

## 5. サルモネラ菌属のH凝集素血清の製法

### に関する研究 (第1報)

#### 特に菌体浮游濾液のH抗原性について

北海道立衛生研究所 (所 長 中 村 豊)  
大 屋 正

### 緒 言

サルモネラ菌属の凝集反応による菌種間の鑑別に當り類属凝集反応が著明に現われるのでこれがため菌種間の鑑別に少からず困難をあたえ時には主反応より副反応の方が遙かに強く、菌種間の判定不能の場合のあることは周知の事柄である。ここにおいて特異性抗體即ちH凝集素血清の製造に関する研究は當然考えられる問題である。

文献に徴するに田中<sup>(1)</sup>はチフス、パラチフスA及びB菌を以つて豫め免疫した家兎に夫々該當菌に對する大量のO抗原を靜脈内に注射し、4~8時間の後採血して生体内菌體凝集素の除去を企たが、O抗體の吸収が弱いこと、時間の経過と共に正常に復歸すること、家兎の個體差によつて各々採血する適期(時間)に相違があること等により一般に應用されるには至らなかつた。

Orutt<sup>(2)</sup>は豚コレラ菌の菌體浮游液を遠心沈澱して鞭毛浮游液を作り、これを抗原として家兎を免疫し鞭毛それ自體がH抗原たり得ることを證明した。同様の實驗を Craigie<sup>(3)</sup>チフス菌 Balteanu<sup>(4)</sup>はコレラ菌に就て行つているがこれ等の方法は何れも斯る操作中に多少の菌體成分も浮游液中に移行するからH凝集素のみの血清を得ることは困難である。

又 Rezzesi<sup>(5)</sup>はチフス菌、板橋<sup>(6)</sup>は豚コレラ菌のブイオン培養を夫々細菌濾過管で濾過しその濾液を家兎に接種して菌體浮游濾液中にH抗原の移行する事實を證明している。

著者もまた馬流産菌及びパラチフスB菌を用い普通寒天に培養した菌苔を生理的食鹽水に浮游させ細菌濾過管で濾過し菌體を除去した濾液及びブイオン培養菌について同様の操作を行つた菌體なき濾液をそれぞれ家兎に注射しH抗原の移行を追究するとともにH及びO凝集素の出現状態について比較を試みた。その成績は次のとおりである。

### 實驗方法

使用菌種はパラチフスB菌2株(遠藤, 慶<sup>15</sup>)馬流産菌3株(洋露, 狩勝, 八千代)の3菌種を使用した。これ等の菌株は何れも使用前豫め平板培地に移植しS型集落を分離し、これをブイオン又は普通寒天培地に夫々18~20時間培養し生理的食鹽水に浮游したものを細菌濾過管で濾過し抗原とした。即ちブイオン培養菌浮游液については Chamberland L3 及び Brekefeld V 濾過管で濾過したものを、又寒天培養菌に於ては生理的食鹽水1 c.c. : 1 mg の割に菌苔を浮游させ軽く振盪器にかけて鞭毛を落し Berkefeld V で濾過して菌體を除去しその濾液を夫々稀釋することなくその儘抗原とし氷室に保存し同一抗原を最終注射まで使用した。

尚、この抗原は使用前染色するも鞭毛を認めず、又培養によつて無菌であることを確認してから使用した。免疫方法は體重2 kg 内外の家兎に靜脈内又は皮下に5~7日の間隔を以つて第1回2~5 c.c., 第2回3~10 c.c., 第3~4回5~15 c.c. (第1表参照)宛注射して免疫を行い、最終注射日より約10日を経て採血して血清を得た。

これについて夫々該當菌によつて作つた0.1%フォルマリン(H+O)抗原及び Gardner<sup>(7)</sup>法によるア

ルコールO抗原を用い、所定の如く凝集反応を行い、H及びO凝集價を比較した。

### 實驗成績

菌體浮遊濾液注射によつて產生するH及びO凝集素の出現は第1, 2表に示すとおりパラチフスB菌においてはブイオン培養菌の Chamberland L3 にて濾過したものを抗原とした場合は、靜脈内注射例ではH凝集價6頭中3,200倍のもの2例, 6,400倍のもの2例, 12,800倍のもの1例でこれに對してO凝集價は50倍のもの2例, 100倍のもの3例, 200倍(±)のもの1例であつた。

ブイオン培養菌の Berkefeld V 濾液を抗原とした場合は8頭中H凝集價800倍のもの1例, 3,200倍のもの3例, 6,400倍のもの3例, 12,800倍のもの1例, これに對してO凝集價は50倍以下のものが3例, 50倍陽性のもの3例, 100倍及び200倍が各1例であつた。

