

22

淋菌に関する研究

特に培養方法並びにアレルギー反應に就て

寺木 忠

(厚生科學研究所疫學統計部)

淋の培養、就中初代分離培養に際し、その培養環境内へ 8-10% に炭酸瓦斯を作用せしめる時、淋菌の發育は促進され、従つて分離成績が極めて良好となることは、今日一般に認められる事實である。しかるにその手技が複雑であるためか、本法はまだ日常簡易化する迄に至つてゐない。最近野畑氏は、結晶炭酸曹達と結晶尿酸とを以て極めて簡単に、炭酸瓦斯を定量的に供給する方法を發表し、これを Bang 氏牛流産菌の分離培養に應用して好成績を挙げた。そこで余は、野畑氏法を淋菌の初代分離培養並びに繼代培養に應用した處、極めて満足すべき結果を得た。

即ち被檢者としては、淋疾性子宮頸管加答兒として警視廳新宿病院に入院せる娼妓數十名を選び、その子宮口に於ける分泌液を白金耳にて採り、これを各二枚宛の牛血液寒天平板培地に塗抹し、一は通常通りその儘培養し、他は炭酸瓦斯法を施した。その結果、嚴密に比較し得たと思はれるもの 22 例中、炭酸瓦斯法を施した群からは 11 例、普通法を行つた群からは 7 例に於いて淋菌の分離が可能であつた。しかしてこれは 48 時間後の成績であつて、24 時間後の成績によれば、前者にあつては 11 例共全部が既に分離可能であつたのに反し、後者にあつては分離可能なりしものは皆無であつた。且前の 11 例中 9 例は殆ど純培養に近い發育状態を示したが、後者にあつては僅かに 2 例がかゝる良好なる發育を示したに過ぎなかつた。また繼代培養に於いても兩者比較した結果は、相當培養世代が進んでも今なほ炭酸瓦斯法は普通法よりも好成績を示した。なほ使用炭酸瓦斯濃度は、諸家の報告を參考して 8% とした。

次の淋菌の保存用培地として適當なものを選択せんと欲し、Huntoon²⁾ のホル

- 1) 野畑辰作, 1939, 日本獸醫學雜誌, 1, 610.
- 2) Huntoon, F. M., 1918, *J. inf. Dis.*, 23, 169.

「醫學と生物學・第 1 卷・第 2 號・頁 73-76・昭和 17 年 1 月 20 日」

モン培地, Raven³⁾の變法に依る Hitcheus 培地, Ch'in 及び Pang⁴⁾の血清タイロッド液, 傳研ウイルス室にて流行性腦脊髄膜炎菌の保存用培地として使用されてゐる卵培地及び, 傳研ワクチン室にて淋菌及び, 流行性腦脊髄膜炎菌の保存用培地として使用されてゐる血液加0.5%寒天培地の5種を選び, それ等に淋菌新鮮分離株10株を接種して發育状態を檢した處, ホルモン培地及び, 血液加0.5%寒天培地以外のものには全く菌の發育は見られなかつた. そこでこの兩培地に就き, 淋菌新鮮分離株6株を各2本宛に接種し, その生存期間を観察した. その結果は, ホルモン培地にあつては少く共13週, 血液加0.5%寒天にあつては, 14週の保存に堪える事が判明し, 長きは前者にあつては22週, 後者にあつては26週に亘り生存せるものが認められた. かくの如く, 生存期間に關しては血液加0.5%寒天培地の方が稍優つてゐるが, ホルモン培地は透明であることより, 使用前の雜菌の有無, 接種菌の發育状態, 或ひは接種後の雜菌混入の有無等を肉眼的に容易に識別し得るのみならず, 次に述べる様に, 糖類發酵試驗にも應用し得る點を考慮に入れるならば, むしろホルモン培地の方が應用範圍が廣いと云ふことが出来る. なほホルモン培地の寒天含量は, 種々比較實驗の結果, 0.15%を適當と認め, 専らこれを使用した.

糖類發酵試驗には, このホルモン培地に各種の糖類を1%の割合に混じたものに, 被檢菌を原則として72時間培養し, これに0.04% B. T. B 溶液約0.1ccを加へて軽く振盪混和する事により, 容易に結果を判續する事が出来る. しかしてこの際, pHの微細の變化をも知り得る利點を有してゐる. 糖類としては, グルコース, マルトース及びサツカロースの3種を使用した. 淋菌新鮮分離株53株, 對照として流行性腦脊髄膜炎菌2株に就いて本試験を行つた結果は, 淋菌はすべてグルコースを分解し, マルトース及びサツカロースを分解せず, 流行性腦脊髄膜炎菌はグルコース及びマルトースを分解し, サツカロースを分解しない事が確認された. しかしてこの際菌株により, マルトース及びサツカロースのpHをむしろアルカリ側へ移行せしめるものの存在することが, かなり多數に於いて認められた. この組合せにより, 菌株を4群に分ち得るが, これと菌型との關係は認められなかつた.

