

大腸菌・腸チフス菌の混合培養に於ける生物学的観察

第一編

大腸菌・チフス菌の拮抗及び非特異凝集性に就いて

岡山大学医学部細菌学教室（指導：村上栄教授）

専攻生 小浦 堅一郎

（昭和32年1月9日受稿）

（本論文の要旨は第八回日本細菌学会中国・四）
国支部総会（昭和30年11月）に発表した。）

第一章 緒 論

1885年 Babes¹⁾ が細菌の拮抗現象に注目してより多数の学者^{2)・15)}により細菌間の拮抗現象が研究された。腸チフス患者の糞便中に於て大腸菌がチフス菌に拮抗しそのためチフス菌が糞便中より早期に消失するという事は1916年 Nissle¹⁶⁾ によつて実験され我が国でも朴¹⁷⁾等の実験がある。更に大橋¹⁸⁾はパイオン中にチフス菌と *Bac. coli communis*, *Bac. coli communior*, *Bac. lactis aerogenes* を培養しその拮抗性について観察し、添加する葡萄糖の濃度により拮抗性に変化がある事を発表している。又早川¹⁹⁾は赤痢、チフス菌に拮抗する大腸菌は標準大腸菌の40%に存在し0.1% Desoxychol 酸添加で消失する事を発表している。然しながら此等の研究に於てもその拮抗性の原因については未だ見る可き成果をあげていない。一方チフス患者の糞便中の大腸菌がチフス免疫血清に類凝集する事は Kuhn²⁰⁾の命名以来種々観察されている事である²¹⁾²⁴⁾。私は之等の事実を試験管内混合培養によつて出現せしめ、その原因を追究した。即ちパイオンを用いて大腸菌とチフス菌とを混合培養しそれによつて起る種々の変化を観察した。

第二章 健康者糞便より分離した

大腸菌とチフス菌の拮抗

実験に供する大腸菌は一般健康者より分離

した。健康者の糞便を Drigalski 培地に塗抹培養し大腸菌属4種を分離した。夫々大腸菌 A, B, C, D と名付けた。その生物学的性質は（表1）に示す通りである。即ち大腸

表 1

	葡 萄 糖	乳 糖	蔗 糖	ズ ル チ ット	ザ リ チ ン	ア ド ニ ット	澱 粉	V P	M R	イ ン ド ール	ゲ ラ チ ン	グ ラ ム	運 動 性
大腸菌 A (Communior)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
大腸菌 B (Communior)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
大腸菌 C (Communis)	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
大腸菌 D lact aerogenes	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-

菌 A は葡萄糖、乳糖、蔗糖、ズルチットを分解し、運動性を有し、ザリチン、アドニット澱粉は分解せず Vogesproskauer 反応、Methylrot 反応は陰性である。之により、大腸菌 A は Coli type の *Bac. coli communior* の一変異種と思われる（*Bac. coli communior* はザリチンを分解し M. R. 反応は陽性である）。

又大腸菌 B は同じく葡萄糖、乳糖、蔗糖、ズルチット、ザリチンを分解し、インドール反応陽性、運動性陽性でアドニット、澱粉を分解せず、V. P. 反応、M. R. 反応陰性で同じく *Coli communior* の一種と考えられる。大腸菌 C は葡萄糖、乳糖、ズルチット、ザリチ

ンを分解し、蔗糖、アドニット、澱粉は非分解で、M. R. 反応、インドール反応、運動性陽性で、V. P. 反応陰性である。故に Coli type 中の Bac. coli communis と判定される。大腸菌 D は葡萄糖、乳糖、蔗糖、ザリチン、アドニット、澱粉を分解し、ズルチット非分解で V. P., M. R., インドール反応陰性で運動性なく明に aerogenes typs であり、Bac. lactis aerogenes と判定される。

以上 4 つの大腸菌属の菌を用いて、教室保存の腸チフス菌 57 S, 中川 S と混合培養を試みた。

(I) 接種菌量と拮抗作用との関係

両者の拮抗作用には接種菌量による影響が考えられるので接種菌量を種々に変えて拮抗

状態を調べて見た。

実 験 方 法

次の三つの場合について行つた。何れも培地は Bouillon 10 cc を用いた。

① 大腸菌, チフス菌共に 1 mg/cc の蒸溜水浮游液を作り, 0.1cc ずつ混合培養する。

② 大腸菌, チフス菌共に 0.1 mg/cc 菌液を 0.1 cc ずつ混合培養する。

③ チフス菌 1 mg/cc, 大腸菌 0.1 mg/cc 共に 0.1 cc ずつ培養する。

以上の三通りについて 24 時間培養した後 Drigalski 平板培地に分離培養を行つた。

(表 2) は 3 回行つた平均を示す。

表 2 (3 回行つた平均を示す)