寒天培養菌を生理的食塩水に浮遊させて Berkefeld V で濾過したものを抗原とした場合はH凝集價は2例とも6,400倍に對しO凝集價は僅かに50倍を示したに過ぎない。(第1表参照)

第1表 パラチフスB菌の菌體浮遊濾液注射によつて產生するH及びO凝集價

菌種名	抗原の種類				ブイオン培養菌の Chamberland L3 濾液		ブイオン培養菌の Berkefeld V. 濾液		寒天培養菌の食塩水浮遊液 Berkefeld V. 濾液	
	凝集價				H-凝集價	O-凝集價	H-凝集價	O-凝集價	H-凝集價	O-凝集價
	注射量及び回数	1回	2回	3回						
遠藤	3c.c	4c.c	5c.c	6c.c(靜)			800倍	0		
	5 "	7 "	10 "	"			3,200 "	0		
	2 "	3 "	5 "	5 "					6,400倍	50倍
	2 "	3 "	5 "	5 "					6,400 "	50 "
	3 "	3 "	5 "	7 "	6,400倍	100倍				
	3 "	5 "	5 "	7 "(皮)	3,200 "	50 "				
慶	3c.c	5c.c	10	10c.c(靜)	6,400倍	100倍				
	3 "	5 "	10	10 "	12,800 "	200(±) "				
	3 "	5 "	10	10 "	3,200 "	100 "				
	3 "	5 "	7	10 "			6,400倍	100倍		
	3 "	5 "	7	10 "			3,200 "	50 "		
	3 "	5 "	7	10 "			6,400 "	50 "		
	3 "	5 "	7	10 "			12,800 "	200(±)		
	5 "	10 "	10	15 "(皮)	6,400 "	50 "	6,400 "	50		
15	5 "	10 "	10	15 "		3,200 "	0			

- \* 表中 1. 靜とあるは、靜脈内注射, 皮とあるは皮下注射を意味す。  
2. 第2表も之に準ずる。

馬流産菌においては第2表に示すが如くブイオン培養菌の chamberland L3 濾液を用いた場合はH凝集價4頭中800倍及び1,600倍陽性が各2例, これに對しO凝集價は200倍1例, 400倍, 3例。又ブイオン培養菌の Berkefeld V 濾液を用いた場合はH凝集價3,200倍及び6,400倍の各1例に對しO凝集價はいずれも800倍陽性であつた。

寒天培養菌苔の生理的食塩水浮遊液を Berkefeld V で濾過した場合はH凝集價 1,600 倍及び 3,200 倍のもの各 1 例に對しO凝集價は 8,000 倍を示し兩者の間に著明な差は認められなかつた。(第 2 表参照)

第 2 表 馬流産菌の菌體浮遊濾液注射によつて產生するH及び凝集價

菌種名	抗原の種類				ブイヨン培養菌の Chamberland L3 濾液		ブイヨン培養菌の Berkefeld V 濾液		寒天培養菌の食塩水浮遊 Brekefeld V 濾液			
	凝集價				H—凝集價	O—凝集價	H—凝集價	O—凝集價	H—凝集價	O—凝集價		
	注射量及び回数	1回	2回	3回							4回	
洋露	3c.c	5c.c	7c.c	10c.c (靜)	1,600倍	400倍	3,200倍	800倍				
	4 "	5 "	6 "	7 "								
	4 "	5 "	7 "	10 "								
勝狩	5 "	7 "	10 "	12 "					3,200倍	800倍		
八千代	3 "	5 "	5 "	7 "	800 "	400 "						
	3 "	5 "	7 "	10 "	1,600 "	400 "						
	3 "	5 "	7 "	10 "	800 "	200 "						
	5 "	10 "	10 "	10 "					1,600 "	800 "		

これを要するにパラチフスB菌はブイヨン培養菌或いは寒天培養菌浮遊液たるを問わず細菌濾過管をもつて菌體を除去した濾液を家兎に注射すればH凝集素を著明に出現させO凝集素は殆どさせないか或いは產生しても極めて微弱であつた。

これに反し馬流産菌は兩凝集素の差が著明でない。

さらに Chamberland L3 (孔径 2.5~2.9  $\mu$ ) 及び Berkefeld V (孔径 9.0~14.4  $\mu$ ) とを比較すると兩者の間に特に差異は認められない。

#### 小括及び考察

上述の成績を通覽すると、菌體浮遊濾液を抗原として家兎を免疫すればパラチフスB菌においてはH凝集素は常にO凝集價より著しく高い。即ちH及びO凝集價の差は第 1—2 表を總合するにパラチフスB菌においては 15 例中H凝集價 800 倍、O凝集價 50 倍以下のものが 1 例、H凝集價 3,200 倍、O凝集價 50 倍以下のものが 2 例、H凝集價 3,200 倍、O凝集價 50 倍その差 64 倍のもの 2 例、H凝集價 6400 倍、O凝集價 50 倍その差 128 倍のものが 4 例 (以下省略) でありいずれもH凝集價の方が遙かに高い凝集價を示した。