次に, 2種の免疫血清を以て, 凝集反應に依り28株の淋菌株を菌型に分類せんと試みた. この際, 對照として2株の流行性腦脊髄膜炎菌を用ひたが, 淋菌とは明瞭に區別することが出来た. しかして淋菌は, 少くとも3型に分類し得る事が豫想されたが, 明確なる分類は不可能であつた.

3) Raven, C., 1924, *J. Inf. Dis.* 55, 328.

4) Ch'in, T. L. and K. H. Pang, 1939, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 41, 150.

表 1、

淋菌吉田 (生方, 眞鍋, 高瀬) 株 48 時間培養菌

菌苔を搔取り乾燥器内にて減壓乾燥, 秤量

N/100 NaOH に投ずる

(乾燥菌量 15.5g. を N/100 NaOH 1.000 cc に投ずる)

振盪混和 (振盪器にて約 5 時間)

遠心分離

上清

沈澱 (菌體細屑)

醋酸を加ふ
(上清 10cc に付き 0.5cc の制)

遠心分離

上清 (pH 3.5 位)

沈澱 (核蛋白)

濾過

濾液に 10% NaOH を加ふ
(濾液 10cc に付き 1.3cc の制)

室温に放置 (48 時間)

遠心分離

上清 (pH 10 以上)

沈澱 (X-成分)

半腸膜透析 (72 時間)

濾過

45°C 内外の減壓低温蒸溜
により約 1/4 に濃縮

濾過

濾液に 5 倍量の純アルコールを加ふ
(24 時間室温放置)

遠心分離

上清

沈澱

乾燥器内にて減壓乾燥, 秤量

生理的食鹽水に溶解

濾過

溶部

不溶殘渣

5 倍量の純アルコールを加ふ

遠心分離

上清

沈澱

乾燥器内にて減壓乾燥, 秤量

生理的食鹽水に溶解

(最早不溶殘渣を生ぜざるに至る迄かゝる操作を數回反覆す)

濾過

可溶性特異成分

最後に、淋疾に於けるアレルギー反應の診斷的價値に就いて検討を行つた。即ち表 1 に示す如き、吉水氏の法變法により、氏の純粹殘餘抗原に相當する餘のいわゆる可溶性特異成分を淋菌體成分より分劃し、その一萬倍溶液 0.1 cc を被檢者の前脛屈側皮内に注射した。判定は 24 時間後に行ひ、發赤の大きさを基準としてノベスを以て測定した。即ちツベルクリン反應に於ける場合と全く同様に、直徑 4mm 以下を陰性 (-),

5-9 mm を疑陽性(±), 10-14 mm を弱陽性(+), 15-19 mm を中等度陽性(++) , 20 mm 以上を強陽性(卅)と定めた. 被檢者としては, 淋疾性子宮頸管加答兒の診斷名の下に, 警視廳吉原病院に入院せる娼妓 90 名を選び, 對照健康者としては, 厚生科學研究所榮養學科學生 83 名を選び, 本反應を實施した成績は表 2 に示す通り, 前者にあつては 94.44 % の陽性率を示し, 後者にあつては, 95.18% が陰性であつた. したがつて本反應は, 淋疾診斷法として實地に於いても採用し得る, 極めて優秀なる診斷法であると云ふ事が出来る.

表 2

	判定	人員	同	百分率 (%)
健康者	+	0	4	4.82
	±	4		
	-	79	79	95.18
淋疾患者	卅	7	85	94.44
	++	34		
	+	39		
	±	5		
	-	5	5	5.56

なほ, 唯 1 株の菌株より製せるアレルゲンと, 前述の凝集反應の結果を參考として 4 株を選んで製せるアレルゲンとに依る反應成績を比較した處, 前者にあつては, 淋疾患者に於ける陽性率がかなり低く, 且反應も不明瞭のものが多かつた. 従つて淋菌のアレルゲンは, 1 價のものより, 多價のものが優れてゐることが立證された.

次にこのアレルゲンの免疫學的, 化學的性狀を検したのに, この物質は, 全く同一の方法を以て, 製せる流行性腦脊髄膜炎菌の可溶性特異成

分とは, 著しくその性質を異にすることを知つた. 即ち流行性腦脊髄膜炎菌の可溶性特異成分は, 免疫血清と著明に沈降反應を呈し, 蛋白諸反應は陰性で, Molisch 反應は 100,000 倍迄陽性なるに反し, 淋菌のそれは, 免疫血清との沈降反應は陰性にして, 蛋白諸反應は陽性, Molisch 反應は 1,000 倍にて微弱陽性, 10,000 倍にて陰性であつた. 故に余は, 淋菌の遲發性アレルギー反應を惹起する有効物質は, Casper⁶⁾ に依り主張せられた如き多糖類ではなく, ツベルクリンの有効物質に於いて認められる如き蛋白系物質ではないかと想像する次第である.

[詳細は厚生科學に發表する]

(受附: 昭和 16 年 11 月 24 日)

- 5) 吉水元三郎, 1939, 實驗醫學雜誌, 23, 225 及び 510.
6) Casper, W., 1930, *Klin. Wschr.*, 9, 2154, 1937, *J. Imm.*, 32, 421.