S. abortus equi の凝集反応に関する研究

III. 被凝集性に及ぼす因子についての検討

松 井 光 蘭

農林省家畜衛生試験場東北支場 (支場長 旭興正)

[受付: 12 月 7 日・1960 年]

緒 言

著者は前 2 編で、凝集反応における *S. abortus equi* の被凝集性が、O 抗原 4 および 12 部分抗原にもとずく特異的なものであるにもかかわらず、他の B 群サルモネラの被凝集性よりも高いことは、未知の抗原によるものではなく、菌自身をもつ他の条件によるものと考えられたので、*S. abortus equi*, *S. typhi murium* および *S. schleissheim* の菌体多糖体を抗原として、これらの菌の免疫血清の沈降反応ならびに溶血反応をおこない、これらの反応では 3 種菌とも同じ程度の反応価を示したことから、凝集反応における *S. abortus equi* の高い被凝集性は、菌体のもつ O 抗原以外の因子によるものと考えられると述べた。

そこで、凝集反応における抗原の被凝集性に影響を与える因子としては、被凝集性の高い *S. abortus equi* の側には非特異的凝集が考えられ、*S. abortus equi* よりも被凝集性の低い他の B 群サルモネラの側には凝集抑制作用の存在が考えられ、一方、*S. abortus equi* は一般のサルモネラに比較して、著しくべん毛の少ない菌であることが知られており、このこともまた O 凝集に何らかの影響を与えているのではないかと考えられるので、これらの因子についての検討をおこなった。

1956 年, Alessandro¹⁾ は、ウシのブルセラ病の凝集反応にしばしば認められる非特異的反応は、反応の感作温度を 37°C から 56°C にあげることによって抑制することができると報じ、1957 年には、Roepke ら²⁻³⁻⁴⁾ が同じくウシのブルセラ病の凝集反応において抗原の酸度を高めることによって非特異的反応を除去することができたと報告した。

これらのことから本編では、種々の処理を加えた抗原を使用し、さらに感作温度や抗原の pH をかえて凝集反応をおこない、その被凝集性を比較し、また、その結果

から、H 抗原の O 凝集におよぼす影響についての 2, 3 の実験をおこなった。

実験材料ならびに方法

前 2 編と共通の事項は省略した。

生菌抗原: コール酸塩 0.2% を加えた肉エキスを寒天平板培地の 18~20 時間培養菌を生理食塩液に浮遊せしめ、ホモジナイザーで 5 分間撹拌したのち、2,000 prm 30 分遠心沈澱してその沈渣を使用した。この抗原は使用の都度作製し、H 抗原が含まれていないことを確認しえたもののみを使用した。

無処置抗原: 普通寒天平板 18~20 時間培養菌をかきとり、生理食塩液に浮遊せしめ、何ら処置することなく使用した。

加熱抗原: 普通寒天平板の 18~20 時間培養菌をかきとり、生理食塩液に浮遊せしめた後遠心沈澱し、上清をすて再び食塩液浮遊液とした後、100°C 2 時間あるいは 120°C 2 時間加熱した。

凝集反応の術式: O 凝集反応の術式は前編と同様である。H 凝集反応は、抗原と被検倍数稀釈血清を混和したのち、50°C のゆぶねに 1 時間感作したのち、ただちに判定した。

実験成績

1. 処理方法の異なる抗原を用いての比較

抗原の処理方法によつて、その被凝集性に差があるか否かについて、*S. abortus equi*, *S. typhi murium* および *S. schleissheim* のウサギ免疫血清に対する、*S. abortus equi* ならびにその他の B 群サルモネラのアルコール抗原、生菌抗原、100°C 加熱抗原および 120°C 加熱抗

MATSUI, Koran: Studies on the Agglutination of *Salmonella abortus-equi*. III. Experiments of the factor influencing Agglutinative Activity. Tohoku Branch of National Institute of Animal Health. — Jap. J. of Bact., 16(9)777-780, 1961.

