

侵华日军第七三一部队罪行实录

金成民 主编



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

日本细菌战史料集：

细菌实验类

(九)

杨彦君 主编



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

侵华日军第七三一部队罪行实录

金成民 主编

日本细菌战史料集：
细菌实验类
(九)

杨彦君 主编

 中国和平出版社

目 录

- 1 基于冻结真空干燥法的“立克次氏体病毒（恙虫病毒）”活菌保存方法研究
第2篇 冻结温度及干燥时间与病毒量之间的关系 / 帆刈喜四男
- 11 基于冻结真空干燥法的“立克次氏体病毒（恙虫病毒）”活菌保存方法研究
第3篇 “各种立克次氏体”病毒的存活时间 / 帆刈喜四男
- 21 关于二三种细菌和毒素对“立克次氏体”化验影响的实验性研究 / 永井冬雄
- 30 关于“立克次氏体”与“螺旋体”共生的实验性研究
第2篇 斑疹伤寒“立克次氏”与鼠毒症“鼠咬热”的共生 / 永井冬雄
- 41 关于“立克次氏体”与“螺旋体”共生的实验性研究
第3篇 恙虫病“立克次氏体”与回归热“螺旋体”及鼠毒症
“螺旋体”的共生 / 永井冬雄
- 49 关于使用国产“亮绿琼脂”制作的考夫曼氏培养基的增菌效果 / 伊藤清次
- 60 关于水中病原菌增菌法的研究
第1篇 关于水中病原菌的命运及相应增菌法的基础性实验 / 伊藤清次
- 93 关于肠伤寒菌的变异
第2篇 关于各种糖类对本菌特别是变异型大肠杆菌的
影响 / 陆军军医学校防疫研究室
- 104 关于鼠毒症“鼠咬热”与牛型结核分支杆菌混合感染的实验性
研究 / 陆军军医学校防疫研究室

- 113 关于黏液素的细菌生物学研究
第7篇 关于黏液素细菌毒性增强作用要因的研究 / 陆军军医学校防疫研究室
- 160 关于在细菌学及免疫学领域统一稀释法的提案
关于半指数 (3.16 倍) 稀释法 / 陆军军医学校防疫研究室
- 185 结核菌分离用培养基的干燥研究
野战用干燥培养基的添加剂及低温干燥培养基的相关
研究 / 陆军军医学校防疫研究室
- 193 各种千金藤素的实验性研究
第2篇 对结核菌的发育阻止及杀菌作用以及对结核菌以外诸种细菌的
发育阻止及杀菌作用 / 陆军军医学校防疫研究室
- 218 关于鼠毒症“螺旋体”与各种细菌之间混合感染的实验性
研究 / 陆军军医学校防疫研究室
- 231 基于冻结真空干燥法的“立克次氏体病毒 (恙虫病毒)”活菌保存方法研究
第1篇 最佳培养基的选定 / 陆军军医学校防疫研究室
- 248 关于黏液素的细菌生物学研究
第3篇 关于猪胃黏膜碱抽出液的醋酸可溶性分离 (胃类黏素
Magenmuroid: PA) 及其细菌毒性增强作用 / 陆军军医学校防疫研究室
- 280 关于细菌新陈代谢的研究 (1) / 北海道帝国大学理学部植物学教室
- 285 使用各种国产肉膏及“豚”的培养基中肠内细菌的发育状态以及免疫学及生
物学性状
第2篇 关于子代的免疫学及生物学形状
变化 / 庆应义塾大学医学部细菌学教室

310 “立克次氏恙虫病”的老鼠感染实验以及内脏切片标本的“立克次氏体”化验与相应病理组织所见 / 陆军军医学校防疫研究室

336 关于黏液素的细菌生物学研究

第 5 篇 关于猪胃黏素及猪胃类黏素的毒性 / 上田正明

363 关于黏液素的细菌生物学研究

第 2 篇 关于猪胃黏膜碱抽出液的醋酸沉淀分离 (胃黏素) / 上田正明

393 关于细菌大量培养的研究

关于植物性发育的促进物质“Jürgen”(暂定名称)

