S. abortus equi の凝集反応に関する研究

I. S. abortus equi と、他の B 群サルモネラとの被凝集性の比較

松 井 光 蘭

農林省家畜衛生試験場東北支場

[受付：12月7日・1960年]

緒 言

わが国のマウスの血清における *S. abortus equi* に対する凝集素の分布については多くの人々によつて調査されているが、1954年、山田ら²⁾ は、ウマパラチフス凝集価の年令的分布について統計的に分析し、有意水準5%で凝集価の陽性限界を求め、当才、2才、3才、4～6才、7～14・15才以上の順に1:100, 1:300, 1:500, 1:800～1,000, 1:1,280 となると述べた。さらに1953年、三浦³⁾ はウマパラチフス感染ウマの凝集反応抗体の消長を観察し、流産前には凝集価はほとんど上昇しないが、流産を契機として上昇し、ほぼ10日目で最高の価(おおむね1:800～3,200)に達し、2～4週目頃から徐々に下降しはじめるが、5カ月以上にわたつて1:800以上の凝集価を示すのが通例であつたと述べた。

一方、診断の一つの方法として凝集反応が採用されている疾病の凝集価の陽性限界は、ブルセラ病が1:100、チフスおよびパラチフスが1:100～200とされ³⁾、また家畜の疾病においても、ヒナ白痢が1:25、ウシのブルセラが1:200を陽性限界としている。これに対して *S. abortus equi* を原因菌とするウマパラチフス症では、1:1,280を陽性限界としている⁴⁾。

このように、*S. abortus equi* が凝集反応において、他の細菌よりも高い凝集価を示すことが注目され、この抗原性についてのいくつかの検討がなされた。

1952年、安藤ら⁵⁾ は、*S. abortus equi* のウサギ免疫血清に対する被凝集性は、4, 12因子に対しては全菌株一様の終末価を示したと報告し、同年、村瀬ら⁷⁾ も *S. abortus equi* は、S型菌である限り分離年月に関係なく被凝集性に差がないと報告し、いずれも、*S. abortus equi* の凝集反応における抗原性のきわめて安定してい

ることを認めているが、また、1954年、坂崎⁹⁾ は、*S. abortus equi* を血清学的見地から考究し、そのO抗原について *S. abortus equi* は Kauffman によつて決定された4, 12_i および12_s 抗原のほか、*S. Paratyphi A* に共通なある抗原(12_s ではない) および *S. typhi* に共通なある抗原からなり、ことに後者は他のB群サルモネラには存在しない、一応特異的な抗原であると述べた。

さらに、*S. abortus equi* の凝集反応における反応態度を、その他のB群サルモネラと比較検討することがおこなわれた。すなわち、村瀬ら⁷⁾ は、健康ウマ、感染ウマ血清の双方に対し、*S. abortus equi* は他のB群サルモネラよりはるかに高い凝集価を示し、この高い被凝集性は、O抗原中の12因子、就中、12_i, 12_s なる Form variation を起さない因子にあるものごとく、今後分析的にこの点を追究してゆくことによつて、本反応の診断的応用価値に対する正しい認識がえられるものと考えたと述べ、1950年、渡辺ら¹⁰⁾ も同様の成績をえて、*S. abortus equi* の高い被凝集性は、感染の初期のものと摘発する有効な標示となるものと考えられるが、感染後長期間経過したものについては、今後検討されなければならないと考えられると述べた。

著者は、上述の村瀬ら⁷⁾、渡辺ら¹⁰⁾ の述べたような観点から、*S. abortus equi* の凝集反応における態度を種々の面から検討したが、本編では、*S. abortus equi* と他のB群サルモネラの被凝集性の比較をおこない、さらに、*S. abortus equi* の高い被凝集性が、特異的なものであるか否かについての検討をおこなつた。

MATSUI Koran: Studies on the Agglutination of Salmonella Abortus-equi. I. A Comparison of the Agglutinative Activity between S. Abortus-equi and the Other B-group Salmonella. Tohoku Branch of National Institute of Animal Health.—Jap. J. of Bact., 16(6), 516-520, 1961.