第1図 *S. abortus equi* と他の B 群

Salmonella の被凝集性の比較

(処理方法の異なる抗原を用いて)

血清: No.14, *S. abortus equi*

抗 元	抗 元 の 種 類			
	アルコール	生 菌	100℃-2時	120℃-2時
	1 3 5 7	1 3 5 7	1 3 5 7	1 3 5 7
<i>S. abortus equi</i>	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ
<i>S. 5</i>				
<i>S. 9</i>				
<i>S. 13</i>				
<i>S. 15</i>				
<i>S. 16</i>				
<i>S. 17</i>				
<i>S. 18</i>				
<i>S. 19</i>				
<i>S. 20</i>				
<i>S. 21</i>				
<i>S. 22</i>				
<i>S. 23</i>				
<i>S. 24</i>				
<i>S. 25</i>				
<i>S. 30</i>				
<i>S. 31</i>				

抗体稀釈: 80×2¹¹

第2図 *S. abortus equi* と他の B 群

Salmonella の被凝集性の比較

(処理方法の異なる抗原を用いて)

血清: No.15, *S. typhimurium*

抗 元	抗 元 の 種 類			
	アルコール	生 菌	100℃-2時	120℃-2時
	1 3 5 7	1 3 5 7	1 3 5 7	1 3 5 7
<i>S. abortus equi</i>	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ
<i>S. 5</i>				
<i>S. 9</i>				
<i>S. 13</i>				
<i>S. 15</i>				
<i>S. 16</i>				
<i>S. 17</i>				
<i>S. 18</i>				
<i>S. 19</i>				
<i>S. 20</i>				
<i>S. 21</i>				
<i>S. 22</i>				
<i>S. 23</i>				
<i>S. 24</i>				
<i>S. 25</i>				
<i>S. 30</i>				
<i>S. 31</i>				

抗体稀釈: 80×2¹¹

元の被凝集性を比較した(第1, 2および3図)。その結果, 100℃加熱抗原および 120℃加熱抗原の被凝集性はアルコール抗原のそれとくらべ, いずれもやや上昇することが認められ, また生菌抗原の場合には全般にさらに

第3図 *S. abortus equi* と他の *Salmonella*

の被凝集性の比較

(処理方法の異なる抗原を用いて)

血清: No.16, *S. schleissheim*

抗 元	抗 元 の 種 類			
	アルコール	生 菌	100℃-2時	120℃-2時
	1 3 5 7	1 3 5 7	1 3 5 7	1 3 5 7
<i>S. abortus equi</i>	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ	イ ク ノ イ 大 山 沙 白 ン ゼ コ ン エ ツ
<i>S. 5</i>				
<i>S. 9</i>				
<i>S. 13</i>				
<i>S. 15</i>				
<i>S. 16</i>				
<i>S. 17</i>				
<i>S. 18</i>				
<i>S. 19</i>				
<i>S. 20</i>				
<i>S. 21</i>				
<i>S. 22</i>				
<i>S. 23</i>				
<i>S. 24</i>				
<i>S. 25</i>				
<i>S. 30</i>				
<i>S. 31</i>				

抗体稀釈: 80×2¹¹

高い被凝集性を示し, しかも *S. abortus equi* とその他の B 群サルモネラとの差が少なくなることが認められた。これらのことは, いずれの菌の免疫血清に対しても同様の成績であつた。

2. pH の異なる抗原を用いての比較

S. abortus equi ならびに その他の B 群サルモネラの 100℃加熱抗原を作製し, これを磷酸緩衝液を用いてそれぞれ pH 8.0, 7.0, 6.0 および 5.0 に調整し, これらの被凝集性を先と同様の 3 種菌のウサギ免疫血清について比較したが(第4図), いずれの菌種も pH が低くなるほどその被凝集性は高くなることが認められ, これは *S. abortus equi* のみならず他の B 群サルモネラにも共通しており, *S. abortus equi* は, 同一 pH の他の B 群サルモネラよりも, やはり高い被凝集性を示した。