チフス菌	大腸菌				①				②				③			
	CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD
57 S	0/10	0/10	5/5	3/7	0/10	1/9	1/9	3/7	0/10	2/8	5/5	4/6				
中川 S	0/10	0/10	3/7	3/7	0/10	0/10	1/9	3/7	0/10	5/5	3/7	4/6				

① の方法では Coli A, Coli B と組合せた腸チフス菌は何れも全く消失していた。Coli C, Coli D では 57 S, 中川 S 共に Coli に比し少数ではあるが存在している。

② の場合も Coli A では 57 S, 中川 S 共に集落を見ない。Coli B では中川 S は殆んど生えず 57 S では 1/10 程度に見られた。Coli C でも中川 S, 57 S 共に少数存在した。Coli D では ① の時と同様程度である。

③ の場合矢張り Coli A と組合せたチフ

ス菌は全部陰性であつた。然し Coli B, Coli C, Coli D では他の二法に較べて稍々チフス菌の比率が多くなつている。然し接種量の増加とは正比例していない。

更に Coli A に対して 100 倍量のチフス菌を接種したが、24 時間後チフス菌を認めなかつた。更に ① ② ③ の接種菌量で 5 日間 Bouillon 中に培養して、Drigalski 培地に分離して両者の比を調べた (表 3)。24 時間培養に於ける成績と略々同じ結果を示し、Coli A

表 3

チフス菌	大腸菌				①				②				③			
	CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD
57 S	0/10	0/10	1/9	2/8	0/10	0/10	2/8	2/8	0/10	5/5	2/8	3/7				
中川 S	0/10	0/10	0/10	1/9	0/10	0/10	0/10	1/9	0/10	3/7	1/9	3/7				

では全然チフス菌を認めず、Coli B, C, D ではチフス菌の接種菌量の多い ③ の場合に比較的多くのチフス菌を認めた。更に同様な方法にて 1 ヶ月間 37°C に Bouillon を放

置した場合の結果は (表 4) に示す通りである。Coli type の三菌と混合したチフス菌は総て死滅し、lact. aerogenes と混合培養したチフス菌のみ略々同数存在していた。

表 4

チフス菌	大腸菌				CA	CB	CC	CD	CA	CB	CC	CD
	CA	CB	CC	CD								
57S	0/10	0/10	0/10	6/4	0/10	0/10	0/10	5/5	0/10	0/10	0/10	5/5
中川S	0/10	0/10	0/10	5/5	0/10	0/10	0/10	5/5	0/10	0/10	0/10	5/5

㉑

㉒

㉓

以上の事から大腸菌属とチフス菌との拮抗関係は菌種により相当の相違があり、又同じ Communion と見られる Coli A と Coli B とに於て非常な差のある事が見られた。

(II) 継代混合培養に於ける拮抗性の変化次にチフス菌と大腸菌の混合培養の継代を行う事によつて起る拮抗性の変化を実験した。

術 式

10 cc のブイオンにチフス菌 0.1 mg, 大腸菌は 0.01 mg 加え24時間培養, ドリガルスキー培地に分離し, 更にそれより上記と同比量ずつ菌をブイオンに接種し, 同様に培養, 之を繰返し継代を行った。継代混合培養に於ける両者の拮抗関係をコロニーの比で示すと第5表より第12表の如くなる。

即ち57S と Coli A, 中川S と Coli A では全くチフス菌を認める事が出来ないで、チフス菌はその都度新に加えて10代混合培養したが完全にチフス菌は圧倒されて発見する事が出来なかつた。Coli B と 57S の混合では表7の如く最初は 5 : 5 で略々同数に繁殖している。2代, 3代は C : T = 6 : 4, 4代,

表 5

Coli A + 57S	C : T
1 代	10 : 0
2 代	10 : 0
3 代	10 : 0
4 代	10 : 0
5 代	10 : 0
6 代	10 : 0
7 代	10 : 0
8 代	10 : 0
9 代	10 : 0
10 代	10 : 0

