

肺炎雙球菌「アナワクチン」ノ免疫學的研究

第1報 肺炎雙球菌「アナワクチン」ノ 毒力ニ就テ特ニソノ生・煮兩「アナ ワクチン」ノ毒力ノ比較

京都帝國大學醫學部外科學研究室(鳥潟教授指導)

專修科生 横 田 宗 正

Die immunologische Erforschung über die Pneumokokken-Anavakzine

I. Mitteilung: Die Toxizität der nativen bzw. der abgekochten Anavakzine von Pneumokokken

Von

Dr. M. Yokota

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata)]

Testmaterialien

1. Die originale Pneumokokkenkultur.

Pneumokokken wurden 3 Tage lang in einer 1,0 Proz. Traubenzucker enthaltenden Bouillon (pH=7,8) gezüchtet. Die Kultur enthielt ca. 0,0021 ccm Erreger in 1,0 ccm Madium. Zum Vergleich der Toxizität wurde sie eine halbe Stunde lang bei 60°C erhitzt zur Prüfung herangezogen:

2. Die formalinisierte Pneumokokkenkultur.

Die oben erwähnte Kultur wurde zu 0,6 Proz. mit dem Formolwasser (Japan, Arzneibuch) versetzt und sofort zur Prüfung der Toxizität herangezogen.

3. Die formalinisierte, 3 Wochen lang bei 37°C aufbewahrte Pneumokokkenkultur.

4. Die formalinisierte, 3 Wochen lang im Eisschrank aufbewahrte Pneumokokkenkultur.

Experiment I

Die Herstellung der Anavakzine

Versuchsergebnisse

Die minimale letale Dosis der Testmaterialien, die die normalen Mäuse innerhalb 24 Stunden

sterben lässt, fiel je nach der Testmaterialien folgendermassen aus :

- 1) 0,07 ccm beim Testmaterial 1,
- 2) 0,07 ccm beim Testmaterial 2,
- 3) 1,5 ccm beim Testmaterial 3,
- 4) 0,12 ccm beim Testmaterial 4,
- 5) 8,0 ccm bei der Kulturbouillon mit 1,0 proz. Traubenzucker.
- 6) 2,0 ccm bei 1,0 proz. Traubenzucker enthaltender Nährbouillon mit 0,6 proz. Formalwasser.

7) 3,0 ccm bei demselben Testmaterial; und zwar 3 Wochen lang entweder in einem Bruttofen von 37°C oder auf Eis gelagert.

Daraus ergibt sich, dass die Toxizität der Pneumokokkenkultur erst durch die Kombination von 2 Prozeduren, d. h. 1. die Formalinisierung und 2. der 3 wöchentlichen Lagerung bei einer Temperatur von 37°C, merklich herabgesetzt werden kann. Im Testmaterial 3 ersehen wir also die Pneumokokken-Anavakzine.

Experiment II

Die Toxizität der originalen bzw. der abgekochten Pneumokokken-Anavakzine

Diesbezüglich fielen die Ergebnisse der Prüfung folgendermassen aus :

- 1) 1,5 ccm bei der originalen (nicht abgekochten) Pneumokokken-Anavakzine.
- 2) 1,75 ccm bei derselben Anavakzine; und zwar einen halbe Stund lang in einem bei 100°C siedenden Wasserbade gehalten.

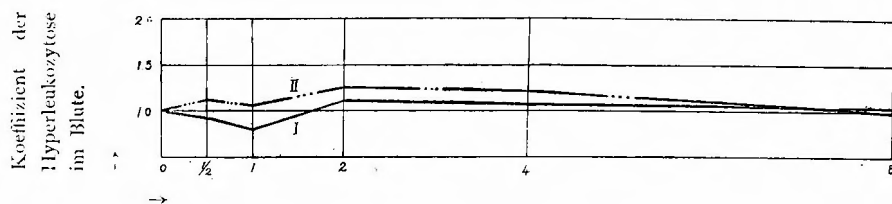
Daraus ist ersichtlich, dass die Toxizität einer Pneumokokkenanavakzine durch halbstündige Abkochung bei 100°C, eine der zur Vernichtung des Impedins heranzuziehenden Methoden, noch merklich herabgesetzt werden kann.