第 2 报告 / 陆军军医学校防疫研究室

陸軍軍醫學校防疫研究報告
第2部 第831號

凍結真空乾燥法ニ依ル リッケッチヤ病毒(恙蟲
病毒)ノ生存保存方法ノ研究
第2編 凍結溫度及乾燥時間ト病毒量トノ關係

陸軍軍醫學校防疫研究室（部長 石井少將）
陸軍軍醫少佐 帆刈喜四男



第	2	部
原	著	
分類	463—1 395—631	
受附昭和 19.3.20		

831—2

擔任指導 囑託醫學博士 緒方 規 雄
教官 陸軍軍醫中佐 内 藤 良 一

目 次

緒 言

第1章 實驗方法

第1節 實驗裝置

第2節 供試病毒株及病毒乳劑

第3節 凍結及乾燥方法

第4節 凍結乾燥前後ニ於ケル病毒量ノ比較方法

第2章 實驗成績

第1節 凍結溫度ト病毒量トノ關係

第1項 凍結1時間ノ影響

第2項 凍結乾燥ノ影響

第3項 小 括

第2節 乾燥時間ト病毒量トノ關係

第1項 眞空度0.4~0.6mm Hgノ場合

第2項 眞空度0.1~0.09mm Hgノ場合

第3項 小 括

總括並ニ結論

文 献

緒 言

「リッケッチヤ」ノ低温及乾燥ニ對スル抵抗ニ關シテハ知見尠シトシナイ。⁽⁷⁾川村氏ハ恙蟲病毒ヲ⁽⁸⁾0°C乃至2°Cノ冰室ニ於テ7日間感染力フルト言ヒ、⁽¹⁰⁾緒方氏ハ家兎血液中ニ於テ116時間其ノ形態ヲ保チ⁽¹¹⁾篠崎氏ハ人血液中ニ於テハ26日間發病力ヲ有スルヲ確メテ居ル。發疹チフス病毒ニ就テモ⁽¹²⁾Nicolle 及 Blaizot⁽¹³⁾ハ冰室中ニ6日間發病力ヲ保有スト言ヒ、⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾星崎氏ハ-10°C乃至-15°Cニ於テ48時間以上發病力ヲ有スト述ベテ居ル。

乾燥ニ對シテハ多クノ學者ハ乾燥又ハ眞空乾燥ハ病毒ヲ死滅セシムルモノデアルト言ツテ居⁽⁷⁾⁽¹⁹⁾ル。作山氏ハ昭和17年「リッケッチヤ」ノ凍結乾燥ヲ行ヒ在鼠型發疹チフス」及「ロツキー山熱ハ相當長期ニ互リ生存ニ堪ユルモ恙蟲ハ7日以上ハ生存ヲ證明出來ナカツタト稱シテ居ル。

余ハ恙ニ凍結眞空乾燥法ニ依ル「リッケッチヤ病毒ノ生存保存法ノ研究ニ於テ至適メデウム」ノ選定ヲ行ヒ5%サツカロゼ」及5%乳糖ガ最モ適シテ居ル事ヲ確メタ。

本編ニ於テハ引續キ此ノ乾燥法ニ於テ「リッケッチヤ病毒ノ生存ヲ最良ナラシムベキ凍結溫度

831-3

及乾燥時間ト病毒ノ生存トノ關係ニ就テ實驗ヲ行ツタ。

第1章 實驗方法

第1節 實驗裝置

第1編第1章ノモノト同様デアル。

第2節 供試病毒株及病毒乳劑

第1編第2章第1節及第2節ト同様デアル。

第3節 凍結及乾燥方法

第1編第2章第3節ト同様ナルモ凍結溫度ノ影響検査ニハ病毒ヲ小試験管ニ入レ溫度ヲ變ヘテ1時間夫々ノ溫度ニ凍結シタ。

第4節 凍結乾燥前後ニ於ケル病毒量ノ比較方法

第1編第2章第4節ト同様デアル。

凍結溫度ノ影響検査ニ於テハ凍結終了後ハ室温ニ融解シタ後「マウス」ニ接種シタ。

第2章 實驗成績

第1節 凍結溫度ト病毒量トノ關係

凍結真空乾燥法ノ凍結工程ニ就テハ低溫ニ於テ速カニ凍結セシメル方法ヲトッ⁽³⁾⁽³⁾ノ⁽³¹⁾多ク Flosdorf and Mudd⁽³⁾⁽³⁾ハ「メチールセルソルブ」及固形炭酸ヲ用ヒ⁽³¹⁾−75°C乃至−78°Cニテ、Swift⁽³¹⁾ハ「グリセロール」ト固形炭酸ヲ以テ⁽¹⁵⁾−76°Cニテ、Rivers⁽¹⁵⁾モ固形炭酸ト「アルコール」ヲ用ヒ高度ノ低溫トシタ。