何れも3回の平均を示す。

表 6

Coli A + 中川S	C : T
1 代	10 : 0
2 代	10 : 0
3 代	10 : 0
4 代	10 : 0
5 代	10 : 0
6 代	10 : 0
7 代	10 : 0
8 代	10 : 0
9 代	10 : 0
10 代	10 : 0

表 8

Coli B + 中川S	C : T
1 代	7 : 3
2 代	9 : 1
3 代	7 : 3
4 代	5 : 5
5 代	6 : 4
6 代	5 : 5
7 代	6 : 4
8 代	7 : 3
9 代	7 : 3
10 代	6 : 4

表 7

Coli B + 57S	C : T
1 代	5 : 5
2 代	6 : 4
3 代	6 : 4
4 代	7 : 3
5 代	7 : 3
6 代	5 : 5
7 代	6 : 4
8 代	9 : 1
9 代	7 : 3
10 代	6 : 4

表 9

Coli C + 57 S		C : T
1	代	5 : 5
2	代	5 : 5
3	代	5 : 5
4	代	6 : 4
5	代	6 : 4
6	代	5 : 5
7	代	6 : 4
8	代	7 : 3
9	代	8 : 2
10	代	9 : 1

表 10

Coli C + 中川 S		C : T
1	代	5 : 5
2	代	7 : 3
3	代	5 : 5
4	代	7 : 3
5	代	6 : 4
6	代	6 : 4
7	代	7 : 3
8	代	6 : 4
9	代	6 : 4
10	代	7 : 3

表 11

Coli D + 57 S		C : T
1	代	3 : 7
2	代	5 : 5
3	代	3 : 7
4	代	5 : 5
5	代	2 : 8
6	代	3 : 7
7	代	4 : 6
8	代	4 : 6
9	代	4 : 6
10	代	4 : 6

表 12

Coli D + 中川 S		C : T
1	代	5 : 5
2	代	6 : 4
3	代	6 : 4
4	代	6 : 4
5	代	5 : 5
6	代	5 : 5
7	代	4 : 6
8	代	5 : 5
9	代	5 : 5
10	代	5 : 5

5代では7:3で時々Coliの対チフス菌抑制作用が充進して来た様であるが、6代目で再び5:5となり9代、10代では7:3、6:4で時々大腸菌が優勢である。然し全体として両菌間の拮抗作用は継代によつて著明な変化を見ていない。

Coli Bと中川Sとの混合培養に於ても略々同様な事がいえる。初代7:3で時々大腸菌が優性であり4代目5:5、5代目6:4、6代目5:5で一代目に比し時々チフス菌の繁殖が良くなつている様であるが8代、9代と元に戻つて7:3となつている。即ち殆ど有意の差を示していない。

Coli Cと57Sでは1代目より6代目迄略々同様にチフス菌と大腸菌と同数ずつであるが7代目6:4、8代目7:3、9代目8:2、10代目9:1と大腸菌の方が優性を示して来ている。

同じくColi Cと中川Sとの混合培養に於ては、1代目は同様に5:5で同数に生え、2代目7:3、3代目5:5、4代目5:5、5代目、6代目6:4、7代目7:3、8代、9代6:4、10代目7:3となつており、大きな変化は認め難いが代を重ねるにつれて、幾分大腸菌が優性な様に思える。

aerogenes typeのColi Dでは他の大腸菌に比しチフスに対する拮抗性は弱く、各代を通じてチフス菌よりも弱く繁殖していた。

即ち57SとColi Dでは1代目C:T=3:7、7代目4:6、8代目4:6、9代目4:6、10代目4:6で全代を通じて大腸菌の方が劣性である。然し代を重ねる事による変化は著明でない。中川Sと混培したColi Dについても略々同様な事がいえる。1代目5:5、2代目6:4、3代目6:4、4代目6:4、5代目、6代目5:5、7代目4:6、8代目、9代目、10代目5:5で最初から終迄殆どチフス菌と大腸菌の数は同数であつた。