Experiment III

Beurteilung der Toxizität der Testmaterialien durch die damit herbeigeführte Schwankung der Leukozyten- zahl im zirkulierenden Blute

Bei normalen Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 300 g haben wir je 1/4 der minimalen letalen Dosis der Testmaterialien für Mäuse i.v. eingespritzt und die Schwankung der Leukozytenzahl im zirkulierenden Blute verfolgt, indem nach der Einverleibung der Testmaterialien je ein Probeblut entnommen worden war. Die Ergebnisse der Prüfung, die ja Mittelwerte von je 2 eine Versuchsgruppe bildenden Tieren darstellen, sind in Fig. 1 kurvenmässig wiedergegeben.

Fig. 1



Die nach der Einverleibung der Testmaterialien abgelaufene Zeit in Stunden.

I=Schwankung der Leukozytenzahl im Blute bei der Anavakzine.

II=Do. bei demselben Testmaterial; und zwar eine halbe Stunde lang bei 100°C abgekocht.

Aus dem Verlauf der Kurven in Fig 1. ergibt sich, dass die Toxizität der abgekochten Anavakzine ungeachtet des gleichen Bruchteils der gegen Mäuse gerichteten Dosis letalis minima doch noch merklich kleiner als die der originalen Anavakzine ist.

Zusammenfassung

1. Die Toxizität der originalen Bouillonkultur von Pneumokokken liess sich durch die Kombination von Formalinisierung (0,6 Proz. als Eormolwasser) und 3 wöchentlicher Lagerung bei einer Temperatur von 37°C ca. auf 1/21 reduzieren. Die minimale tödliche Dosis für Mäuse betrug nämlich 0,07 ccm bei der originalen (durch halbstündige Erhitzung bei 60°C sterilisierten) Kultur und 1,5 ccm bei der korrespondierenden Anavakzine.

2. Die abgekochte Anavakzine erwies sich 1/1,17 mal weniger toxisch als die originale (nicht abgekochte) Anavakzine. Die für Mäuse gerichtete D. l. m. betrug nämlich 1,5 ccm bei der originalen und 1,75 bei der abgekochten Anavakzine.

3. Der zwar klein aber deutlich konstatierbare Unterschied zwischen der (nicht abgekochten) originalen und der abgekochten Anavakzinen in der Toxizität liess sich, wie oben erwähnt, noch durch die damit herbeigeführte Schwankung der Zahl der Leukozyten im zirkulierenden Blute normaler Meerschweinchen beurteilen.

(Autoreferat)

緒 言

近來免疫元性物質ヨリ毒力ノミヲ破却シ、免疫力ノミヲ依然トシテ保有セシメ得ルモノナル理想ノ下ニ細菌毒素或ハ「ワクチン」ニ「フォルマリン」ヲ添加及ビ加熱ヲ行ヒ「アナトキシン」乃至「アナワクチン」ト稱シテ廣ク應用セラルル傾向アリ。

余等ハ肺炎雙球菌「アナソクチン」ニ就キ、ソレガ果シテ理想的ノ免疫元ナリヤ否ヤ、猶ホ且ツ「イムペヂン」ヲ含有スルモノニハ非ザルカヲ實驗結果ニ匡サント欲ス。

本篇ニ於テハ先ヅ肺炎雙球菌「ワクチン」ノ毒力ガ「フォルマリン」添加、一定時日ノ加温、氷冷、煮沸等ノ諸操作ニヨリテ如何ナル影響ヲ受クルカニ就キ検索セリ。

實 驗 第 1

肺炎雙球菌ノ毒力ニ及ボス「フォルマリン」添加ノ影響

可 檢 材 料

(1) 肺炎雙球菌液(基本菌液)

