強さに、甚だしい個人的差異があることは、常に遭遇するところであるにもかかわらず、益子が海狸の體重増減がB.C.G 接種後のツ反應の強さとかなり密接な關係があること<sup>(2)</sup>、人體接種では陽轉しに

くい體質を實際上には問題にする必要がないこと<sup>(3)</sup>、を報告しているが、充分な検討は加えられていなかった。

従來、個人的にみたツ反應の強さは、結核症との結びつきに、價值ある關係を見出すことが困難で、むしろ非特異的な性質が多いものとされてきているが<sup>(4)(5)</sup>、結核症の進展において、アレルギーが占める部分の大さと、ツ反應がもつ、高い特異度と鋭敏度は、觀察の方法、時期等に考慮を加えることにより、新しい意義を見出し得る可能性