実験材料ならびに方法

供試血清：血清は無菌的に採取し、何処に処置することなくただちに使用するか、あるいは -20°C の冷蔵庫に保存し、用いるのぞみ流水中に融解せしめて使用したが、この際は凍結融解によって血清蛋白質の変性がおこることをなるべくさけるために、これを反復しないように留意した。

供試菌種：*S. abortus equi* の被凝集性がO抗原12に関連性をもつとされているので、この点を考慮して、

S. abortus equi (4, 12₁, 12₂:-:e, n, x)

S. typhi murium (*S.* 13) (1, 4, 5, 12₁, 12₂:i:1, 2)

S. schleissheim (*S.* 31) (4, 27, 12₁, 12₂:b, z₁₂:—) に主眼をおき、その他にも14種のB群サルモネラ、すなわち *S. paratyphi B* (*S.* 5), *S. typhi murium* (*S.* 9), *S. stanley* (*S.* 15), *S. heidelberg* (*S.* 16), *S. chester* (*S.* 17), *S. san-diego* (*S.* 18), *S. reading* (*S.* 19), *S. derby* (*S.* 20ならびに *S.* 21), *S. essen* (*S.* 22), *S. budapest* (*S.* 23), *S. brandenburg* (*S.* 24), *S. bispebjerg* (*S.* 25), *S. bredeney* (*S.* 30) と、B群サルモネラ以外のサルモネラ4種、すなわち、A群 *S. paratyphi A* (*S.* 1) C群 *S. montevideo* (*S.* 46) D群 *S. enteritidis* (*S.* 64) E群 *S. senftenberg* (F4-3) を供試した。

凝集反応の抗原：普通寒天平板の18時間培養菌をかきとり、生理食塩液で洗浄した後、これを平板20枚分の菌に対して50mlの割合の純アルコールに混じ、 60°C のゆぶねの中で1時間加温し、ついで遠心沈澱して上清をすて、沈渣に50%アルコール50mlを加えて加温することなく再遠心沈澱し、この沈渣に50%アルコール少量を加え硝子球を入れて充分振盪した後、全量20~30mlとなるよう50%アルコールを加え、密栓して 0°C に保存し、用いるのぞんで食塩水で所要の濃度に希釈して使用した。

凝集反応の術式：血清ならびに抗原の希釈には、0.5%の食塩液にホルマリンを0.25%の割合に加えたものを使用した。血清を常法のごとく倍数希釈し、この0.2mlに、抗原をMcFarlandのNo. 2の濃度に希釈したもの0.2mlを加えてよく振盪し、 50°C のゆぶねに2時間感作した後、一夜室温に静置してから判定した。凝集価は、凝集を認めた最終血清希釈倍数とした。

実験成績

1. *S. abortus equi*, *S. typhi murium* および *S.*

schleissheim を抗原とした野外ウマ血清に対する凝集反応

青森県、岩手県および秋田県の各地から採取したウマの血清847例について、*S. abortus equi*, *S. typhi murium* および *S. schleissheim* の凝集反応をおこなったところ(第1図)、*S. abortus equi* に対する凝集価は、

第1図 野外ウマ血清に対する凝集反応

陰性(1:40)であつたものが10.1%, 1:40を示したものが22.7%, 1:80が26.5%, 1:160が20.4%, 1:320が12.4%, 1:640が5.7%, 1:1,280が1.7%および1:2,560が0.6%であつたが、*S. typhi murium* および *S. schleissheim* に対する凝集価は、陰性のものがそれぞれ83.4%, 80.4%とその大部分をしめそれ以上の価を示したのは1:40がそれぞれ13.4%, 14.0%, 1:80が2.9%, 5.2%, 1:160がいずれも0.4%にすぎなかつた。このことはいずれの血清も *S. abortus equi* に対する凝集価が、*S. typhi murium* および *S. schleissheim* のそれよりも、あきらかに高い価を示したからであつた。

2. 生菌接種動物における血清凝集反応の経日的観察

以上の実験に使用した血清は、野外ウマのもので、これらの抗体の産生された機序があきらかでないことから、健康ウマ2頭を使用し、1頭には *S. abortus equi* の生菌4mgを他の1頭には *S. typhi murium* の生菌2mgを、それぞれ静脈内に接種して、その血清凝集価の消長を3者の抗原をもつて経日的に観察した(第2図)。その結果は、菌の接種後1~2週にかけていずれの抗原に対しても凝集価の上昇が認められ、のちやや下降したまま、*S. abortus equi* 生菌接種例の血清の *S. typhi murium* および *S. schleissheim* に対する凝集価が、4~5週で消失したほかは、長期にわたつてその凝