A系肺炎雙球菌ヲ1.0%葡萄糖加肉汁ニ3日間培養シ、之レヲ攝氏60度ニ30分加溫殺菌ス。
此ノ菌液1.0坵中ノ菌量ハ約0.0021坵ナリ。

(2) 0.6%_Lフォルマリン¹加肺炎雙球菌液

基本菌液ニ日本藥局方_Lフォルマリン¹水ヲ0.6%ノ割合ニ添加ス。

(3) 1.0%葡萄糖加肉汁

基本菌液ニ用ヒタル培養基液ナリ。pH=7.8

(4) 0.6%_Lフォルマリン¹加1.0%葡萄糖加肉汁

(3)ニ日本藥局方_Lフォルマリン¹ヲ0.6%ノ割合ニ添加セルモノ。

可檢材料ハスベテ調製直後ノモノヲ實驗ニ供セリ。

檢 査 方 法

試験動物トシテ體重10.0~12.0瓦ノ白色_Lマウス¹3頭ヲ1群トシ多數準備シ置ク。

可檢材料ノ一定量ヲ_Lマウス¹ノ腹腔内ヘ注射シテ、24時間内ノ轉歸ヲ觀察シ、1群3頭全部ヲ斃死セシムル量ヲ以テ致死量トナシ、ソノ最小量ヲ求ム。

尙ホ基本菌液ノ毒力ハ著シク猛烈ニシテ、ソノ儘ヲ用ヒテハ微量ノ致死量ヲ判定シ難キニヨリ、培養基液(3)ヲ以テ基本菌液及ビ_Lフォルマリン¹加菌液ヲ稀釋シテ使用シ、基本菌液トシテノ絶對量ヲ換算セリ。

検査成績ハ第1表ニ示サレタリ。

第 1 表

可檢肺炎菌液ノ對_Lマウス¹最小致死量

基 本 肺 炎 菌 液			0.6% _L フォルマリン ¹ 加肺炎菌液			0.6% _L フォルマリン ¹ 加1.0%葡萄糖加肉汁			1.0% 葡萄糖加肉汁		
體重 (瓦)	注射量 (坵)	轉 歸	體 重 (瓦)	注射量 (坵)	轉 歸	體 重 (瓦)	注射量 (坵)	轉 歸	體 重 (瓦)	注射量 (坵)	轉 歸
10.7	0.03	生	10.5	0.03	生	10.3	1.0	生	10.5	4.0	生
10.7	"	"	10.7	"	"	10.5	"	"	10.5	"	"
10.7	"	"	10.5	"	"	10.7	"	"	10.0	"	"
10.5	0.04	"	10.5	0.04	死	10.5	1.25	"	11.0	5.0	"
10.7	"	"	10.7	"	生	10.7	"	"	10.7	"	"
10.7	"	死	11.0	"	"	11.0	"	"	10.5	"	"
10.7	0.05	生	10.7	0.05	"	11.0	1.5	"	10.0	6.0	"
11.0	"	"	10.5	"	"	10.7	"	"	10.3	"	"
10.0	"	死	10.4	"	"	10.5	"	死	10.5	"	"
10.7	0.06	生	11.0	0.06	死	10.7	1.75	"	10.7	7.0	死
10.5	"	"	11.0	"	生	10.5	"	病	10.5	"	即死
10.4	"	死	10.7	"	"	11.0	"	生	10.7	"	生
10.5	0.07	"	10.7	0.07	死	10.7	2.0	死	11.0	8.0	死

10.5	0.07	死	10.5	0.07	死	10.5	2.0	死	11.0	8.0	即死
10.4	„	„	10.5	„	„	10.7	„	„	11.0	„	„
10.7	0.08	„	10.7	0.08	„	11.0	2.5	„	11.5	9.0	„
11.0	„	„	10.4	„	„	11.0	„	„	10.7	„	„
11.0	„	„	10.9	„	„	10.9	„	„	11.0	„	„

所 見 概 括

基本菌液及び0.6%_Lフォルマリン⁷加直後菌液ハ兩者共ニ0.06_g迄ノ用量ニテハ生死交々ニシテ3頭全部ヲ斃死セシムルニ足ラザルモ、0.07_gヲ以テハ1群3頭ヲ全部斃シタリ。

1.0%葡萄糖加肉汁ハソノ7.0_gニテハ1群3頭中2頭ヲ斃シタレドモ尙ホ生存セルモノ1頭アリ、8.0_gニ至リテ3頭共全部注射後暫時ニシテ或ハ直後ニ斃死セリ。

0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖肉汁ヲ以テハ1.5_gニテ死スルモノアリタルモ3頭全部ヲ斃死セシムルニハ2.0_g以上ヲ要シタリ。

