

# 試驗痘苗에서 分離된 球菌에 對한 檢討

保健社會部 中央防疫研究所

| 金 相 泰 · 金 東 燦 |

緒 言 : 痘苗豫防液은 그의 生産過程에 비추어 豫防液 cc當 1000 個 以下의 非病原性菌의 存在는 Minimum Requirement 에서 許容되고있다. 가장 널리 汚染되는 菌種으로는 枯草菌, 葡萄球菌, 連鎖球菌等을 볼수있으며 이러한 菌들의 汚染을 防止하려는 努力은 恒常 試圖되어 오는데이다. 이러한 點에 비추어 豫防液의 力價에는 影響을 주지않으면서 雜菌의 發育을 完全히 抑制하므로써, 試驗的으로 無菌痘苗를 만들어 불 意圖에서 이 實驗에 着手하였다. 먼저 Penicillin 과 Dihydrostreptomycin 을 11 마리의 家兔의 試驗痘苗에 投與하여 이의 雜菌抑制程度와 이에 抵抗하여 大部分의 家兔別豫防液에서 共通的으로 出現할 菌株들에 對하여 檢討하였다.

## 方 法

各 Lot 의 試驗痘苗에 Penicillin 500u/cc, Dihydrostreptomycin 500mcG/cc 로 各各 加하여 磨碎한 다음 二週日間 作用시켰으며 其他의 過程은 美國 N.I.H.의 Minimum Requirement : Small-pox Vaccine 에 準하였다. 菌分離에 使用한 Thiol Broth 와 F. Thioglycollate Media, 그리고 Sensitivity Test 에 使用한 Paper Disk 는 Difco 製品을 使用하였다. 菌檢索은 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 에 依하였다. 皮內反應時의 菌浮游液은 血液寒天上에서 37°C 24時間 培養한 菌을 標準白金耳를 使用하여 cc當 1億個로 만들어 0.1 cc 씩을 家兔의 皮內에 注射하였다.

成 績 : Penicillin 500u/cc, Dihydrostreptomycin 500mcG/cc 을 各各 2週日間 作用시킨 11個 Lot 의 最終製品을 Nutrient agar plate 에서 Colony count 한 結果는 Negative 였으며, Thiol broth 와 F. thioglycollate media 에 接種하여 7日間 比較培養한 結果 thiol broth 에서는 7 case 에서, F. thioglycollate media 에서는 1 case 에서만 菌을 分離할수있었다. 이들은 모두 Gram positive, 直徑 0.5~0.7 u 의 球菌으로 單, 雙, 혹은 群을 이루며 固有運動은 없었다. Colony 性狀 역시 모두 같았으며 Nutrient

(表 1)

## 生物化學的 性狀 所見

STRAIN NO	DEXTR-OSE	LACTOSE	MALT-OSE	SUCROSE	SALICIN	DULCITOL	SOLBITOL	MANNITOL	GLYCERIN	INULIN	RAFFINOSE
TL. 1, 2,	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	24hr	48hr		24hr							
5, 6, 7, 8,	NITRITE	NH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub>	LITMOS MILK	GELATIN	INDOL	KATALASE	H <sub>2</sub> S	GAS	COAGULASE	HEMOLYCIN	
11, TH. 8	+	-	A. 48 C. hr.	+	-	+	-	-	-	-	
	24hr										

TL : THIOBROTH 에서 分離된 菌株

TH : F. THIOGLYCOLLATE MEDIA 에서 分離된 菌株

A : 酸產生 C : 凝固 GELATIN : 液化(微弱)

agar plate 에서 37°C 24時間培養에서 直徑 1~2mm 의 同質, 光澤性으로 半透明이었다. 生物化學的 性狀 또한 表 1 에서 보는바와 같은 反應을 共通的으로 나타내었으며 家兔와 羊血液에서 모두 溶血을 이르지 않았다.

