加熱死菌加ブイヨン培養中ゲルトネル菌から 変異した大腸菌について

第2報 その血清学的性狀

石 浜 光

浦和市立結核療養所

〔受付： 12月12日1954年〕

実験材料と方法

1891株, SER株, 1M株, 2M株, 3M株, H23株
抗1891血清, 抗Ar21血清, 抗SER血清は第1報に
報告した。

S. urbana 株, サルモネラ Further groups の標準菌
株。

抗1M OK 血清, 1M株の生菌ウサギ免疫血清。

抗1MO 血清, 1M株の30分煮沸菌ウサギ免疫血清。

抗2M血清, 2M株の生菌ウサギ免疫血清。

抗 S. urbana 血清, 同株の2時間半煮沸菌ウサギ免
疫血清。

S相菌のみの時は0.9%食塩水, 2M株, SER株と
比較する時は0.09%食塩水を用いた。血清キシック液
0.5mlに菌液(普通寒天1日培養の生菌または30分煮
沸菌)を1滴々下し, 37°C2時間後, さらに室温に1夜
放置して翌朝肉眼で判定した。

実 験

a. 1M株とサルモネラとの関係

1M株の30分煮沸菌は抗SER血清にはわずかに凝
集するが生菌, 煮沸菌とも抗1891血清はじめ S. para-
typhi A, S. paratyphi B, S. paratyphi C, V 相チフ
ス菌 No. 58 の各生菌免疫血清およびサルモネラE群の
O血清, 因子H血清 i, e, n, x, 1, 2, 3, 5 に凝集しな
い。また抗1MOK血清に対しては上述の各菌型はじめ
多くのサルモネラは凝集しない。

b. 1M株とAr21株, H23株の関係

抗1MOK血清を用い, サルモネラ, 大腸菌群の多く
の菌株のため凝集を行つたところ Ar21株とH23株
が凝集した。また抗Ar21血清に1M株, H23株とも
凝集した。そこで3者の交叉吸収試験を行つた。成績を
表1に示す。すなわち3株はいずれも部分共通O抗原を

第1表 1M株とアリゾナ, エセリヒアの

交叉吸収試験

抗	吸収菌			抗	吸収菌		
	未吸収	凝集菌	凝集価		未吸収	凝集菌	凝集価
1	未吸収	1M	1,600	A	未吸収	1M	1,600
		Ar21	1,600			Ar21	1,600
		H23	1,600			H23	1,600
M	未吸収	1M	1,600	r	未吸収	1M	—
		Ar21	—			Ar21	1,600
		H23	—			H23	200
O	Ar21	1M	1,600	2	1M	1M	—
		Ar21	—			Ar21	1,600
		H23	—			H23	200
K	H23	1M	1,600	1	H23	1M	400
		Ar21	1,600			Ar21	1,600
		H23	—			H23	—
血	H23	1M	1,600	血	H23	1M	400
		Ar21	1,600			Ar21	1,600
		H23	—			H23	—
清	H23	1M	1,600	清	H23	1M	400
		Ar21	1,600			Ar21	1,600
		H23	—			H23	—

1. 吸収菌, 凝集菌とも30分煮沸

2. —は100倍陰性

有し, 特に1M株とH23株の関係は深い。

c. 1M株のK抗体

1M株は抗1MOK血清には生菌でも凝集するが, 抗
Ar21血清, 抗1MO血清には生菌は全く凝集しない。
それで次の実験を行つた。50mg/mlの菌液を125°C1
時間加熱し, 遠心沈澱し, その上清をすて, 沈渣に同量
の食塩水を加え, 再浮遊した。これに25倍キシック抗
1MOK血清を等量に加え, 吸収した。その成績を表2
に示す。また100mg/ml菌液で吸収の分はいずれも50
倍陰性であつた。すなわち1M株の生菌は同OK血清
には凝集し, 同O血清には凝集しないが, 易熱性抗原に

ISHIHAMA Hikaru: On the E. coli varied from
S. enteritidis in the course of Culture in broth
containing heat-killed bacilli. II. The serological
characteristics of the strain, Urawa Sanatorium.
— Jap. J. of Bact. 10 (6), 505-507. 1955.

対する抗体はえられなかつた。

第2表 1M株のK抗体

抗 1 M O K 血 清	処 置	凝 集 菌	凝 集 価
	未 吸 收	生 菌 煮 沸 菌	1.600 3.200
	加熱菌で吸収	生 菌 煮 沸 菌	50 50

1. 吸収菌は125°C 1時間加熱。
2. 50mg/ml 菌液を25倍血清と等量混合吸収。

d. 1M株生菌の吸収能

1M株生菌は抗Ar21血清、抗1MO血清には全く凝集しないが、さらに吸収能の有無を検討した。菌液を2分して一は生菌液、他は30分煮沸菌液に等量のキシヤク抗1MO血清を加え、37°C10時間後遠心沈澱し、上清について凝集試験を行つた。その成績を表3に示す

第3表 1M株の生菌、煮沸菌の吸収能の比較

	吸 收 菌 量	凝 集 菌	凝 集 価
	未 吸 收	生 菌 煮 沸 菌	— 1.600
生 菌	20mg/ml	〃	—
	10mg 〃	〃	—
	5mg 〃	〃	50
煮 沸 菌	20mg 〃	〃	—
	10mg 〃	〃	—
	5mg 〃	〃	50