以上大腸菌属4種とチフス菌、57S、中川Sとの混合培養では大腸菌のチフス菌に対する拮抗性は大腸菌属4種間の差異は相当著明であるが、同一大腸菌では代を重ねてもその

拮抗性は殆ど不変である。唯 communis に於て稍々代を重ねるにつれて拮抗性が高まる傾向を示した。又チフス57Sと中川S両者間の差異は殆ど認められない。

第三章 大腸菌のチフス菌との混合培養に於けるチフス血清に対する凝集原性の変化

第二章に於てチフス菌と大腸菌の拮抗関係を見たが、次に同様に混合培養した大腸菌について、血清学的に変化を追究した。

(I) 1ヶ月連続混合培養せる大腸菌の血清学的変化

先に第二章にて行つた1ヶ月間混合培養した大腸菌をドリガルスキー培地に分離しそのコロニーについて、腸チフス菌免疫血清にて試験凝集を試みた。用いた血清はH血清、O血清、Vi血清を夫々25倍として用いた。その結果中川S、57Sと混合培養した Bac. coli communior (Coli B) 及び57Sと混合培養した Bac. coli communis (Coli C) の中よりO血清に凝集する集落少数を発見した。然しH血清、Vi血清に凝集した集落はなかつた。又O血清に凝集陽性となつた集落について、更に之を寒天斜面に純培養し、試験管内で定量凝集試験を行つたが総て陰性であつた(O血清 20X~640X 倍数稀釈)。25倍のO血清

に試験凝集せる大腸菌が唯1代の純培養によつて20倍のO血清にも凝集しなかつた事は、この1ヶ月間の混合培養によつて得られた大腸菌の類凝集性は極めて不安定のものである事が推定される。

(II) 継代混合培養に於ける大腸菌の血清学的変化

57S + Coli B (Bac. coli communior)

第二章に於けると同様な手技にて、混合培養の継代を行い、そのドリガルスキー培地上の大腸菌集落10ヶについてチフス免疫血清、O血清、H血清、Vi血清を用い試験凝集を行い凝集性の獲得如何を検べた。表には3回行つた中の最もよく凝集せる例を示した(表13)。血清は20X、40X、80Xに稀釈して用いた。3代目迄は全集落が陰性の結果を示したが5代目に至り、O血清に凝集する集落を認めた。同一平板上の各集落間の差は比較的少く、20倍血清に何れも2'乃至3'で凝集を示した。チフス菌の凝集に比し稍々微細な凝集を示した場合が多い。7代目に各集落が10分乃至15分で凝集し、10代目の集落は5分程度で凝集を示した。80倍血清に対する凝集性は弱く、液が乾燥する前位によく凝集した。H血清、Vi血清にては何れも陰性であつた。他の2回の場合も略々同様な結果であつた。

中川S + Coli Bの場合(表14)

3代目に於て既に凝集性を示した。即ち10

表 13 (イ) 57S + Coli B (血清20倍稀釈)

集落番号	一代目			三代目			五代目			七代目			十代目		
	O	H	Vi	O	H	Vi									
1							2'			2'			0.5'		
2							3'			2'			0.5'		
3							3'	全部	全部	2'	全部	全部	1'	全部	全部
4	全部	全部	全部	全部	全部	全部	3'	全部	全部	2'	全部	全部	1'	全部	全部
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	3'	(-)	(-)	2'	(-)	(-)	1'	(-)	(-)
6							3'			2'			1'		
7							3'			2'			1'		
8							3'			2'			1'		
9							3'			2'			1'		
10							3'			2'			2'		

表中の数字は凝集迄の時間を分で表す。

表 13 (ロ) 血清 (40倍稀釈)

集落番号	一代目			三代目			五代目			七代目			十代目		
	O	H	Vi												
1										10'			5'		
2										10'			5'		
3										10'			5'		
4	全部	10'	全部	全部	5'	全部	全部								
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	10'	(-)	(-)	5'	(-)	(-)
6										10'			5'		
7										10'			5'		
8										15'			5'		
9										15'			5'		
10										15'			5'		

表 14 (イ) 中川 S + Coli B (20倍稀釈血清)

集落番号	一代目			三代目			五代目			七代目			十代目		
	O	H	Vi												
1				2'			2'			1'			2'		
2				2'			2'			1'			2'		
3				2'	全部	全部	2'	全部	全部	1'	全部	全部	2'	全部	全部
4	全部	全部	全部	2'	全部	全部	2'	全部	全部	1'	全部	全部	2'	全部	全部
5	(-)	(-)	(-)	2'	(-)	(-)	2'	(-)	(-)	1'	(-)	(-)	2'	(-)	(-)
6				(-)			2'			1'			2'		
7				(-)			2'			1'			2'		
8				(-)			2'			1'			2'		
9				(-)			2'			1'			2'		
10				(-)			2'			2'			2'		

