明礬による細菌の凝集反應について

(第 2 報)

李 原 実

北里研究所(指導 平野憲正博士)

〔受付: 11 月 22 日, 1950 年〕

余は第1報に於て, コレラ菌, 腸チフス菌, パラチフスA及びB菌並に赤痢菌等の加里明礬, クローム明礬, 鉄明礬及びアムモニウム明礬等による凝集状態, 殊にV型腸チフス菌は生菌の場合には, 各種明礬によつて強く凝集されたけれども, 加熱によつてその凝集が著しく低下することを述べた。本報に於ては菌を物理化学的に処理することによる明礬凝集反應, 腸チフス菌の抗原構造と明礬凝集反應及び等電点の關係等に就て述べようと思う。

〔I〕 菌を加熱する温度と明礬凝集反應

細菌を加熱する温度の差異により 被凝性が或は増強し, 或は抑制されることに就て, 免疫反應の場合には Joos u. Nicolle 等の報告があり, 塩類凝集反應に於ては宮村の実験がある。前報によると 菌を100°Cで30分加熱すると, 明礬凝集反應に多くの場合著明な影響が見られる。

実 験 〔III〕

本実験に於て余はコレラ菌, パラチフスA及びB菌, 腸チフス菌 H 901 及び赤痢菌(本型, 異型)の各菌液を50°, 60°, 70°及び100°Cに各1時間加熱した後, 各菌液に明礬液を加え, 凝集の模様を検した。その成績は表4に示すようにコレラ菌に於ては50°C—70°C若しくは90°Cに加熱することに依り被凝性減少し, 100°C加熱によつて生菌或は生菌以上の被凝性を獲得する。チフス菌に於ては70°Cの加熱により加里及びクローム明礬による被凝性著しく減少し, アンモニウム明礬に於ては60°C加熱に依り最も減少し, 100°C加熱に依り何れも大体生菌と同程度に凝集された。パラチフスA及びB菌並に赤痢菌(本型, 異型)の加里明礬及びクローム明礬による凝集は60°C若しくは70°C1時間加熱によつて著しく低下し, 100°C加熱によつて生菌と同等若しくはそれ以上の凝集を示したが, アンモニウム明礬による凝集は加熱によつて著しい影響を受けなかつた。

実 験 〔IV〕

21株の腸チフス菌を選び, これ等を生理食塩水に浮遊せしめて前同様60°C, 70°C及び100°Cに1時間加

熱した後, 明礬を加えて凝集状態を観察した。本実験に用いた腸チフス菌は, 次のような抗原構造をもつていた。

第1群 松本, 酒井, 平田, 田嶋, 本多, 山田, J.F, 立川, 腰巻, J.C, 牧野, 豊田の諸株は Vi, H 及びO抗原を完全に有し, 安西, 諸星及び横山は Vi, H及びO抗原の痕跡をもつていた。

第2群 Jy 2(Var)は Vi とO抗原を, Watson(Var)は Vi とO抗原と痕跡のH抗原を有つて居た。

第3群 H 901 及び高崎両株ともHとO抗原とからなつていた。

第4群 O 901 はO抗原のみ, J.G. はO抗原と痕跡のH抗原をもつていた。

明礬としては加里明礬を用いた。他の明礬を用いても凝集の程度に多少の差があるのみであるので省略した。成績は表に示すように, 生菌の場合には Vi, H 及びO抗原を有し, 或は僅かにO抗原の存在する第1群は第1試験管から第10試験管まで強く凝集され, Vi 抗原とO抗原を有し, H抗原がないか或は殆んどない第2群は凝集されない, H及びO抗原を有して Vi 抗原のない第3群は大体第4試験管から第11試験管まで凝集され, O抗原を有して Vi 抗原なく, H抗原はないか或は殆んどない第4群は第5試験管より第10試験管まで中等度の凝集を示した。しかるに第1群を加熱すると, 漸次被凝集度を減じ, 100°C加熱するに僅に凝集されるのみとなる。第2群は加熱によつて被凝性を得, 70°C加熱によつて被凝性最も著しく, 第1試験管から第10試験管まで凝集された。第3群は加熱によつて漸次被凝性を減じ, 70°C加熱によつて第8, 第9の試験管が中等度の凝集を示すのみとなつた。第4群は加熱によつて凝集著明となり, 60°C 及び70°C 加熱に於ては第1—10試験管まで凝集された。

これによつて見ると, O抗原のみ或はO抗原に Vi 抗

MOKUHARA, Minoru: Studies on agglutination of bacteria by alum. 2nd Report., Jap. J. Bact., 6 (2), 95—98, 1951.