1. 血清は抗1MO血清
2. 抗Ar21血清でも同様
3. 一は50倍陰性

すなわち両者は全く同程度の吸収能を示した。これは抗Ar21血清を用いても同様な成績がえられた。

e. 1M株のO凝集性と莢膜との関係

1M株は莢膜を有し、またO凝集性なので両者の関係を検討するため、次の実験を行つた。1mg/mlの菌液を小試験管に分注し、これを56°Cの温湯に浸し、1本ずつ時間を追つて取出し、半分は凝集反応、半分は塩化第二鉄法による莢膜染色を行つた。成績を表4に示す。すなわち生菌は抗Ar21血清に凝集しないが、莢膜が破壊するにつれて凝集するようになった。しかし60°C30分加熱でもほとんど莢膜が破壊されない事があつた。また時には抗Ar21血清にもよく凝集する事があつ

第4表 1M株の莢膜と凝集性との関係

加 熱 時 間	莢 膜	50 倍 抗 血 清	
		1 MOK	Ar 21
56°C 0分	+++	+++	—
〃 5分	+++	+++	—
〃 10分	+++	+++	—
〃 20分	+	+++	+
〃 30分	—	+++	+++
100°C 5分	—	+++	+++

莢膜+は変形甚しきもお認められ、
—は全く認められぬもの

た。これをふたたび寒天平板にうえつくと今度は抗Ar21血清には凝集しない。また反対に抗1MOK血清にも凝集しない事があつた。これをふたたび寒天平板にうえつくと今度は凝集した。この奇妙な現象は集落をひろつたためではなく、寒天斜面からうえついでいる時にみられた。また1M株をブイヨン中に長く培養したところ透明、不透明の2様の集落を生じた。抗Ar21血清に前者は凝集したが、後者はしなかつた。そして抗1MOK血清には両者ともよく凝集した。以上の菌はいずれも同様な莢膜が認められた。

f. 1M株の莢膜とVi抗原の共通性

両者の相似性が考えられたので、比較実験を行い、次の事を知つた。すなわち両者とも37°C1日培養菌ではO凝集性であるが室温培養菌、1%ブドウ糖加寒天培養菌、60°C30分加熱菌、または30%アルコール加菌液、0.5%カルボール加菌液、2%醋酸加菌液の37°C20時間放置により、O凝集性となつた。

g. 2M株とS. urbanaの関係

前報にのべたように2M株は1M株から変異したものであり、生化学的性状は1M株に一致するが、抗2M血清をSER株で吸収すると1M株は全く凝集しない。抗2M血清に対して1891株等の多くのサルモネラ、Ar21株等の多くのアリゾナはS. urbanaを除いては凝集しなかつた。また2M株は抗S. urbana血清に凝集した。そこで両株の交叉吸収試験を行つた。なお2M株はR相菌なので、0.09%食塩水を用いて血清をキシヤクした。成績を表5に示す。表5から2M株はR相菌ではあるが、S. urbanaのO抗原XXXに関係のある少量のO抗原を有するといえよう。なお抗1MOK血清、抗SER血清にはS. urbanaは凝集せず、抗S. urbana血清にも1M株、1R株は全く凝集しなかつた。

第5表 2 M 株と *S. urbana* の交叉吸収試験

抗血清	吸収菌	凝集菌	
		2 M	<i>S. ur</i>
2 M	2 M	800	* 400
	<i>S. ur.</i>	—	—
<i>S. ur</i>	2 M	800	—
	<i>S. ur</i>	200	400
		—	400
		—	—

1. 吸収菌は生菌
2. 凝集菌は 30 分煮沸
3. 血清は 0.09% 食塩水でキシャク
4. —は 50 倍陰性

考 按

1 M 株生菌は莢膜を有し、抗 1 MOK 血清には凝集するが、抗 1 MO 血清には全く凝集しない。この事は 1 M 株の K 抗原の凝集素の産生能は 30 分煮沸により失われる事を示している。また 5 分煮沸により、莢膜は見えなくなり、O 易凝集性となった。しかるに 125°C 1 時間加熱菌も抗 1 MOK 血清に対する凝集素吸収能は生菌と同程度であり、K 抗体はえられなかつた(表 2)。また生菌は O 難凝集性にもかかわらず、その吸収能は 30 分煮沸菌と全く同じであつた(表 3)。これらの性状は表 6 に示すように極めて奇妙ではあるが、戴²⁾の報告した *B. feacalis alcaligenes* の例に全く一致する。以上の成績から 1 M 株の莢膜は K 抗原 B³ に属するようである。なお 1 M 株

は弱いながら運動をするのに H 凝集がみられなかつた。Kauffmann³⁾によれば大腸菌の H 抗原の発育は寒天 1 日培養菌では悪く、通常の凝集反応では無視してよいという。

結 論

1. 1 M 株はサルモネラの抗原をもたず、アリゾナ 5 群、エセリヒア 2 群との共通 O 抗原を有する。
2. 1 M 株は O 難凝集性である。
3. 1 M 株は 56°C 30 分加熱で O 易凝集性となる。
4. 1 M 株の K 抗体産生能は 30 分煮沸により失われる。
5. 抗 1 MOK 血清を 125°C 1 時間加熱菌で吸収しても K 抗体はえられない。
6. 1 M 株生菌は O 難凝集性だが、煮沸菌と同様の吸収能を有する。
7. 2 M 株と *S. urbana* の O 抗原は関係がある。

文 献

- 1) 安東洪次：医学通信, 6, 27, 昭 26.
- 2) 戴神庇：慶応医学, 11, 1467~1481, 昭 6.
- 3) Kauffmann, F.: *Enterobacteriaceae*, Ejnar Munksgaard Publisher, Copenhagen, 1951.

第6表 1 M 株の K 抗原の性状

処 置	生 菌	煮 沸		125° C 1 時間
		5 分	30 分	
O 難凝集性	+	—	—	—
K 抗体の産生能	+	0	—	0
O 抗体の吸収能	+	0	+	0
K 抗体の吸収能	+	0	+	+
莢膜の形態	+	—	0	0