以上ノ所見ニヨリ各可檢材料ノ對_Lマウス⁷最小致死量ハ次ノ如ク判定セラル。

基本菌液……………0.07_g

0.6%_Lフォルマリン⁷加菌液……………0.07_g

1.0%葡萄糖加肉汁……………8.0_g

0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁……………2.0_g

即チ基本菌液及び0.6%_Lフォルマリン⁷加菌液共ニソノ最小致死量ハ0.07_gニシテ、之レニヨリテ基本菌液ノ毒力ハ0.6%_Lフォルマリン⁷ノ單ナル添加ニヨリテハ毫モ減弱セザルヲ知ルベシ。

尙ホ對照タル0.6%_Lフォルマリン⁷加培養基液ノ最小致死量ハ遙ニ大ニシテ2.0_g、1.0%葡萄糖加肉汁ノソレハ8.0_gニシテ殆ンド無害ト認メ得ベシ。

實 験 第 2

_Lフォルマリン⁷加肺炎雙球菌液ノ毒力ニ及ボス3週間加温乃至氷冷ノ影響

可 檢 材 料

- (1) 0.6%_Lフォルマリン⁷加肺炎雙球菌液ヲ攝氏37度ニ3週間放置シタルモノ
- (2) 0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁ヲ攝氏37度ニ3週間放置シタルモノ
- (3) 0.6%_Lフォルマリン⁷加肺炎雙球菌液ヲ氷室ニ3週間放置シタルモノ
- (4) 0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁ヲ氷室ニ3週間放置シタルモノ

檢 査 方 法

實驗第1ト同一方法ニ準據セリ。

検査成績ハ第2表ニ示サレタリ。

第 2 表

 Γ フォルマリン Γ 添加肺炎菌液ノ毒力ノ減弱ニ就テ

37°C = 3週間放置シタル場合						氷室 = 3週間放置シタル場合					
0.6% Γ フォルマリン Γ 加肺炎菌液			0.6% Γ フォルマリン Γ 加1.0%葡萄糖加肉汁			0.6% Γ フォルマリン Γ 加肺炎菌液			0.6% Γ フォルマリン Γ 加1.0%葡萄糖加肉汁		
體重 (瓦)	注射量 (兎)	轉 歸	體重 (瓦)	注射量 (兎)	轉 歸	體 重 (瓦)	注射量 (兎)	轉 歸	體 重 (瓦)	注射量 (兎)	轉 歸
10.2	0.5	生	11.0	1.5	生	10.5	0.06	生	10.5	1.5	生
10.0	"	"	10.5	"	"	10.9	"	"	10.5	"	"
10.9	"	"	10.7	"	"	10.5	"	死	11.0	"	"
10.7	0.75	"	10.7	1.75	"	10.7	0.07	生	11.0	1.75	"
11.0	"	"	10.4	"	"	10.4	"	"	10.4	"	死
11.0	"	"	11.0	"	"	11.0	"	"	10.3	"	生
10.5	1.0	"	11.0	2.0	"	11.0	0.08	"	10.7	2.0	死
10.3	"	"	10.7	"	"	10.9	"	死	10.7	"	生
10.7	"	"	10.7	"	"	10.7	"	生	10.3	"	"
10.7	1.25	死	10.9	2.5	"	10.7	0.1	"	10.5	2.5	"
10.7	"	瀕死	10.4	"	死	10.5	"	病	10.0	"	病
10.0	"	生	10.4	"	生	11.0	"	死	11.0	"	死
10.0	1.5	死	10.7	3.0	死	11.5	0.12	"	11.0	3.0	"
10.5	"	"	10.5	"	"	11.0	"	"	10.5	"	"
10.9	"	"	11.0	"	"	11.0	"	"	10.5	"	"
11.0	1.75	"	11.0	3.5	"	11.0	0.14	"	11.0	3.5	"
10.7	"	"	10.5	"	"	10.7	"	"	10.0	"	"
11.0	"	"	10.7	"	"	11.0	"	"	10.5	"	"