食鹽及氷ヲ以テ比較的高溫ニ凍結セシムルモノニ⁽¹⁵⁾Schakell⁽²⁰⁾及⁽²⁰⁾Swiftガアル。

⁽⁴¹⁾平野⁽⁴¹⁾ハ「チフス菌」ノ凍結真空乾燥ニ於テ⁽¹³⁾−20°C以下ヲ可トシ、野口⁽¹³⁾ハ⁽¹³⁾−20°C乃至−40°Cヲ可トシタ。

又凍結乾燥間ニ於ケル溫度ニ關シテハ凍結材料ノ融解ヲ防グ爲零度以下ニ於テ實施スルモノニ⁽¹⁵⁾Schakell⁽³⁰⁾⁽³¹⁾、⁽¹⁾Swift⁽¹⁾及⁽¹⁾Elser等アリ、被乾燥物ヨリノ自家冷却作用ニヨリ低溫ニ保ツ必要ヲ認メズト爲スモノニ⁽³⁾⁽³⁾Flosdorf and Muddガアル、⁽³⁾⁽³⁾Flosdorf and Muddハ又抵抗弱キ病毒ノ如キモノニ對シテハ⁽³⁾⁽³⁾−10°C附近ニ凍結セシメル事ガ適當デアルト述ベテ居ル。

第1項 凍結1時間ノ影響

小試験管ニ5%サツカローゼ⁽¹⁾ノ1定量(2 cc)ト恙蟲マウス⁽¹⁾肝臟、脾臟乳劑ノ1定量(0.7 g)トヲトリ、之ヲ「アセトン」ニ「ドライアイス」ヲ投ジテ⁽¹⁾−10°C、⁽¹⁾−20°C、⁽¹⁾−30°C、⁽¹⁾−40°C、

831—4

−50°C、−60°C、−70°Cノ各温度トナシタ平皿ニ浸漬凍結スル事1時間ニシテ之ヲトリ出シ室温デ融解セシメタ後階段稀釋シテ其ノ0.3ccヲ「マウス」腹腔内ニ接種シテ「リ」ノ存否ヲ檢シタ成績ハ次ノ通りデアル。

第1表 凍結温度ノ影響

凍結温度	稀釋	原	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
−10°C		+	+	+	+	+		
		+	+	+	+	+		
−20°C		+	+	+	+	+		
		+	+	+	+	−		
−30°C		+	+	+	+	−		
		+	+	+	+	−		
−40°C		+	+	+	−	−		
		+	+	−	−	−		
−50°C		+	+	+	−	−		
		+	+	+	−	−		
−60°C		+	+	+	−	−		
		+	+	+	−	−		
−70°C		+	+	+	+	−		
		+	+	+	−	−		
對 室温放置 (18°C)1時間		+	+	+	+	−		
		+	+	+	−	−		
照 凍 結 前		+	+	+	+	+	+	−
		+	+	+	+	+	−	−

備 考 1. 「メデウム」5%サツカロース(「メデウム」2cc、細菌乳劑0.7g)
2. 凍結時間 1時間

即チ−10°C 1時間凍結ニ於テハ10⁻⁴稀釋ニ於テ2頭ノ「マウス」中2頭ニ「リ」ヲ證明シ−20°Cデハ10⁻⁴稀釋ニ於テ2頭中1頭、−30°Cデハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中2頭−40°Cデハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中1頭−50°C及−60°Cデハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中2頭−70°Cデハ10⁻³稀釋デ2頭中1頭ニ於テ「リ」ヲ證明シタ。

凍結スル事ナク室温ニ放置セルモノニ於テハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中1頭ニ「リ」ヲ證明シタ。

乳劑作製後凍結スル事ナク直チニ「マウス」ニ接種セルモノニ於テハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中1頭ニ「リ」ヲ證明シタ。