第2図 生菌を接種されたウマにおける凝集価の消長

集価を保持した。しかしその凝集価の程度は全観察期間を通じて *S. abortus equi* に対する凝集価が、*S. typhi murium* および *S. schleissheim* に対する凝集価よりもあきらかに高く、このことは接種菌が *S. abortus equi* であつても、また *S. typhi murium* であつても同様であつた。

ついで、同様の実験をウサギを用いておこなつた(第3図)。すなわち、*S. abortus equi*、*S. typhi murium* および *S. schleissheim* の生菌をそれぞれウサギの耳静脈内に接種して、3者の抗原に対する血清凝集価の消長を観察したところ、ウマにおける場合と同様に、いずれの菌を接種されたウサギにおいても、常に *S. abortus equi* に対する凝集価が他の2者のそれよりもあきらかに高く、しかもこのことは8カ月の長期にわたつて変化がなかつた。

第3図 生菌を接種されたウサギにおける凝集価の消長

3. ウサギ免疫血清の *S. abortus equi* とその他のB群サルモネラとに対する凝集価の比較

S. abortus equi は *S. typhi murium* および *S. schleissheim* を接種した動物の血清に対しても、それぞれの

第4図 *S. abortus equi* と他のB群 *Salmonella* の被凝集性の比較

血清: 100°C-2時間加熱死菌接種兔血清
反応元: アルコール処理抗原

抗 元		血 滴											
		<i>S.abortus equi</i> 26				<i>S.typhimurium</i> 27				<i>S.schleissheim</i> 28			
		1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
<i>S.abortus equi</i>	イ												
	レ												
	オ												
	ク												
	イ												
	レ												
	オ												
	ク												
	イ												
	レ												
秀モト赤北秋梅電局昭オ	5												
	9												
	13												
	15												
	16												
	17												
	18												
	19												
	20												
	21												
	22												
	23												
	24												
	25												
	30												
	31												

接種菌よりも常に高い凝集価を示したが、さらに11株の *S. abortus equi* と、その他のB群サルモネラ16種をえらび、これらに対する *S. abortus equi*, *S. typhi murium* および *S. schleissheim* のウサギ免疫血清の凝集価を比較した。第4図は 100°C 2時間加熱菌をもつて、第5図は生菌をもつて免疫した血清を用いた成績であるが *S. abortus equi* はいずれの菌株もほぼ同じ程度の凝集価を示し、それらは、大部分のB群サルモネラに対する凝集価よりも高かった。このことは、免疫元の菌種や、また、生菌であると 100°C 加熱菌であるとかかわらず認められた。

4. A, C, D および E 群サルモネラ 免疫血清の,
S. abortus equi と他の B 群サルモネラとに対する凝集
価の比較

以上の各実験で認められた *S. abortus equi* の高い被凝集性が、特異的なものであるか否かをたしかめる目的で、A群 (*S. paratyphi* A)、C群 (*S. montevideo*)、D群 (*S. enteritidis*) およびE群 (*S. uganda*) のウサギ免疫血清に対する *S. abortus equi* および他のB群サルモネラの凝集反応を、これらサルモネラの 100°C加熱菌を抗原として比較した(第6図)。その結果 *S. abortus*

第6図 A, C, D, E 群免疫血清に
対する被凝集性
抗 元: 100°C-2時間加熱抗元

機 元		血				漬											
		<i>S. paratyphoid</i> (A)				<i>S. mookrydeae</i> (C)				<i>S. enteritidis</i> (D)				<i>S. Uganda</i> (E)			
		1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
<i>S. abortus equi</i>	イクノ	■								■							
	レオ	■								■							
	ーラ	■								■							
	寒藤下赤北秋梅	■								■							
	善后昭太	■								■							
<i>S. S.</i>	セコン	■								■							
	エン	■								■							
	ツ	■								■							
	1	■								■							
	5	■								■							
	9	■								■							
	13	■								■							
	15	■								■							
	16	■								■							
	17	■				■				■							
	18	■								■							
	19	■				■				■							
	20	■								■							
	21	■								■							
	22	■								■							
23	■								■								
24	■								■								
25	■								■								
30	■								■								
31	■								■								
<i>S.</i>	46	■				■				■							
<i>S.</i>	64	■								■							
<i>F. II</i>	3	■								■				■			