所 見 概 括

(1) 0.6% Γ フォルマリン Γ 加肺炎雙球菌液ヲ攝氏37度 = 3週間放置シタルモノノ對 Γ マウス Γ 最小致死量ハ1.5兎ナリ。(但シ3週間以前 = 於ケル最小致死量ハ0.07兎)

(2) 0.6% Γ フォルマリン Γ 加1.0%葡萄糖加肉汁ヲ攝氏37度 = 3週間放置シタルモノノ對 Γ マウス Γ 最小致死量ハ3.0兎ナリ。(但シ3週間以前 = 於ケル最小致死量ハ2.0兎)

(3) 0.6% Γ フォルマリン Γ 加肺炎雙球菌液ヲ氷室 = 3週間放置シタルモノノ對 Γ マウス Γ 最小致死量ハ0.12兎ナリ。(但シ3週間以前 = 於ケル最小致死量ハ0.07兎)

(4) 0.6% Γ フォルマリン Γ 加1.0%葡萄糖加肉汁ヲ氷室 = 3週間放置シタルモノノ對 Γ マウス Γ 最小致死量ハ3.0兎ナリ。(但シ3週間以前 = 於ケル最小致死量ハ2.0兎)

0.6% Γ フォルマリン Γ 加肺炎雙球菌液ヲ3週間加溫シタルモノト同時日間氷冷シタルモノトノ最小致死量ノ比ハ1.5兎 : 0.12兎 = 12.5 : 1.0即チ12.5倍ノ相違ヲ生ジタリ。

0.6% Γ フォルマリン Γ 加1.0%葡萄糖加肉汁ヲ3週間加溫シタルモノト同時日間氷冷シタルモノトノ最小致死量ハ兩者共 = 3.0兎ニシテ菌體乃至菌物質ノ無キ場合 = 於ケル對照基液 = 於テハ加溫、氷冷共 = 何レモ同程度ノ毒力減弱ヲ示シタリ。

以上ノ所見ヲ可檢材料調製直後ニ行ヒタル實驗第1(第1表)ノ成績ト對比スルニ、對照タル0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁ニ於テハ3週間ノ加溫ト氷冷ノ影響トハ共ニ何レモ同一ニシテ3.0_坵:2.0_坵=1.5:1.0即チ僅ニ1.5倍ノ毒力減弱ヲ示セルニ對シ、0.6%_Lフォルマリン⁷加肺炎雙球菌液ニ於テハ_Lフォルマリン⁷添加直後ニ比シ、加溫シタルモノノ毒力が1.5_坵:0.007_坵=21.4:1.0即チ實ニ21.4分ノ1ニ低減セル事ハ注目ニ値ス。之レニ反シ加溫ノ代リニ氷冷シタルモノハ0.12_坵:0.07_坵=1.7:1.0即チ僅ニ1.7分ノ1ノ毒力減弱ヲ示シタルノミナリ。

即チ培養基液ニ_Lフォルマリン⁷ヲ添加シ、一定時日間加溫或ハ氷冷スルモノノ影響僅微ニシテ基液ソレ自身ノ毒力ノ低減ハ同一程度ナルモ、肺炎雙球菌液ニ0.6%ノ割合ニ_Lフォルマリン⁷ヲ添加シ且ツ一定時日間加溫スル事ニヨリ著シク(21.4分ノ1)氷冷シタルモノ(1.7分ノ1)ヨリモ毒力ノ減弱スルヲ認メタリ。

如斯0.6%_Lフォルマリン⁷加3週間37°C加溫肺炎雙球菌液ガ世上肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷ト稱セラルルモノナリ。

實 驗 第 3

肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷ノ毒力ニ及ボス攝氏100度30分間煮沸ノ影響

一般ニ生態抗原ハ一定時間煮沸セラルル事ニヨリテ毒力ヲ低減スルモノナリ。

本實驗ニ於テハ肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷ニ於テモ亦タ煮沸ニヨリテ毒力が低減スルヤ否ヤヲ確定スル所アラントス。

可 檢 材 料

(1) 肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷

前述ノモノニ同ジ。

(2) 煮沸肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷

肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷ヲ試験管中ニ熔封シ攝氏100度ニ沸騰シツツアル重湯煎中ニテ30分間煮沸シタルモノナリ。