皮內反應에 있어서 第 1 日에 直徑 11~14mm 의 膨脹을 이르게했으며 Necrosis 는 이르지 않았으나 硬結을 이루어 徐徐히 縮少되어 一週日이되도록 8mm 直徑을 그대로 갖이고있었다. 各種抗生物質에 對한 抵抗力을 Disk method 에 依하여 試驗한 結果 Penicillin 과 Dihydrostreptomycin 에는 抵抗力을 表示하였으나 Aureomycin 과 Chloromycetin 에는 感受性을 크게 나타내었다. Penicillin, Dihydrostreptomycin 及 Aureomycin 에 對한 Sensitivity 를 Tube test method 에 依하여 試驗한 結果 表 2 에

PENICILLIN, DIHYDROSTREPTOMYCIN, AUREOMYCIN 에 대한 抵抗力 試驗

(表 I)

(TEST TOBE METHOD)

TUBE	PENICILLIN		DIHYDROSTREPTOMYCIN		AUREOMYCIN	
	CONCENTRATION in UNIT per cc	1st. CLEAR CONCENTRATION	CONCENTRATION in MEG per cc.	1st. CLEAR CONCENTRATION	CONCENTRATION in MCG per cc.	1st. CLEAR CONCENTRATION
1	80		80		0.008	
2	100	TL. 1, 8, TH. 8	100	TL. 7, TH. 8	0.01	
3	200	TL. 2, TL. 11	200	TL. 1, 2, 5, 6, 8, 11	0.02	TL. 2, 7, 8
4	400	TL. 5, 7.	400	TL. 6	0.04	TL. 1, 11, TH. 8
5	600	TL. 6	600		0.06	TL. 5, 6
6	800		800		0.08	

(表 II)

力價 試驗 成績

TEST CONTROL

	day	TEST					CONTROL						
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5		
室溫 二十四時間	Sign		R	P+	P#	P#			R	P+	P#	P#	
	A	.	.	40	40	40		.	.	80	80	80	
	B	.	.	20	20	20		.	.	80	80	80	
	C	.	.	10	10	10		.	.	60	60	60	
	D	.	.	10	10	10		.	.	40	40	40	
	E												
	Sign		R	P+	P#	P#			R	P+	P#	P#	
	A	.	.	40	40	40		.	.	60	80	80	
	B	.	.	20	20	20		.	.	60	60	60	
	C	.	.	10	10	10		.	.	40	60	60	
	D	.	.	10	10	10		.	.	40	40	40	
	E												
	4° 二十四時間	Sign		R	P+	P#	P#			R	P+	P#	P#
		A	.	.	70	70	70		.	.	60	80	80
		B	.	.	60	60	60		.	.	60	60	60
C		.	.	40	40	40		.	.	40	40	40	
D		.	.	10	10	10		.	.	20	20	20	
Sign			R	P+	P#	P#			R	P+	P#	P#	
A		.	.	60	80	80		.	.	60	80	80	
B		.	.	60	80	80		.	.	40	60	80	
C		.	.	40	40	40		.	.	20	20	30	
D		.	.	20	20	20		.	.	10	10	10	

A : (1 : 1,000), B : (1 : 3,000) C : (1 : 10,000),  
D : (1 : 30,000)

表示된 濃度에서 各各 發育이 阻止됨을 보았다.

이러한 成績에 비추어 Aureomycin을 50 00mcG/cc의 濃度로서 室溫과 4°C에서 再次 24時間 處理하여 抵抗菌의 抑制와 痘苗의 力價에 미치는 영향을 試驗한 結果, Thiol broth에서의 無菌試驗에서 Negative였으며 力價에 있어서, Control에서는 別差를 認定치 못하였으나 Aureomycin 處理에서는 室溫에서 顯隔한 低下를 보였으며, 4°C 處理에서는 Control에서의 그것과 同等한 力價를 示顯하였다.

結 論

1) Penicillin과 Dihydrostreptomycin을 處理한 Small-pox Vaccine의 生殘雜菌의 調査에는 F. thioglycollate media 보다 thiol broth가 그 分離成績에 있어서 훨씬 優秀하였다.

2) 雜菌을 抑制할 目的으로 Penicillin 500 u/cc, Dihydrostreptomycin 500mcG/cc로 Final Vaccine에 處理하였으나 여전히 抵抗하는 球菌種이 大部分의 case에서 出現하였으며 完全한 抑制는 期할수 없었다.

3) 各 Lot에서 分離된 球菌의 性狀은 全部가 同一하였으며 非病原性인 Micrococcus epidermidis의 Variant였다.

4) 이들은 Penicillin과 Dihydrostreptomycin에는 抵抗하였으나 Aureomycin과 Chloromycetin에는 感受性이었다.

5) Penicillin과 Dihydrostreptomycin에 抵抗하는 此種의 球菌을 完全抑制할 目的으로 試驗痘苗를 Aureomycin 5000mcG/cc의 濃度로서 處理한 結果 4°C 處理에서 概存力價에 影響을 줄어없이 實驗的으로 無菌痘苗를 만들수 있었다.