即チ凍結温度ノ低下スルニ從ヒ「リ」病菌ノ生存率モ亦漸減スル傾向ヲ有スルモ−10°C、−20°C 1時間ノ凍結ニ依リテハ病毒量ハ大ナル減少ヲ見ナイ。

831-5

第2項 凍結乾燥ノ影響

「リ」病毒材料（5%サツカローゼ）2cc・恙蟲病毒乳劑0.8g）1ccヲ「アンプラ」ニトリ、之ヲ「アセトン」ニ「ドライアイス」ヲ投ジテ-10°C、-20°C、-30°C、-40°C、-50°C、-60°C、-70°C トシタ平皿ニ浸シ凍結スル事5分ニシテ乾燥機ニ装着シテ、乾燥セシメタ後、滅菌蒸餾水（pH7.0）ヲ以テ原量1ccニ復シ（原液）階段稀釋シテ其ノ0.3cc宛ヲ「マウス」腹腔内ニ接種シテ8日後、「リ」ノ存否ヲ檢シテ成績ハ次ノ通りテアル。

第2表 凍結乾燥ノ影響

稀釋	凍結温度	原	10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶					
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
対照	-10°C	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	-20°C	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	-30°C	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	-40°C	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	-50°C	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	-60°C	+	+	+	-	-	-	-
		+	+	+	-	-	-	-
対照	-70°C	+	+	+	-	-	-	-
		+	+	+	-	-	-	-
	-10°C持續	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	室温乾燥	+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
	+30°C持續	+	+	-	-	-	-	-
		+	-	-	-	-	-	-
	凍結乾燥實施前	+	+	+	+	+	+	-
		+	+	+	+	+	-	-

- 備考
1. 分注量1cc 「メデウム」5%サツカローゼ）（「メデウム」2cc、病毒乳劑0.8g)
 2. 乾燥條件 真空0.1~0.3mm Hg、凍結時間5分、乾燥時間、1時30分
 3. -10°C持續トハ材料ヲ-10°Cニ凍結シテ乾燥機ニ装着シ、乾燥實施中-10°Cニ「アンプラ」ノ周圍ヲ冷シ續ケタモノ。
 4. 室温乾燥トハ材料ヲ凍結スルコトナク直チニ乾燥機ニ装着シ、乾燥セシメタルモノ、室温19度
 5. +30°C持續トハ凍結スルコトナク直チニ乾燥機ニ装着シ乾燥實施中、凍結ヲ防止スル爲「アンプラ」ノ外周ヲ30°Cノ温水デ覆シ續ケタモノ。

831-6

-10°C、-20°C、-30°C = 凍結5分後乾燥機 = 装着乾燥セルモノハ夫々 10^{-3} 稀釋 = 於テ2頭ノ「マウス」中2頭 = 「リ」ヲ證明シ、-40°C、-50°C ノモノハ 10^{-3} 稀釋 = テ2頭中1頭 =、-70°C ノモノハ 10^{-3} 稀釋 = 於テ2頭中2頭 = 「リ」陽性デアツタ。對照トシテ凍結スル事ナク直チニ乾燥機 = カケタモノハ(乾燥機装着後直チニ凍結ス) 10^{-3} 稀釋 = テ2頭中2頭「リ」陽性ニシテ乾燥實施中-10°C = 冷却シ續ケタモノハ 10^{-3} 稀釋デ2頭中1頭。又病毒ノ凍結ヲ防グ爲メ+30°C 溫浴 = 「アンブラ」ヲ溫メツツ乾燥シタモノ = アツテハ 10^{-3} 稀釋 = テ2頭中1頭 = 「リ」陽性デアツタ。

即チ-10°C 乃至-50°C = テ凍結乾燥シタモノ、凍結ニル事ナク直チニ乾燥機 = 装着シタモノ及乾燥間-10°C ノ溫度 = 「アンブラ」ヲ浸漬シタモノハ-60°C 及-70°C = 凍結乾燥シタモノヨリ病毒量ノ減少ハ少ク、「アンブラ」ノ外周ヲ+30°C = 保チ凍結ヲ防イダモノハ病毒量ノ減少最も大デアツタ。