(3) 0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁

攝氏37度ニ3週間加溫シタルモノナリ。

(4) 煮沸0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁

(3)ヲ攝氏100度ニ沸騰シツツアル重湯煎中ニテ30分間煮沸セルモノナリ。

檢 査 方 法

實驗第1, 第2ニ同ジ。

生態肺炎雙球菌_Lアナワクチン⁷, 生態加溫0.6%_Lフォルマリン⁷加1.0%葡萄糖加肉汁ヲ以テノ毒力檢査成績ハ第2表ニ同ジ。

煮沸可檢材料ヲ以テノ毒力檢査成績ハ第3表ニ示サレタリ。

第 3 表

100°C = 30分間煮沸シタル肺炎菌 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$ ノ毒力

煮沸肺炎菌 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$			1.0%葡萄糖加肉汁		
體重(瓦)	注射量(託)	轉 歸	體重(瓦)	注射量(託)	轉 歸
11.0	1.0	生	11.0	1.75	生
10.7	"	"	10.7	"	"
10.5	"	"	10.7	"	"
10.3	1.25	"	11.5	2.0	死
10.7	"	"	11.7	"	生
10.5	"	死	11.2	"	"
11.0	1.5	病	11.0	2.5	"
11.3	"	死	11.5	"	死
11.0	"	"	11.7	"	"
10.7	1.75	"	11.0	3.0	"
10.7	"	"	10.7	"	"
10.5	"	"	11.7	"	"
10.5	2.0	"	11.0	3.5	"
10.3	"	"	11.5	"	"
10.7	"	"	10.7	"	"

所 見 概 括

肺炎雙球菌 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$ ヲ攝氏 100 度 = 30分間煮沸シタルモノノ 1.5託(生態 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$ ニ於ケル最小致死量)ヲ以テハ試獸 3 頭全部ヲ 2 時間以内ニ斃スニ足ラズシテ $\bar{L}$ 病 $\bar{r}$ ノ狀態乍ラ 1 頭ハ生存シタリ。正確ヲ期スルガ爲ニ $\bar{L}$ マウス $\bar{r}$ 8 頭ヲ以テ同一用量ノ毒力ヲ檢シタルニ内 3 頭ハ生存シタリ。1.75託ヲ以テハ 1 乃至 4 時間以内ニ 3 頭全部斃死シタリ。即チ最小致死量ハ 1.75託ナリ。

之レニヨリテ肺炎雙球菌 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$ ノ毒力ハ煮沸ニヨリテ僅少ナレドモ(1.5 : 1.75ノ比ニテ)低下スル事ヲ知り得ベシ。

加温 0.6% $\bar{L}$ フォルマリン $\bar{r}$ 加 1.0%葡萄糖加肉汁ヲ煮沸シタルモノノ最小致死量ハ 3.0託ニシテ生態ニ於ケル毒力ト全く同一ナリ。即チ煮沸ニヨリテ全く影響サレズ。

實 驗 第 4

海獺白血球數動搖ヨリ觀タル可檢材料ノ毒力

可 檢 材 料

- (1) 肺炎雙球菌 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$
- (2) 煮沸肺炎雙球菌 $\bar{L}$ アナワクチン $\bar{r}$
- (3) 加温 0.6% $\bar{L}$ フォルマリン $\bar{r}$ 加 1.0%葡萄糖加肉汁

以上ハ實驗第 3ニ於テ使用シタルト同一ノモノナリ。

- (4) 氷冷 0.6% $\bar{L}$ フォルマリン $\bar{r}$ 加肺炎雙球菌液

實驗第 2ニ於テ使用シタルト同一ノモノナリ。

檢 査 方 法

可檢材料ノ對 $\bar{L}$ マウス $\bar{r}$ 最小致死量ノ 1/4ヲ可檢用量ト定メタリ。

コノ際スペテノ可檢材料ノ用量ヲ同一ナラシムルト同時ニ計量ニ便ナラシムル爲ニ、加温 0.6% $\bar{L}$ フォルマリン $\bar{r}$ 加 1.0%葡萄糖加肉汁ノ最小致死量 3.0託ヲ標準用量トナシ、兩餘ノ可檢材料ノ對 $\bar{L}$ マウス $\bar{r}$ 最小致死量(第 2 表、第 3 表参照) = 0.85%食鹽水ヲ添加シ全量 3.0託トナシ、即チ凡テニ向ツテ同一容量トナシ、ソノ 1/4宛ヲ可檢用量トセリ。