抗体稀释: 80×2^n

equi は O 抗体 12 をもつ A 群ならびに D 群血清にのみ凝集し、C 群ならびに E 群血清に対しては全く凝集しなかつた。しかも、この *S. abortus equi* の凝集価は他の B 群サルモネラの大部分よりも高い価であつた。

考 察

S. abortus equi の凝集反応において、その O 凝集価が、他の B 群サルモネラにくらべて高いことは、野外ウマの血清ばかりでなく、*S. abortus equi*, *S. typhimurium* および *S. schleissheim* で免疫されたウマやウサギの血清においても同様であり、このことは、抗体の消長を長期にわたって観察しても変化がなかったことから、*S. abortus equi* の高い凝集価は、免疫元に対する血中抗体の出現の状態によるものではなく、きわめて安定したものであり、少なくともこれら 3 種サルモネラのもつ共通の抗原に由来していると考えられる。

また、使用した *S. abortus equi* の11株がいずれも同じ程度に高い被凝集性を示したことは、*S. abortus equi* が反応元としてきわめて安定であると言う安藤ら⁶⁾、村瀬ら⁷⁾、坂崎⁹⁾の報告と一致している。

さらに、*S. abortus equi* と他の B 群サルモネラの被凝集性の差が、生菌あるいは加熱死菌のいずれを免疫元とした血清においても同様認められたことは、免疫元が生菌であつても、加熱死菌であつても、*S. abortus equi* が他の B 群サルモネラよりも高い被凝集性をもっていることに関係がないことを示している。

A, C, D および E 群サルモネラの血清に対する *S. abortus equi* ならびに他の B 群サルモネラの凝集価を比較した結果は、O 抗原 12 を有する A および D 群の免疫血清に対しては、*S. abortus equi* と、その他の B 群サルモネラの一部に凝集を認め、C 群および E 群の免疫血清に対して、*S. abortus equi* は全く反応しなかつた。このような *S. abortus equi* の被凝集性は、12 抗原に基因するためと想像されるが、それにもかかわらず、他の B 群サルモネラよりも高い被凝集性を示していることは、12 部分抗原の相違というよりもむしろ、菌自身の他の条件によるものと考えられる。

結 論

1. *S. abortus equi* は、野外ウマ血清や *S. abortus equi* 免疫血清ばかりでなく、*S. typhi murium* および *S. schleissheim* 免疫血清に対しても、他の B 群サルモネラよりも高い被凝集性を示した。

2. この高い被凝集性は、長期にわたる観察においても安定であつた。

3. *S. abortus equi* の被凝集性が他のB群サルモネラよりも高いのは、12部分抗原によることよりも、むしろ菌自身のもつ他の条件によるものであると考えられた。

終りに石井場長ならびに旭支場長に敬意を表し、指導と校閲を賜わった予防衛生研究所坂崎博士、家畜衛生試験場村瀬博士、渡辺正太博士に深謝し、また種々助言をいただいた杉村博士に感謝する。

文 献

1) 山田・安藤：日獣誌，16，6，11，1954.

- 2) 三浦：日獣会誌，6，9，306，1953.
- 3) 中村：細菌学血清学検査法，克誠堂，1948.
- 4) 家畜衛生試験場技術者集談会：家畜伝染病診断学，文永堂，1953.
- 5) 安藤・市村・梶：日獣誌，14，6，325，1952.
- 6) 村瀬・渡辺・荒海・越智：日獣誌，14，6，424，1952.
- 7) 坂崎：日獣誌，15，学会号，62，1954.
- 8) 渡辺・松井・秋山：日獣誌，20，6，281，1958.
- 9) 坂崎・波岡：腸内細菌検索法，納谷書店，1956.
- 10) F. Kauffmann：Enterobacteriaceae, Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 1951.