

Rough 集落を呈する腸チフス菌についての知見補遺

第二編 胆汁培地継代による Smooth 集落復帰について

昭和34年12月1日 受付

信州大学医学部細菌学教室 (主任: 田崎忠勝教授)

愛知県衛生研究所 (指導: 増山忠俊所長)

松 島 立 雄

Studies on Rough Colonies of Typhoid Bacillus

Part II. Reversible Change in the Rough to Smooth Colony by the Use of Bile Broth Culture

Tatsuo Matsusima

Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director: Prof. T. Tazaki)

The Institute of Hygiene, Aichi Prefecture

(Director: Dr. T. Masuyama)

緒 言

腸内細菌のR→S復帰については非常に多くの報告があり、S型菌血清添加によるもの⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾、ブイヨン反復継代培養によるもの⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾、反復動物通過による方法等⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾、最近では Crossley⁽¹¹⁾がR型サルモネラ菌の可溶性澱粉添加培養によるS型復帰を報告し注目されている。しかし、一般に型特異多糖類抗原消失の真のRからの復帰は非常に困難なものとされ、これに関する報告の中でSR又はRS等の表現をもつてする中間型よりの復帰についての報告も少くない。

私は前編で述べた種々の rough 集落を呈する腸チフス菌の中で、胆汁加ブイヨン継代培養によりS型に復帰するものがあることを認め、その復帰状況に興味ある所見をえたので報告する。

実験材料及び実験方法

供試菌株: 前編の実験に用いた S. typhi H901W の原S, R₂ rough 株及び R_{1-a}, R_{1-b}, R_{2-a}, R_{3-a}, R_{3-b} の8株。

使用培地: 1) 胆汁ブイヨン-普通肉水ブイヨン (Difco ペプトン使用) pH 7.2に牛胆汁末 (ミクニ) を0.5%, 1.0%, 2.0%, 4.0%の割に加え、濾紙にて濾過, 小試験管に約4cc及び中試験管に正確に10ccづつ分注, 1日1回100°C 30分3回の滅菌法により作製。2) 普通ブイヨン-胆汁ブイヨンに使用したものと同組成のものを前法同様小及び中試験管に分注滅菌して作製。3) 普通寒天平板-集落観察用として同上組成のブイヨンにより3%寒天濃度の平板をその都

度作製。

実験方法: 供試菌株の普通ブイヨン37°C 18時間培養を寒天平板に播種, 肉眼上均一な集落であることを認め, その1個を撮取り生理食塩水1.0ccに浮游, 標準白金耳の1白金耳量を上記5種培地に接種, なるべく同調培養⁽¹²⁾を期するため各菌の最大発育濁度が18~24時間に達することを認め, 37°C 20~24時間で継代した。R形菌は沈澱発育を示すため, 継代時よく振とうし均一な濁度にて植え継ぎを行つた。なお, あらかじめ胆汁培地を無菌的に37°C 7日間放置し沈澱の認められないことを確めた。

定期的観察のため, 10代~15代 (10日~15日) 毎に培地10ccの中試験管により中継し, 20~24時間培養の肉眼的濁度, 発育曲線, 普通寒天平板及びSS寒天による集落性状, 生菌数を観察追求した。

発育濁度試験-日立光電比濁計 (昭和25年製) により吸光度をしらべた。吸光度は胆汁末添加2%以下ではほぼ発育濁度に比例することを認め, 4%胆汁培地発育のみはこれをブイヨンにて2倍に稀釈し, あらかじめ原S菌にて各培地の標準発育濁度曲線を作り各曲線のほぼ中間に位置する1%胆汁培地の発育曲線に修正しその値を記載比較した。

なお, R形菌よりの復帰S型菌についての性状観察は前編と同法を用い, 特殊な試験についてはその都度方法を記載した。

実験成績

1. R形菌継代培養の経過及び集落性状

原S株は100継代を通じて各代20~24時間培養の発

育濁度及び生菌数に大きな変動はみられないが4%胆汁を除いては濁度生菌数とも漸増している。集落に変化なく殆ど沈澱を示さず、4%胆汁にて80代前後に濁度の低下と集落の rough 傾向がみられたが100代にては他の培養と同様 smooth な集落を示した。2%、4%の高濃度では初代や Δ 发育の劣りをみせている。

R形菌はいづれも沈澱发育を示し、 R_{1-a} 、 R_{1-b} においては、ともに30代前後まで发育濁度が急速に大となり、50代~60代の観察では各培地特に1%、2%胆汁において沈澱が増大发育濁度も低下をみせ24時間培養の生菌数もや Δ 少くなっている。この時期の1%、2%胆汁培養の普通寒天上の集落をしらべると、原R形菌よりも全体にや Δ smooth の傾向がみられSS寒天では特にこの傾向が強くなりみられる。この集落をとり生理食塩水で軽く洗った後普通ブイヨンに培養しても发育沈澱量はそれぞれ R_{1-a} 、 R_{1-b} と変わらず又Millon試薬トリパフラビンにもい然として凝集が認められる。この時期の2%胆汁においては特に沈澱发育が強くなり、20~24時間培養の肉眼上濁度観察で殆ど上濁と沈澱に区別しうる状態を示し、振とう均一化の吸光度も他のR形菌に比べや Δ 弱い。しかし、发育曲線における指数发育の開始期は他の发育と変わらない。4%胆汁培養は1%、2%と同様の发育経過がみられ生菌数においては差はみられないが吸光度がや Δ 弱く沈澱は比較的少ない。