試験トシテハ體重300瓦内外ノ新鮮健常海狸ヲ用ヒ1群2頭宛4群ヲ準備シ、先ヅ健常時ノ血液單位容積内白血球數ヲ計算シ置ク。

次デ同一容量トナシタル可檢材料ノ各 $\frac{1}{4}$ 即チ0.75耗ヲ頸靜脈内ヘ注射シ、ソノ後30分、1時、2時、4時、8時ノ5回ニ互リテ單位容積内白血球數ヲ檢ス。検査成績ハ第4表及ビ第1圖ニ示サレタリ。

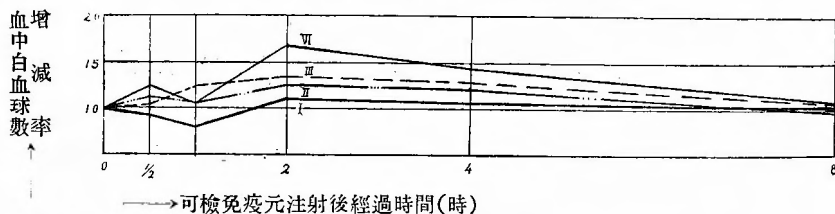
第 4 表

對 L マウス L 最小致死量ノ $\frac{1}{4}$ 注射ニヨル海狸白血球數ノ動搖

可 檢 材 料	注射前	注 射 後 經 過 時 間 (分)					5回検査ノ平均
生態肺炎雙球菌 L アナワクチン L	9225 1.0	8600 0.93	7150 0.78	10147 1.10	9700 1.05	8925 0.97	8904 0.96
煮沸肺炎雙球菌 L アナワクチン L	9550 1.0	10900 1.14	10160 1.06	11950 1.26	11350 1.19	9075 0.95	10687 1.12
加溫 0.6% L フォルマリン L 加 1.0% 葡萄糖加肉汁	13325 1.0	13375 1.04	16625 1.25	17925 1.35	17125 1.29	13525 1.02	15815 1.19
氷冷 0.6% L フォルマリン L 加 1.0% 葡萄糖加肉汁	9950 1.0	12500 1.26	10547 1.06	16575 1.67	14100 1.42	10525 1.06	13645 1.37

備考：上段ノ數ハ白血球數、下段ノ數ハ増減率

第 一 圖 各種可檢免疫元ニヨリ血中白血球數ノ推移(第4表参照)

I 肺炎菌 L アナワクチン L ニ於ケル白血球數動搖曲線II 煮沸肺炎菌 L アナワクチン L ニ於ケル同上III 加溫 L フォルマリン L 加肉汁ニ於ケル同上IV 氷冷 L フォルマリン L 加肺炎菌液ニ於ケル同上

1.0ニ可檢抗原注射前ノ血中白血球數

所 見 概 括

可檢各抗原ニ於ケル白血球數増減曲線(第1圖)ハソノ走行ノ傾向ニ於テハ相似タルモノアレドモソノ數値ニ於テハ相違アリ。即チ肺炎雙球菌生 L アナワクチン L ニ於テハ寧ロ白血球過少ノ經過ヲ示シ、氷室保存 L フォルマリン L 加肺炎雙球菌液ニ於テハ著明ナル白血球過多ヲ示シタリ。

煮 L アナワクチン L ト加溫 L フォルマリン L 加肉汁トハ何レモ輕度ノ白血球過多ノ状態ニテ前二

者ノ略々中間＝アリ。

對 L マウス I 最小致死量ノ關係ヨリ見レバ四者何レモソノ毒力ハ相近似セルモノナルベク、就中生 L アナワクチン I ガ多少トモ白血球過少ヲ示セルハ要スル＝コレ等抗原用量ガ毒力過大＝近キ位相＝於テ檢セラレタルモノト考ヘラル。ソノ點ヨリスレバ白血球數動搖＝現レタル各種可檢材料ノ上記用量＝於ケル毒力ノ順位ハ下ノ如シ：——