表 4 菌を加熱する温度と明礬凝集反應

		加里明礬		クローム明礬		アムモニウム明礬	
		凝集域	凝集状態	凝集域	凝集状態	凝集域	凝集状態
コレラ菌原型	生 菌	4—11	***—**	4—11	十一***	3—11	十一***
	50°C	4—10	**—***—+	5—9	十一***	3—10	**—***—**
	60°C	4—9	***—***	5—10	十一***—士	3—10	十一***
	70°C	4—9	***—***	5—9	十一***	3—11	**—***
	90°C	3—9	**—***	5—9	**—***	3—11	**—***
	100°C	2—12	十一***—士	2—11	**—***	2—11	十一十一***
腸チフス菌 H901	生 菌	3—11	士—***	6—11	十一**	4—10	***—***
	50°C	5—11	十一***—**	7—9	**—***	5—8	十一***—十一
	60°C	5—10	十一***—**	7—9	**—***	6—8	十一十一—十一
	70°C	8—9	十一—士	8—10	十一—士	5—9	**—**
	90°C	6—9	*十一***—***	7—10	十一***—**	5—10	**—***—**
	100°C	4—11	**—***—*	6—10	**—***	5—10	**—***
バラチフスA菌	生 菌	8—10	十一—十一	9—10	***—**	7—10	**—***
	50°C	6—11	十一—十一—士	8—9	十一***—+	6—10	十一***—十一
	60°C	8—9	士—**	8—9	十一***	6—9	**—***—**—+
	70°C	7—10	十一***—***	8—9	十一***	7—10	***—**
	90°C	7—10	十一***—***	8—9	十一**	6—10	**—***—**
	100°C	7—11	十一***—***	8—10	**—***	6—10	**—***—**
赤痢異型菌	生 菌	7—10	***—***	8—10	***—***	6—10	**—***
	50°C	8—10	十一***—十一	8—10	十一***—*	6—9	**—***
	60°C	9—10	十一**	8—10	*—***—士	5—10	**—***—**
	70°C	6—9	十一***	7—10	***—*	6—10	**—***
	90°C	7—9	十一***	7—10	*—***—*	6—10	**—***—**
	100°C	7—10	**—***—**	7—10	**—***	6—11	**—***—**
赤痢本型菌	生 菌	7—10	***—***	9—10	**—***	7—11	*—***—*
	50°C	7—10	*—***—十一	9—10	**—***	7—10	十一***—*
	60°C	8—10	十一**	9	**	7—11	十一十一—+
	70°C	8—10	**—***—**	8—10	*—***—+	7—11	**—***
	90°C	6—10	十一***—**	8—10	*—***—+	7—11	十一***—*
	100°C	7—11	十一***—*	8—10	*—***—+	7—11	十一***—+

原をもっているものは加熱によつて被凝性増強し、H抗原をもっているものは減少するように思われる。

(II) 各群腸チフス菌の等電点に就て

上記の実験に於て第1試験管から第12試験管に於ける pH は、アムモニウム明礬に於ては3.6—7.2加里明礬においても3.6—7.2、クローム明礬に於ては3.2—7.0であつて菌の凝集されるのは概して酸性側である。よつて余は明礬凝集反應と等電点との関係を知ろうと思つて次の実験を行つた。

實 驗 [V]

プフファーとして乳酸乳酸塩を用い、pH 4.9—1.4までの12試験管列を作り、各試験管にプフファー0.5 cc 蒸溜水1 cc に2 mg の菌を含有せしめた菌液0.5 cc を加え、37°C に2時間おき、24時間室温に静置した後成績を読んだ。菌液としては、生菌、60°C、70°C 及び100°C 1時間加熱菌を用いた。