第3項 小 括

第1表、第2表ヲ通覽スル = 「リ」病毒ハ-10°C ~ -70°C ノ凍結 = ハ耐ユルガ大體 = 於テ凍結溫度ノ低下スル = 從ヒ病毒量ノ減少ガ大トナル。

凍結スル事ナク液狀ノ僅乾燥機 = カケタモノハ(装着後直チニ凍結ス) -10°C 又ハ-20°C = 凍結乾燥シタモノ = 比シ病毒量ノ減少ハ多クナイガ装着時 = 沸騰ヲ起シ病毒ノ乾燥機内侵入ノ危險ガアリ操作ノ實際 = 當ツテハ避クベキデアル。

又乾燥間「アンブラ」ノ周圍ヲ冷却シテモ特ニ病毒ノ生存 = 對シ顯著ナ成績ハ得ラレナイ。

從ツテ-30°C 以上 = 凍結シテ直チニ乾燥機 = 装着シテ乾燥スレバ可イ、乾燥間ハ特ニ「アンブラ」ヲ冷却又ハ加溫スル必要ハナイ。

第2節 乾燥時間ト病毒量トノ關係

乾燥時間 = 關シテハ「デシケーター法」ヲ採用シテ居ル Swift⁽²⁰⁾⁽²¹⁾ (1921, 1937)、Sawyer⁽¹⁴⁾ (1929) 等ハ凍結材料ヲ脱水劑ト共ニ1時間減壓シテ1~2 mm Hg ノ真空度トナシ其ノ儘括栓ヲ閉ヂテ翌朝迄保チテ乾燥ヲ完了シ、材料ヲ各個 = 多岐管 = 装着スル法ヲ採用シテ居ル Flosdorf and Mudd⁽³⁾⁽³⁾ ハ完全ナル乾燥即チ99.6% ノ水分ヲ除去スル = 充分ナ時間トシテ 各個ノ容器ガ空溫 = 達スル = 要シタ時間 = 若干ノ安全率ヲ加ヘ、例之0.1cc分注セル場合ハ2~3時間、25cc分注セル場合ハ15~18時間ヲ要スルヲ普通トスルト稱シテ居ル。

⁽¹¹⁾ 野口ハ乾燥所要時間ノ標示 = ハ被乾燥材料 = 1~2% ノ割 = 鹽化コバルト」ヲ加ヘテ乾燥シ、鹽化コバルト」氧化後之 = 要シタ時間ノ50%ヲ加ヘタ時間ヲ以テ適當ト認メタ。

余ハ野口 = 從ヒ鹽化コバルト」ヲ使用シテ乾燥至適時間ヲ決定セントシタ。

第1項 真空度0.4~0.6mmHgノ場合

-10°C = 5分間凍結シテ後乾燥機(真空0.4~0.6mmHg) = カケ乾燥シ、2%鹽化コバルト」(乾

831—7

燥材料＝2%ノ割＝鹽化コバルト「ヲ加ヘタモノ」ノ青化後15分、30分、60分、120分＝各5本宛離斷シ、直後及空溫保存6日後各其ノ2本ヲ開封シ滅菌蒸餾水(pH7.0)ヲ以テ原量1cc＝復シ、稀釋シテ「マウス」腹腔内＝接種シテ「リ」ノ存否ヲ檢シテ成績ハ次ノ通りデアル。

第3表 乾燥時間ノ影響(1)

		真 空 度					0.4~0.6mmHg					
鹽化コバルト 後ノ経過時間	青化	稀 釋 原	真 空 後					空 温 保 存 6 日 後				
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	原	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
I	15分 (65分)	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
		+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
II	30分 (80分)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
		+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
III	60分 (110分)	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
		+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
IV	120分 (170分)	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
		+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
凍 結 乾 燥 前		+	+	+	+	+	-					
		+	+	+	+	-	-					

- 備考 1. 凍結-10°C 5分
 2. 装瓶時間1時50分
 2%鹽化コバルト「ヲ青化」 2時40分(装瓶後 50分)
 I 切斷(青化後 15分) 2時55分(装瓶後 65分)
 II 切斷(青化後 30分) 3時10分(装瓶後 80分)
 III 切斷(青化後 60分) 3時40分(装瓶後110分)
 IV 切斷(青化後120分) 4時40分(装瓶後170分)
 3. 115分(鹽化コバルト「ヲ青化後15分」)ノモノハ乾燥不充分ニシテ切斷後融解セルモノ5本中2本
 4. 分注量1cc、「メデウム」5%サツカロース「メデウム」2cc: 病毒0.8g