然るに馬流産菌においてはH、O凝集價は 8 倍のものが 1 例、4 倍のものが 4 例、2 倍のものが 2 例、H及びO凝集價の全く同一のものが 1 例で兩凝集價の間に著明な差は認められなかつた。

ここにおいてパラチフスB菌と馬流産菌とは同一方法によつて行われた實驗にもかかわらず兩菌種間にH及びO抗體の出現がかくの如き相違を來すは如何なる理由に因るものであるか、こ

れを検討してみる必要がある。

文献に徴するに昆野及び橋本<sup>(8)</sup>はパラチフスB菌及び馬流産菌のO血清に夫々 homolog 及び heterolog の抗原を作用させ兩菌種間の被凝集性特に最終凝集價について比較した。その成績はパラチフスB菌のO血清に homolog のパラチフスB菌を作用させた場合よりも heterolog の馬流産菌を作用させた場合の方が遙かに凝集價が高く又馬流産菌のO血清に馬流産菌及びパラチフスB菌を作用させると馬流産菌はパラチフスB菌に比し凝集價は常に高いと言っている。著者も亦馬流産の血清を用い同一實驗を試みたが昆野氏等の成績に一致した。

なお、既述の濾液抗原をもつて家兎を免疫して得たパラチフスB菌及び馬流産菌血清にそれぞれ homolog 及び heterolog のO抗原を作用させたところその成績はやはりパラチフスB菌の血清に homolog のパラチフスB菌を作用した場合よりも homolog の馬流産菌を作用させた方が常に試験管1~2本最終價は高かつた。

これを抗原構造の點から考えてみると、パラチフスB菌のO抗原 (I) V (V) と馬流産菌のO抗原 IV とは IV は全く同一抗原をもっている。それにもかかわらず兩菌はこのような凝集價に相違を來たすことは何によるものであるか。即ち量的關係によるものか或いは被凝集性の感度に起因するものであるかは今後の研究にまつべきである。

## 結 論

パラチフスB菌及び馬流産菌のブイヨン培養及び寒天培養菌を前者はそのまま後者は生理的食塩水に浮游させ、これを細菌濾過管で濾過しその濾液を抗原として家兎を免疫しH及びO凝集素の出現状態を觀察してみた。その成績を總括すれば次の如し。

1. パラチフスB菌の菌體浮游液を細菌濾過管で濾過し菌體を除去した濾液中にはやや多量のH抗原成分を含有し、これを家兎に注射すれば殆どH凝集素のみを有する血清を得ることができる。

これに反して同一方法をもつて作った馬流産菌の濾液抗原を家兎に注射してもH凝集素のみと思われる抗血清を得ることはできない。これは馬流産菌のO抗原は凝集反應において被凝集性の感度がパラチフスB菌に比較して鋭敏であるか或いはO抗原の量的關係に因るものであるか或いは又ブイヨン培養濾液及び寒天培養菌體浮游液の振盪操作中等においてH抗原性成分の他にO抗原性成分もまた移行するものであるかは判然と決定し得ない。

2. 菌體浮游濾液抗原は殆ど透明にして染色によつて鞭毛を證明せず、又これを家兎に注射してもなん等の副反應を認めない。

以上の結果より考察するにパラチフスB菌の菌體浮游濾液抗原中には殆どH抗原成分のみが移行するをもつて今後サルモネラ菌屬のH血清製造に當り重要な参考資料となり得るものと考ええる。

## 文 献

1. 田中、凝集素の生體內特異化に關する研究、日本微生物病理學雜誌、昭和11年2、3月。

2. Crutt, M. L., Flagella agglutination, J. exp. med., 1924 **40** 43
3. Craigie, J; Studies on the serological reactions of the flagella of B-typhosus, J. Imm, 1931 **21** 417
4. Baeteanu, I; the receptor structure of vibrio cholera (V.Comma) J. Path, and bact, 1926 **26** 251
5. Rezzesi, F, D; agglutinazione somatica ed agglutinazione flagellare, Ann. Jg., 1933 **42** 92
6. 板橋, 豚コレラ菌の培養濾液注射によつて産生せられたる抗鞭毛性凝集素血清について,  
日本獸醫學雜誌 昭和10年8月 14卷
7. Gardner, the smoll-flaking or "O" Aggultination of Permanert Standardised "O" suspension of B-typhus by the serum of normal, inoculated and infecd Persons. J. Hyg., 1928—29 **28** 376
8. 昆野, 橋本, 馬洗産菌パラチフス菌及び鼠チフスの相互關係, 特に antigenanalyse に就て,  
日本獸醫學雜誌 昭和8年1月 12卷