その成績は表6に示すように、主として Vi, H 及び O 抗原をもっている第1群の生菌は pH 4.6—3.6 と pH 2.9—1.7 に於て凝集し、60°C 加熱菌では2ヵ所に於ける凝集は何れも減弱し、70°C 及び100°C 加熱菌に於て

表5 各群腸チフス菌の明礬凝集反應に於ける加熱の量 について

	pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		3.6	3.8	4.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.4	4.8	7.0	7.0	7
生菌	第1群	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***	—	—
	第2群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	第3群	—	—	±	*	***	***	***	***	***	*	+	—
	第4群	—	—	—	—	*	**	**	**	*	*	—	—
60°C 加熱菌	第1群	—	—	—	—	—	—	*	**	**	—	—	—
	第2群	—	—	—	—	—	—	**	***	***	*	—	—
	第3群	—	—	—	—	—	—	**	***	***	*	—	—
	第4群	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	—	—
70°C 加熱菌	第1群	—	—	—	—	—	—	++	++	++	—	—	—
	第2群	+	+	++	***	***	***	***	**	**	**	—	—
	第3群	—	—	—	—	—	—	+	++	±	—	—	—
	第4群	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	—	—
100°C 加熱菌	第1群	—	—	—	—	—	—	—	*	**	—	—	—
	第2群	—	—	**	***	***	***	***	***	***	***	—	—
	第3群	—	—	++	***+	***+	***+	***+	+	+	—	—	—
	第4群	**	***	***	***	***	***	***	***	***	—	—	—

は pH 4.2 附近の凝集は消失し, pH 2.3 附近のそれは 70°C 加熱菌では著しく減弱し, 100°C 加熱によつて再び強く現われる。Vi と O 抗原を有する第2群も, 大体第1群と同様であつて生菌では pH 4.6 と 2.3 附近に於て凝集し, 60—70°C 加熱によつて凝集減弱し, 100°C 加熱によつて pH 2.3 附近の凝集が増強する。W 型菌であつて O と H 抗原を有する第3群は生菌では pH 4.2 附近で凝集し, 60°C 加熱菌では凝集域が pH 2.6—2.3 附近に移動し, 100°C 加熱菌では pH 3.3—2.0 に亘つて軽度の凝集を示した。主として O 抗原のみのものは凝集しない。

以上の成績を明礬による腸チフス菌の凝集状態と比較してみると著しい相違点としては, O 抗原のみの第4群が乳酸乳酸塩によつては全然凝集されないにも拘らず, 明礬によつては生菌の場合には第5—10 試験管域 (pH 4.0, 7.0) に於て強く凝集され, 又 Vi 抗原に O 抗原を有し, H 抗原はないか或は極めて僅かに存在する第2群は生菌の場合には乳酸乳酸塩によつて pH 2.6—2.0 附近に於て凝集され, 100°C 加熱菌に於ても同一 pH の附近に於て凝集されるにも拘らず, 明礬によつては生菌の場合は凝集されず, 100°C 加熱菌では第3—9 試験管域 (pH 3.6—4.8) に於て強く凝集されることである。

以上の成績より未だ決定的な意義とつかむことは困難

であるが, O 抗原は何か塩類凝集反應に影響を及ぼすようにみえる。

(III) メヂウムに化学物質を加えた場合の被凝性の变化について

宮村は硫酸銅, 醋酸鉛の溶液に石炭酸を加えて, チフス菌に対する凝集反應を検し, その凝集状態は硫酸銅及び醋酸鉛溶液そのものゝ場合とは異なることを認め, チフス菌の如く鞭毛のある細菌に於ては, 石炭酸を加える量の増すに従つて顆粒状凝集となると述べている。余は明礬凝集反應に於ける二, 三化学物質の影響を観察した。

実験 [VI]

菌液に石炭酸或はホルマリンを 0.5%, 1% 及び 2% の割合に加えて 37°C に 1 夜放置し, これに明礬を加えて凝集状態を観察した。菌としてはコレラ菌 (原型), 腸チフス菌 (H 901), パラチフス A 菌, 赤痢菌 (本型, 異型) を用いた。