3. 感作温度56℃における被凝集性

これまでの実験は, 凝集反応の感作温度を50℃にしておこなつたものであるが, これを56℃に高めることによる影響を検討した。菌種は *S. abortus equi*, *S. typhimurium* および *S. schleissheim* を用い, それぞれ前記の処理方法の異なる4つの抗原を作製し, 3 種菌のウサギ免疫血清に対する被凝集性を, 50℃2時間と56℃2時間の感作による凝集反応で比較した(第5図)。その結果, 感作温度を56℃にあげることによつて, それぞれの被凝集性が一様にやや高くなる傾向がみられ, 従つて

第4図 pH の異なる抗原の被凝集性の比較

血清: No.27, *S. typhimurium* 100°C—

2時間加熱死菌接種免血清

反応元: 100°C—2時間加熱抗原

抗体稀釈: 80×2ⁿ

第5図 感作温度 50°C, 56°C の場合の被凝集性

反応元: アルコール処理抗原

抗体稀釈: 80×2ⁿ, *S. abortus equi*
S. typhimurium
S. schleissheim

S. abortus equi はやはり他の2者よりも高い被凝集性を示すことに変わりがなかった。

4. H抗原が被凝集性におよぼす影響

S. abortus equi (2株), *S. typhi murium* およびのそれぞれOH型菌およびO型菌の無処置抗原, および100°C加熱菌を用い, それらの菌種の免疫血清に対するO凝集価を比較したところ (第1表), いずれの菌もOH

第1表 OH型菌とO型菌の被凝集性の比較

型	抗 元	<i>S. abortus equi</i> 秀麗	<i>S. abortus equi</i> 浦幌	<i>S. typhi murium</i>	<i>S. typhi</i>
OH	無処置抗原	640	640	1,280	640
	100°C 2時間加熱抗原	1,280	1,280	2,560	2,560
O	無処置抗原	2,560	2,560	2,560	1,280
	100°C 2時間加熱抗原	2,560	2,560	2,560	2,560

型菌はO型菌よりも低い凝集価を示した。ついて半流動培地を数回通過させてH抗原を豊富にした *S. abortus equi* のブイヨン培養菌に0.3%の割合にホルマリンを加えて, 保存日数の経過を追いO凝集価にいかなる影響を与えるかを, これらのアルコール抗原と比較したところ (第2表), 抗原の作製直後にすでにアルコール抗原よりも, ホルマリン加抗原の方が低い凝集価を示し, それは日を追ってさらに低下し, 1ヵ月後にはまったくO凝集は認められなくなったが, アルコール抗原は, 9ヵ月後になってもまだ作製直後と同じ凝集価を示した。

第2表 抗原の保存による被凝集性の変化

抗 元	保存期間	O凝集価	H凝集価
ブイヨン 0.3 % ホルマリン	直 後	320	12,800
	2 時 間	160	12,800
	10 日	80	12,800
	1 カ 月	0	12,800
	2 カ 月	0	12,800
	4 カ 月	0	6,400
アルコール 抗 元	6 カ 月	0	12,800
	直 後	1,280	0
	2 時 間	1,280	
	10 日	1,280	
	1 カ 月	1,280	
	2 カ 月	1,280	
	4 カ 月	1,280	
	6 カ 月	1,280	
	9 カ 月	1,280	

考 察

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のは、菌自身もつ O 抗原以外の因子によるものであると考えられたので、それらの被凝集性におよぼすと思われる種々の因子についての検討をおこなった。

同じ O 抗原であつてもその抗原の処理方法によつてそれぞれ異なつた意味をもっており、アルコール抗原はもつとも安定した抗原であるが H 被凝集性を欠くのみで H 凝集素産生性は失なつていない⁹⁾。生菌抗原はべん毛の発育の少ないコール酸塩を加えた培地に培養した菌をさらに振盪と遠心分離によつてべん毛を除去したもので、一応無処置の O 抗原ということが出来る。加熱抗原は 100°C~120 °C に 2 時間の加熱によつて H 抗原、K 抗原などが破壊された抗原である。これらの抗原を用いて *S. abortus equi* とその他の B 群サルモネラ との被凝集性の比較をおこなつた成績は、アルコール抗原にくらべて生菌抗原および加熱抗原ではあきらかな差がみられたが、いずれも被凝集性の上昇を示したことから、*S. abortus equi* の高い被凝集性は O 抗原以外の反応元的因子すなわち H 抗原、K 抗原などの反応が重複したためではないものと考えられる。