表 14 (ロ) (40倍稀釈血清)

集落番号	一代目			三代目			五代目			七代目			十代目		
	O	H	Vi												
1							15'			10'			15'		
2							15'			10'			15'		
3							15'	全部	全部	15'	全部	全部	15'	全部	全部
4	全部	全部	全部	全部	全部	全部	15'	全部	全部	15'	全部	全部	15'	全部	全部
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	15'	(-)	(-)	15'	(-)	(-)	15'	(-)	(-)
6							15'			15'			15'		
7							15'			15'			15'		
8							15'			15'			15'		
9							15'			15'			15'		
10							15'			15'			15'		

ケの集落中5ケの集落が2分で凝集を来した。然し他の5ケは全く凝集性を示していない。5代目に至り全部2分で凝集して来た。7代

に至り更に凝集性は上昇して、1分位で良く凝集する様になった。然し10代ではむしろ少々低下して2分で凝集している。40倍稀釈血

清では5代目で15分, 7代目では最も良く凝集する集落でも10分位で, 強い凝集性を示した集落は見当らなかつた。H血清, Vi血清では

同じく陰性であつた。なお同様に組合せて行つた他の1例では早期に凝集したに拘らず, 途中で凝集性が消失した例があつた(表16)。

表 15 57S + Coli C (20倍稀釈血清)

集落番号	一代目			三代目			五代目			七代目			十代目		
	O	H	Vi												
1				3'			3'			3'			3'		
2				(-)			3'			3'			3'		
3				(-)	全部	全部	3'	全部	全部	3'	全部	全部	3'	全部	全部
4	全部	全部	全部	(-)	全部	全部	3'	全部	全部	3'	全部	全部	3'	全部	全部
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	3'	(-)	(-)	3'	(-)	(-)	3'	(-)	(-)
6				(-)			5'			3'			3'		
7				(-)			(-)			3'			(-)		
8				(-)			(-)			3'			(-)		
9				(-)			(-)			3'			(-)		
10				(-)			(-)			3'			(-)		

即ち2代目に於て二つの集落に凝集性を発見した, その集落を植え継ぐ事によつて3代目は全集落に凝集性が発現した。然るに4代目

に至り突然凝集性を消失した。以後10代迄殆ど凝集を示さなかつた。

57S + Coli C の場合 (表15)

表 16 中川S + Coli B (血清は20倍)

集落番号	一代目			二代目			三代目			四代目			五代目		
	O	H	Vi												
1				2'			2'								
2				2'			2'								
3				(-)	全部	全部	2'	全部							
4	全部	全部	全部	(-)	全部	全部	2'	全部							
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	2'	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6				(-)			2'								
7				(-)			2'								
8				(-)			2'								
9				(-)			2'								
10				(-)			2'								

少々弱い凝集性が見られた。3代目に3分で凝集した1集落を発見した。この集落を植え継ぎ5代目には集落の半数が陽性, 後の半数は陰性であつた。7代目に至り全集落が3分で陽性を示すに至つた。然しその凝集性は先の Coli B に現れた程強いものでなかつた。10代目に至り又逆戻りして, 半数近い集落は陰性という結果を示した。以上の陽性を示した集落について行つた40倍稀釈血清による凝