即チ乾燥機＝装瓶シテヨリ65分及80分即チ2%鹽化コバルト「ヲ青化後15分及30分＝於テハ10⁻³稀釋＝於テ「マウス」2頭中1頭＝「リ」ヲ證明シ、鹽化コバルト「ヲ青化後60分後及120分後＝於テハ10⁻²稀釋＝於テ2頭中1頭＝「リ」ヲ證明シタ。

然レ共鹽化コバルト「ヲ青化後15分＝シテ切斷セル5本中2本ハ乾燥不充分ニシテ融解ヲ見、之ヲ「マウス」＝接種セルモ「リ」ヲ證明出來ナカツタ。

空溫保存6日後＝於テハ15分ノモノハ10⁻¹稀釋＝於テ2頭中2頭、30分ノモノハ10⁻²稀釋＝於テ2頭中1頭＝、60分後ノモノハ10⁻²稀釋＝於テ2頭中1頭、120分後ノモノハ10⁻²稀釋＝於テ2頭中2頭＝「リ」ヲ證明シタ。

831-8

即ち鹽化コバルト」青化後15分ノモノハ6日間ノ保存ニヨツテ病毒量ハ約 $\frac{1}{100}$ ニ減少シタガ他ノモノハ6日間ノ保存デハ病毒量ノ變化ハ殆ド認めラレナカツタ。

第2項 眞空度0.1~0.09mmHgノ場合

-10°Cニ5分間凍結セル後乾燥機(眞空0.1~0.09mmHg)ニカケ乾燥シ2%鹽化コバルト」(乾燥材料ニ2%ノ割ニ鹽化コバルト」ヲ加ヘクモノ)ノ青化後15分、30分、60分、120分ニ各5本宛離斷シ、直後及室温保存6日後各ニ其ノ2本ヲ開封、滅菌蒸餾水(pH7.0)ヲ以テ原量1ccニ復シ稀釋シテ「マウス」腹腔内ニ接種シ「リ」ノ存否ヲ檢シタ成績ハ次ノ通りデアル。

第3表 乾燥時間ノ影響(2)

乾燥時間	眞空度 種 類	眞 空 度 0.1~0.09mmHg											
		眞 後					室 温 保 存 6 日 後						
		原	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	原	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
I 15分 (60分)		+	+	+	+	-		+	+	+	+	-	
		+	+	+	+	-		+	+	+	+	-	
II 30分 (75分)		+	+	+	+	-		+	+	+	+	-	
		+	+	+	-	-		+	+	+	-	-	
III 60分 (105分)		+	+	+	-	-		+	+	-	-	-	
		+	+	-	-	-		+	+	-	-	-	
IV 120分 (165分)		+	+	-	-	-		+	+	-	-	-	
		+	+	-	-	-		+	+	-	-	-	
対 照		+	+	+	+	+	-						
		+	+	+	+	-	-						

- 備 考
- 凍結-10°C 5分
 - 裝着時間1時50分
2%鹽化コバルト」青化 2時35分(裝着後 45分)
I 切 斷(青化後 15分)2時50分(裝着後 60分)
II 切 斷(青化後 30分)3時5分 (裝着後 75分)
III 切 斷(青化後 60分)3時35分(裝着後105分)
IV 切 斷(青化後120分)4時35分(裝着後165分)
 - I 鹽化コバルト」青化後15分ノモノハ乾燥不充分ニシテ切斷後融解セルモノ3本中1本
 - 分注量1cc「メデウム」5%サツカロゼ」(「メデウム」2cc: 飼料0.8g)

即ち乾燥機ニ裝着シテヨリ60分即ち2%鹽化コバルト」青化後15分ニ於テハ10⁻³稀釋ニ於テハ「マウス」2頭中2頭ニ「リ」ヲ證明シ、青化後30分ニ於テハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中1頭、60分後ニ於テハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中1頭、120分後ニ於テハ10⁻³稀釋ニ於テ2頭中2頭ニ「リ」ヲ證明シ。

831-9

然レ共鹽化コバルト」育化後15分ニシテ切斷セル3本ノ中1本ハ乾燥不充分ニシテ融解シタ。
 室温保存6日後ニ於テハ、鹽化コバルト」育化後15分ノモノ及30分ノモノハ 10^{-3} 稀釋ニ於テ夫
 ×2頭中1頭ニ「リ」ヲ證明シ、60分後120分後ノモノハ 10^{-1} 稀釋ニ於テ2頭中2頭ニ「リ」ヲ證明
 シタ。