pH の異なる抗原を用いての比較では、抗原の酸度を高めることによつて、ウシのブルセラ病の血清凝集反応でしばしばみられる非特異的反応を抑制することができるといふ Roepke ら^{2,4)}の報告に反して、*S. abortus equi* やその他の B 群サルモネラ では、pH の低くなるに従つてやや被凝集性が高くなることが認められたことから、これらの菌には、酸度を高めることによつて抑制されるような非特異的反応はなく、*S. abortus equi* とその他の B 群サルモネラ との被凝集性の差に関係はないものと考えられる。同様の意味で、凝集反応の感作温度を 50°C から 56°C にあげることによつても *S. abortus equi* とその他のサルモネラ との被凝集性の差に影響がなかつたことは、やはりウシのブルセラ病の凝集反応において Alessandro¹⁾が報告した非特異的反応は、関係ないものと考えられる。

生菌抗原を使用した場合、*S. abortus equi* と他の B 群サルモネラ との被凝集性の差が少なくなつたことは、*S. abortus equi* がその他の B 群サルモネラにくらべて H 抗原の少ない菌であることと考えあわせて、これらの差が H 抗原の存在に原因しているのではないかと考えられたので、2、3 の補足実験をおこなつた。すなわち、*S. abortus equi*、*S. typhi murium* および *S. typhosa* のそれぞれ O 型菌と OH 型菌の、これらの菌種の免疫血

清に対する被凝集性をしらべたところ、OH 型菌は O 型菌にくらべて低い凝集価を示したことから、H 抗原の存在が O 凝集を抑制するものと想像された。そこで、さらにブイヨン培養菌にホルマリンを加えた、いわゆる OH 抗原の被凝集性を経日的に観察したところ、日時の経過とともにその O 凝集価は低下し、1 カ月後にはまったく認めなくなつたことは、H 抗原がホルマリンによつて菌体周囲に固着し、いわゆる K 抗元的に働くためであると考えられた。

以上の成績を総括すると、*S. abortus equi* の他の B 群サルモネラ よりも高い被凝集性は、その一部は本菌の O 抗原組成 4, 12₁, 12₂ に関連するものであろうが、さらに本菌が、他のサルモネラ よりもべん毛にとぼしく、H 抗原の O 凝集反応抑制をうけにくいことも大きな因子であると思われる。なお、H 抗原が O 凝集を抑制することについては、現在までまったく報告されていないが、その事実があることは本研究の成績からあきらかである。

結 論

1. *S. abortus equi* と他の B 群サルモネラ との被凝集性の差は、O 抗原以外の抗原的因子の反応が重複したためではない。

2. これらの差は、抗原の pH や、反応の感作温度をかえることによつて除去される非特異的反応には関係がなかつた。

3. *S. abortus equi* と他の B 群サルモネラ との被凝集性の差は、H 抗原の O 凝集抑制作用によるもので、H 抗原が他の B 群サルモネラ よりも少ない *S. abortus equi* は、他の B 群サルモネラ よりもその O 凝集抑制作用を受けることが少ないため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、指導と校閲を賜つ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) Alessandro, A.: Zooprofilassi, 1956
- 2) Roepke, M. H., White, T. G., Stiles, F. C., Jr. and Driver, F. C.: Proc. 60th Ann. Meet. U. S. live Stk. sanit. Ass., Chicago, 109, 1956
- 3) Rose, J. E. and Roepke, M. H.: Amer. J. Vet. Res. 18, 550, 1957
- 4) Stiles, F. C., White, T. G. and Roepke, M. H.: World Helth. Org. Exp. Adv. Panel on Brucellosis, No. WHO/Bruc./116, 7
- 5) F. Kauffman: Enterobacteriaceae, Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 61, 1951

正誤表 16 卷 6 号 516 頁左段 2 行目

正: わが国のウマの

誤: わが国のマウスの