集反応は殆ど陰性に終つた。

中川S + Coli C }
57S + Coli D }
中川S + Coli D }

の場合は何れも特記すべき類凝集性を獲得したものは見なかつた。

試験管内凝集試験

上記実験によつて得た類凝集性の最も高い

大腸菌の集落についてチフスO血清、H血清による試験管内凝集試験を試みた(表17)。

表17 Coli B (Coli communior) 57Sと10代20代混培せるもの

O 血清	20×	40×	80×	160×	320×
	+	+	+	+	±
H 血清	20×	40×	80×	160×	320×
	+	±	-	-	-

Coli C (Coli Communis) 57Sと10代20代混培せるもの

O 血清	20×	40×	80×	160×	320×
	+	+	+	±	-
H 血清	20×	40×	80×	160×	320×
	+	±	-	-	-

Coli B (57Sと混合せる10代目の集落)はO血清にて160倍稀釈迄陽性であつた。H血清にも40倍迄陽性を示した。

Coli C (57Sと混合せる10代目の集落)ではO血清80倍に陽性を示した。H血清では40倍に±程度である。

(Ⅲ) 類凝集性の消失

上記実験によつて得られた大腸菌のチフス免疫血清に対する類凝集性が、大腸菌のみの単独培養を繰返す事により何代で消失するかを実験した。

用いた大腸菌は最も強い凝集性を示したColi B (57Sと10代培養)の集落より移植した。

実 験 術 式

ドリガルスキー上の集落を直接新しいドリガルスキー培地に移植する方法で継代した。移植に当つては最も良く凝集する集落を選んで行つた。3代迄凝集性は変化なく4代、5代に至つて凝集し難い集落を認め、6代に至つて全部の集落が著しく凝集性を減じ、10分を要するようになり、7代目に全部陰性となつて凝集性は消失した(表18)。

表 18 類 凝 集 性 の 遺 伝

血清はO血清(20×)を用いた。

コロニーNo.	一 代	二 代	三 代	四 代	五 代	六 代	七 代
1	1'	1'	1'	1'	1'	10'	全部 (-)
2	1'	1'	1'	1'	1'	10'	
3	1'	1'	1'	1'	1'	10'	
4	1'	1'	1'	1'	1'	10'	
5	1'	1'	1'	1'	1'	10'	
6	1'	1'	1'	1'	1'	10'	
7	1'	1'	1'	1'	1'	10'	
8	1'	1'	1'	10'	10'	10'	
9	1'	1'	1'	10'	10'	10'	
10	1'	1'	1'	(-)	(-)	10'	

第四章 継代混合培養後に於ける大腸菌の生物学的変化

前述の継代混合培養を20代行つた大腸菌について、糖分解性その他の生物学的性質を検査し原株と比較した(表19)。

大腸菌Aは10時間後も24時間後も原株と同一な性質を示した。大腸菌Bは10時間では原

株と同じであつたが、24時間で原株がザリチンを分解したのに対し、混合培養した菌は57Sと混培したもの中川菌と混培したものも共にザリチンの分解性を失つていた。又大腸菌C株は10時間で原株が葡萄糖を分解するのに対して分解せず、24時間で始めて分解した。然し他の菌種は何れもチフス菌との混合培養によつて生物学的性質を変えていない。

表 19 10 時 間

	葡 萄 糖	乳 糖	蔗 糖	ズ ル チ ツ ト	ザ リ チ ン	ア ド ニ ツ ト	澱 粉	V ・ P	M ・ R	イ ン ド ー ル	グ ラ チ ン	グ ラ ム	運 動 性
Coli A (原)	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
57 S と混培	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
中川 S と	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Coli B (原)	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
57 S と混培	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
中川 S と	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Coli C (原)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
57 S と混培	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
中川 S と	-	+	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Coli D (原)	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
57 S と混培	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
中川 S と	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-

24 時 間

	葡 萄 糖	乳 糖	蔗 糖	ズ ル チ ツ ト	ザ リ チ ン	ア ド ニ ツ ト	澱 粉	V ・ P	M ・ R	イ ン ド ー ル	グ ラ チ ン	グ ラ ム	運 動 性
Coli A (原)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
57 S と混培	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
中川 S と	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Coli B (原)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
57 S と混培	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
中川 S と	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Coli C (原)	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
57 S と混培	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
中川 S と	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Coli D (原)	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
57 S と混培	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
中川 S と	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-

以上一部糖分解性に变化を見たが大部分変化は見られず、又その変化と拮抗性及び類凝集性との関聯は明かでない。

第五章 考 按

第二章に於て実験せる如く、大腸菌属はその菌型によりチフス菌に対する拮抗性に相当の差違が有り、又同じ communior に属する大腸菌 A 株と B 株の間でも相当の開きがあ

る。又大腸菌とチフス菌の混合培養を継代する事により両者の性質に变化を来し、その拮抗関係に影響を及ぼす事を期待したが、特別な变化は見られなかつた。

1ヶ月連続混合培養したのもでも、又10代継代混合培養したのもでも Bact. coli communior 及び Bact. coli communis に於てチフス免疫血清に類凝集する大腸菌を得た。その凝集性の発現は表13~表16に見る如く、2