即チ何レモ6日間ノ保存ニヨツテ大ナル病毒量ノ變化ハ認めラレナカツタ。

第4項 小 括

(1) 第3表第4表ヲ通覽スルト乾燥實施中ノ真空度ノ差(0.4~0.6mmHg及0.1~0.09mmHg)
 ハ病毒ノ生存ニ大ナル影響ヲ與ヘナカツタ。

(2) 乾燥時間ハ長キニ失スルモ短キニ失スルモ共ニ病毒ノ生存ニ惡影響ヲ及スモノデアル。

(3) 1ccヲ分注セル場合鹽化コバルト」育化後30分程度ガ適當デアル。

野口ノ鹽化コバルト」育化後之ニ要シタ時間ノ50%ヲ加ヘタ時間ヲ以テ好適乾燥時間ト定メタ
 事ハ「リ」ノ凍結乾燥ニモ適合スル。

總括並ニ結論

「リ」病毒ノ凍結真空乾燥法ニ於ケル好適凍結溫度及乾燥時間ヲ決定スル爲メ實驗ヲ行ヒ次ノ結
 論ニ到達シタ。

(1) 凍結溫度ハ -30°C 以上ヲ適當トス。

(2) 乾燥時間ノ過長及過小ハ共ニ乾燥病毒ノ生存ニ惡影響ヲ及ス。好適乾燥時間ハ鹽化コバル
 ト」ヲ2%ノ割ニ含ム被乾燥物質ガ育化後之ニ要シタ時間ノ50%ヲ加ヘタ時間ヲ以テ適度ノ乾燥
 トスル

終リニ臨ミ御指導御校閲ヲ賜リタル緒方博士並ニ内藤教育殿ニ深謝スルト共ニ第18研究室員ノ
 勞ヲ多トス。

引用文獻

- 1) Elser, W. J., Thomas, R. A. and Steffen, G. I.; The desiccation of sera and other biological products (including microorganisms) in the frozen state with the preservation of the original qualities of products so treated. J. Imm. 28, (1935) p. 433.
- 2) Florsdorf, E. W., Mudd, S.; Procedure and apparatus for preservation in "Lyophile" form of serum and other biological substances. J. Imm. 29, (1935) p. 389.
- 3) —: An improved procedure and apparatus for preservation of sera, microorganisms and other substances the cryochem-process. J. Imm. 34, (1938) p. 469.
- 4) 平野 震: 凍結乾燥ニ依ル生菌ノ保存法ニ關スル研究。陸軍校防研報告, 第1部, 第1號
- 5) 星崎相陽: 發疹チフス」病毒ニ關スル實驗的研究、其ノ2、抵抗試驗並ニ感染豫防試驗。滿洲醫學雜誌, 第11卷。