I 肺炎雙球菌生 L アナワクチン I > II 肺炎雙球菌煮 L アナワクチン I > III 加溫 L フォルマリン I 加肉汁 > IV 氷室保存 L フォルマリン I 加肺炎雙球菌液。

毒力検査ノ指標トシテノ白血球數ノ動搖ハ對 L マウス I 最小致死量ヨリモ遙＝鋭敏ナルモノナリ。從ツテ兩者ノ成績ガ正確＝一致セザル事モアリ得。

唯予等ガ以上ノ成績＝於テ注目セント欲スルハ生・煮 L アナワクチン I ノ毒力ノ差違ガ對 L マウス I 最小致死量＝現ハレタルヨリモ尙ホ多少大ナル傾向アル事ナリ。

原 L アナワクチン I > 煮 L アナワクチン I = 加溫 L フォルマリン I 加肉汁 < 冷蔵 L フォルマリン I 加 L ワクチン I

何ントナレバ兩者トモ何レモ對 L マウス I 最小致死量ノ $\frac{1}{4}$ ヲ使用シタル＝拘ラズ海獺白血球數＝現ハレタル成績ヨリ見レバ生 L アナワクチン I ノ方ガ猶ホ且ツ毒力大ナレバナリ。

結 論

(1) A 系肺炎雙球菌ノ1.0%葡萄糖加肉汁3日間培養ヲ加溫、殺菌シテ得タル基本菌液ノ L マウス I ＝對スル最小致死量ハ0.07 g ナリ。

(2) 基本菌液＝0.6%ノ割合＝日本藥局方 L フォルマリン I 水ヲ添加シタルモノノ L マウス I ＝對スル最小致死量モ亦タ0.07 g ナリ。即チ單ナル L フォルマリン I 添加＝ヨリテハソノ直後毒力ノ減弱ヲ來サズ。

(3) 0.6% L フォルマリン I 加肺炎雙球菌液ヲ攝氏37度＝3週間保存スル事＝ヨリテ(L アナワクチン I)著シク(21.4倍)毒力ヲ減弱シ L マウス I ＝對スル最小致死量ハ最初ノ0.07 g ヨリ1.5 g トナリタリ。即チ L アナワクチン I ノ毒力減弱ハ攝氏37度＝3週間保存スル事＝ヨリ初メテ齎ラサレタルモノナリ。

(4) 0.6% L フォルマリン I 加肺炎雙球菌液ヲ氷室＝3週間保存スルモ毒力ハ僅＝(L マウス I ＝對スル最小致死量0.12 g 、冷蔵前ノ1.7倍)減弱スルノミナリ。

(5) 即チ同時日間、同一材料ヲ加溫シタルト氷冷シタルト＝ヨリ 1.5 g : 0.12 g = 12.5 : 1.0 即チ1/12.5ノ毒力減弱程度ノ相違ヲ示シタリ。

(6) 0.6% L フォルマリン I 加1.0%葡萄糖加肉汁ノ L マウス I ＝對スル最小致死量ハ2.0 g ニシテ、3週間加溫シタルモノモ氷冷シタルモノモ共＝僅＝毒力(1/1.5)ヲ減弱シ、ソノ最小致死量ハ均シク3.0 g トナリタリ。

即チコノ場合＝ハ加溫、冷却ノ影響ハ極メテ僅微ナリ。

- (7) 肺炎雙球菌_Lアナワクチン¹ハ煮沸ニヨリテ僅少(1:1.17)ナレドモソノ毒力ヲ減弱ス。
- (8) _Lマウス¹ニ對スル最小致死量ヲ指標トセル上記諸可檢材料ノ毒力檢査成績ハ海獺白血球數ヲ指標トセル檢査成績ト正確ニハ一致セザリキ。ソノ際肺炎雙球菌生・煮_Lアナワクチン¹ノ毒力ノ差違ハ對_Lマウス¹最小致死量ニ現ハレタルヨリモ尙ホ多少大ナル傾向アルコトヲ知リタリ。