石炭酸で処置した菌液に加里明礬を加えた場合には, コレラ菌の凝集には変化なく, 腸チフス菌 (H 901) に於ては凝集が幾分減弱し, パラチフス A 菌, 赤痢異型菌及び本型菌においては多少増強した。クローム明礬の場合も大体同様であつたが, 赤痢本型菌の凝集は全然抑制された。

ホルマリンを以て処置した菌液に明礬を加えた場合に

表6 各群腸チフス菌の等電点について

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		4.9	4.6	4.2	3.9	3.6	3.3	2.9	2.6	2.3	1	1.7	1.4
	m/40 Na-lact	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	m/100 lactic acid	0.49	0.98	1.95	3.9	7.8	—	—	—	—	—	—	—
	m/10 lactic acid	—	—	—	—	—	1.56	3.12	6.23	—	—	—	—
	m/1 lactic acid	—	—	—	—	—	—	—	—	1.25	2.5	5.0	10.0
生菌	第1群	—	++	++	++	++	±	+	++	++	++	+	—
	第2群	—	+	—	—	—	—	±	+	++	+	±	—
	第3群	—	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
	第4群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60°C 加熱菌	第1群	—	++	++	—	—	—	+	+	++	++	—	—
	第2群	—	—	—	—	—	—	±	++	++	±	—	—
	第3群	—	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	第4群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
70°C 加熱菌	第1群	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—
	第2群	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—
	第3群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	第4群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
100°C 加熱菌	第1群	—	—	—	—	—	—	+	++	++	++	++	—
	第2群	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	—	—
	第3群	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
	第4群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

はコレラ菌及び腸チフス菌の凝集には余り影響はなかつたが、赤痢本型菌の場合には幾分増強し、パラチフスA菌及び赤痢異型菌の場合には著しく低下し、何れも60°C加熱菌と大体同程度の凝集状態であつた。これによつて観ると、ホルマリン処置によつて菌体物質に変化を来とし、それによる凝集状態の変化と考えられる。

結 論

1. コレラ菌、パラチフスA及びB菌、腸チフス菌(H 901)及び赤痢菌(本型、異型)の菌液を50—70°C若しくは90°Cに加熱すると、明礬による被凝性減少し、100°Cに加熱すると生菌或はそれ以上の被凝性を獲得する。

2. 腸チフス菌中O抗原のみ或はO抗原とVi抗原をもっているものは、加熱により被凝性増強し、H抗原をもっているものは減少するようである。

3. 明礬凝集反應に用いた明礬溶液のpHは、アムモニウム明礬、加里明礬では3.6—7.2、クローム明礬では3.2—7.0であつて、凝集の起るのは概して酸性域である。

腸チフス菌の明礬凝集反應と等電点とを比較してみると、O抗原のみの第1群が乳酸乳酸塩によつては全然凝

集されないけれども、明礬によつては生菌も加熱菌も凝集される。またVi抗原とO抗原とを有し、H抗原はないか或は極めて僅かに存在する第2群は、生菌も加熱菌もともに乳酸乳酸塩によつて凝集されるけれども、明礬によつては生菌は凝集されないけれども、加熱菌は凝集される。

4. 石炭酸で処置した菌液に加里明礬を加えると、コレラ菌の凝集は変化は認められないが、その他の菌に於ては多少増強し或は減弱する。

菌液をホルマリンで処置した場合には、コレラ菌と腸チフス菌には余り影響はないが、パラチフスA菌と赤痢異型菌とは凝集著しく低下し、60°C加熱菌と大体同程度であつた。

拙筆に臨み終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師平野憲正博士に衷心より感謝致します。

文 献

- 1) Nicolle, Ch.: Ann. Inst Pasteu. 1897, 11, 583.
- 2) Joos, A.: Zschr. f. Hyg. 901, 36, 422.
- 3) Joos, A.: Zschr. f. Hyg. 1902, 40, 203.
- 4) 宮村定男: 北越医学雑誌, 54, 1422, 昭14.
- 5) 同 同 56, 182, 昭16.