831-10

- (昭4)、663頁 6) 同: 發疹チフス」病源=關スル實驗的研究、其ノ3、生物學的性狀補遺、細菌學雜誌、第430號、(昭6)、1007頁 7) Kolle-Kraus Uhlenhuth.: VIII-2 8) 川村 麟也: 恙蟲病ノ研究、南江堂、(大正13) 9) 久保田功: 凍結真空乾燥法=依ル大量「チフス」菌生存保存=於ケル乾燥度ノ菌生存=及ス影響、陸軍校防研報告、第2部、第261號 10) 緒方規雄、西村敏而、黒田收: 恙蟲病原體 Rickettsia tsutsugamushi 生物學的性狀=關スル一新知見補遺、千葉醫學會雜誌、第12卷、第8號、(昭9) 11) 内藤真一、若月喬: 凍結真空乾燥法=於ケル脱水經過Y-e²⁴、陸軍軍醫學校防疫研究報告、第2部、第69號 12) 内藤真一: 凍結真空乾燥法ノ研究、第7報、凍結真空乾燥法=於ケル乾燥度早見表、陸軍軍醫學校防疫研究報告、第2部、第117號 13) Nicolle, C. and Blaizot, L.: Über der Fleck typhus. münch med. Wochenschr. 63,(1916) p. 19. 14) 野口圭一: 弱毒「ペスト菌」ノ凍結真空乾燥法=ヨル生存保存方法ノ研究、陸軍校防研報告、第2部、第216號、同第444號 15) Rivers, T. M. and Ward, S. M.: Jennerian prophylaxis by means of intradermal injections of culture vaccine virus. J. exp. Med. 62, (1935) p. 549. 16) 作山元治: 「リキエチヤ」ノ生體外保存=就テ、陸軍軍醫團雜誌、第355號、(昭17) 17) Sawyer, W. A., Lloyd, W. D. M. and Kitchen, S. F.: The preservation of Yellow Fever. J. exp. Med. 50; (1929) p. 1. 18) Schakell, L. F.: An improved Method of dessication with some applications to biological problems. Am. J. phy. 24, (1909) p. 325. 19) 篠崎道夫: 恙蟲病原體ノ實驗的研究、千葉醫學會雜誌、第18卷、第10號 20) Swift, H. F.: Preservation of stock cultures of bacteria by freezing and drying. J. exp. med. 33, (1921) p. 69. 21) —: A simple method for preserving bacterial cultures by freezing and drying. J. Bact. 33, (1937) p. 411. 22) 田宮猛雄: 病原性 Rickettsia =就テ、實驗醫學雜誌、第15卷、(昭6) 64頁

陸軍軍醫學校防疫研究報告
第2部 第833號

凍結真空乾燥法ニ依ル「リッケッチャ病毒」
(恙蟲病毒)ノ生存保存方法ノ研究

第3編 乾燥各種「リッケッチャ」病毒ノ生存期間

陸軍軍醫學校防疫研究室（部長 石井少將）

陸軍軍醫少佐 帆刈喜四男



第	2	部
原	著	
分類	463—1 395—631	
受附	昭和 19.3.25	

833-2

擔任指導 嚙託 醫學 博士 緒 方 規 雄
教官 陸軍軍醫中佐 内 藤 良 一

目 次

緒 言

第1章 乾燥恙蟲病毒ノ生存試験

第1節 保存溫度ノ影響

第2節 光線ニ對スル抵抗

第3節 小 括

第2章 發疹熱リッケッチャ病毒ニ「メキシコ發疹熱病毒」ノ凍結真空乾燥法ニヨル生存試験

第1節 實驗方法

第2節 實驗成績

第3章 總括ニ考按

結 論

引用文獻

緒 言

凍結真空乾燥法ニ依ル「リッケッチャ」(以下「リ」ト略記ス)病毒ノ生存保存方法ノ研究ニ於テ余ハ第1編ニ於テ至適メデウムノ選定ヲ行ヒ第2編ニ於テ凍結溫度並ニ乾燥時間ト病毒量トノ關係ニ就テ實驗ヲ行ツタ。之ヲ以テ「リ」病毒ノ凍結真空乾燥法ニ於ケル最も重要ナル要約ノ決定ヲ見ルニ至ツタノデ、最後ニ之ノ條件ヲ以テ他ノ「リ」病毒ニ就テ凍結乾燥ヲ行フト共ニ今迄ニ製造シタ乾燥「リ」病毒ニ就テ生存試験ヲ行ツタ。茲ニ一括シテ記述スル。

第1章 乾燥恙蟲病毒ノ生存試験

第1節 保存溫度ノ影響

(1) 恙蟲病毒接種マウスノ肝臓脾臓ヲ無菌的ニ摘出シテ乳鉢ヲ以テ乳劑トナシ其ノ1定量ト5%サツカローゼ(又ハ他ノ「メデウム」)ノ1定量トヲ混ジテ2枚ノ滅菌ガーゼデ濾過シ、此ノ1ccヲ「アンプラ」ニ分注シテ -10°C ニテ5分間凍結シテ乾燥機ニカケ出來上ツタ乾燥病毒ニツキ、之ヲ氷室、空溫及 27°C 、 37°C ノ各孵卵器ニ納メ置キタリ、1定日經過後各2本宛ヲトリ開封シ蒸溜水(PH.7.0)ヲ以テ原量1ccニ復シ階段稀釋シテ其ノ0.3ccヲ「マウス腹腔内」ニ接種シテ「リ」ノ存否ヲ檢シタ成績ハ第1表ノ通りデアル。