代目乃至3代目に見られる場合が多い。又その発現の有様は相当突発的である。之はブイヨンからブイヨンに植え継いだのではなく、平板上の集落の中で一番凝集したものを取つてブイヨンに植えたためであろうと思われる。突然変異によつて生じたものが拾い上げられて次の代に移植するため、次の代の全集落が殆ど皆凝集する様になるものと思われる。然し代を重ねるにつれて凝集性は稍々増加するが、一定程度以上は上昇しなかつた。即ち10代以後20代迄継代したが試験管内凝集試験も10代の時と全く一致した。又類凝集性が消失する場合も表15, 16の中に見られる如くチフス菌と混合培養しているにも拘らず、突然凝集性を消失する集落がある。之等は比較的凝集性に乏しい集落か或はチフス菌との継代の浅い時期の集落に多い。(Ⅲ)で説明した如く10代継代して相当類凝集性の安定した集落は5代に互り、純培養によつても類凝集性を保持した。そして6代目、7代目で可成り阶段的に類凝集性を消失した。即ち類凝集性の獲得も消失も多分に突然変異的である。そしてその類凝集性の増加及び安定度は継代する事によつて或る程度上昇する。

榊原²⁵⁾はチフス血清に対する大腸菌の凝集を2種に分けて、一方を特発凝集とし、一方を類凝集とした。而して特発凝集は安定であり数代に遺伝し、類凝集は1代で消失したといい、又特発凝集は食塩水にも凝集し、自然凝集に近い事を述べている。私の実験に於ける大腸菌の凝集はこの特発凝集とは区別すべきものである事は明かである。即ち最初は凝集せず、途中に於て凝集する様になり、食塩水は勿論H血清、Vi血清にも凝集していない。又榊原のいう類凝集は1代で消失しているが、之は糞便より分離した菌についての実

験であり、私の実験に於けるチフス菌との混合培養の継代の浅い時期に該当するものであろう。之を人工的に混合培養を継代する事により、その類凝集性は安定度を増して来るものであろう。

第六章 結 論

健康者より分離せる4株の大腸菌とチフス菌、中川S, 57Sと Bouillon 中に混合培養し次の結果を得た。

- 1) 大腸菌のチフス菌に対する拮抗性は菌型により相違があり、又同一菌型でも菌株により相当の開きがある。
- 2) 大腸菌のチフス菌に対する拮抗性は両者の混合培養を継代しても有意の変化を認めない。
- 3) 両者を継代混合培養する事により大腸菌の *Coli communior* と *Coli communis* に於て、チフス免疫血清に類凝集性を獲得した。この類凝集性は混合培養を継代する事により高める事が出来るが、10代以上継代してもそれ以上は上昇しない。
- 4) 継代培養の初期に獲得された類凝集性は不安定であり消失し易く、10代以上継代せる場合の類凝集性は比較的安定である。
- 5) 類凝集性の発現、消失は共に突然変異的である。
- 6) 類凝集はチフス免疫血清のO血清に著明である。
- 7) チフス菌と継代混合培養せる大腸菌は糖分解その他の生物学的性質に有意の変化を示さない。

(文献は二編に記す)

擧筆するに臨み、御指導を賜り御校閲下さつた村上教授に満腔の謝意を表す。

The Biological observation of the Mix-culture of *Bacterium coli*
Groups with *Salmonella typhi*

I) The bacterial antagonism and the non-specific agglutination
between *Bacterium coli* and *Salmonella typhi*

By

Kenichiro Koura

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director Professor Dr. Sakae Murakami)

By the mix-culture of *Bact. coli* groups, which were isolated from the sound man's feces, with *Sal. typhi* in bouillon, the author found the following results :

1) There was observed the difference of bacterial antagonism due to the difference of types of *Coli* groups, but no difference due to that of the generations of mix-culture.

2) By the mix-culture, *Coli communis* and *communior* came to show the paragglutination with anti-typhoid serum (particularly with O-serum), and it was raised from generation to generation till the 10th generation and then fell down. This paragglutination tended to appear and disappear suddenly. The paragglutination after the enough repeated generations of mixculture was relatively stable.

3) The *Bact. coli* which was mix-cultured with *Sal. typhi* did not show any variation of its biological natures.