2%胆汁による R_{1-a} 、 R_{1-b} 、1%胆汁による R_{1-a} は60継代を過ぎる頃から沈澱が次第に少くなり发育濁度が大になるとともに集落の smooth 傾向も強くなり生菌数も増加。100代では肉眼上原S集落と同様のS型集落で占められて来ている。

R_{2-a} は2%胆汁において80代前後で R_{1-a} 、 R_{2-b} とは Δ 同様な发育傾向を示し僅かの smooth 集落の出現をみたが、100代では全集落均一に smooth 傾向が強くなり、この集落の普通ブイヨン培養をしらべると原 R_{2-a} に比べ濁度に差はないが沈澱は明に減少している。しかしその後の観察で120代までには全集落が再び rough に傾いている。

rough の比較的強い R_{2-b} 、 R_{3-a} 、 R_{3-b} においては、各培養とも最初50代頃まで非常に发育が進み、その後ほぼ一定した发育を示しているが、沈澱发育はブイヨン、2%及び4%胆汁培養に強くなりみられる。集落は継代により rough の程度が増加しており smooth の集落は捕捉出来なかつた。

$R_{2-rough}$ 株は各培養系列とも比較的安定した发育経過をたどっているが1%以上の胆汁培養では各代20~24時間培養のブイヨンに比べ发育濁度が劣つてい

るように観察された。

以上、ブイヨン長期継代培養においては、原S、R形菌とも发育状況集落性状において大きな変化は認められない。0.5%胆汁培養もブイヨン培養と比較して時に发育濁度の強弱はみられたが大差なく比較的温存な経過を示した。

4%胆汁では发育濁度よりみて、R形菌に僅かに发育抑制がみられ特に rough の強い菌にこの傾向がみられたが生菌数ではそれ程影響がみられなかつた。

1%及び2%胆汁培養は、原Sにおいては継代による发育濁度の強弱は少いが生菌数が増加して来ている。これは胆汁に対する馴れを示すためであろう。R形菌中、 R_{1-a} 、 R_{1-b} 、 R_{2-a} の比較的 rough の弱い菌において30代頃まで发育濁度の増強が進み、指数发育開始が速くなり、その後50代頃より沈澱发育が強くなるとともに集落の smooth 傾向が強まり、その後沈澱の減少とともに再び发育濁度が徐々に増強する。他のR形菌もほぼ同様の経過を示したが、发育濁度、沈澱集落の変化に著しい差はみられなかつた。

S型菌の出現した3株中、この実験の観察方法では、 R_{2-a} の2%胆汁培養においてや Δ 突発的と思われる出現が捕捉されたが、 R_{1-a} 、 R_{1-b} は集落全体の smooth 化とともに進み突発的にはみられなかつた。集落観察は平均10代~15代間隔で行つたため、他の培地とR形菌との組合せにおいてもS型出現の可能性は考えられるが、要するに、1%~2%程度の胆汁未添加培地継代における30代前後までの非常増殖は、この時期において、原Sの胆汁培地发育がR形菌に比べてや Δ 優れ安定を示していることよりみて、rough 集落中に含まれているR形菌とS型傾向の強い菌との間に selection が行われ、次第にR形菌数が優位となりS型要素の多いものが smooth 集落復期に至つたものと思われる。

2. 復帰S形菌の性状

6株のR形菌と5種培地の組合せより胆汁未添加1%、2%の胆汁ブイヨンに3種類4株のS型復帰株をみたが、その中2%添加の培養よりS型に復帰した3株に対し、 R_{1-a} よりを S_{1-a} 、 R_{1-b} よりを S_{1-b} 、 R_{2-a} よりを S_{2-a} とラベルし、この菌につき原S及び復帰前の原R形菌との比較によつて、その性状を観察した。

1) 普通寒天、SS寒天平板の集落性状とモルモット働性血清に対する感性

前編と同法にて観察。復帰S型菌は发育、集落形態とも原Sに一致し、特に S_{2-a} はSS寒天では原Sよりも僅かに良好な发育を示した。新鮮モルモット働性血

表 1 胆汁培養地継代によるS型菌出現状況とその性状

菌株	継代数	性状	1%胆汁末添加ブイヨン										2%胆汁末添加ブイヨン															
			沈		普通寒天		SS寒天		自発凝集	ミロン集	トリピン集	熱凝集	硫凝集	モルモット性	上部発育	沈	普通寒天		SS寒天		自発凝集	ミロン集	トリピン集	熱凝集	硫凝集	モルモット性		
			+	+	集落	率(%)	集落	率(%)									集落	率(%)	集落	率(%)							集落	率(%)
R1-a	I	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	
	30	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	50	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	SR/R	80/20	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	80	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	SR/R	35/65	SR/R	50/50	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	100	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	S	100	S	100	-	-	-	-	-	-	-	-	
R1-b	I	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	50	+	+	RS/R	70/30	S/SR	80/20	+	+	+	+	+	+	+	+	RS/R	70/30	S/SR	80/20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	80	+	+	S/SR	15/85	S	100	±	±	±	±	±	±	±	±	S/SR	30/70	S/SR	60/40	±	±	±	±	±	±	±	±	±
R2-a	I	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	50	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	80	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	S/R	5/95	S/SR	30/70	中	中	中	中	中	中	中	中	中
R2-b	I	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	S	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	R	100	SR	100	+	+	+	+	+	+	+	+	R	100	S	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註：集落大きさは平板上直徑約2mmを中として以下を小とした。

清に対しては、S_{1-b}に僅かの感性を示すものもみられたが、S_{1-a}、S_{2-a}については完全に抵抗を示し、この方法よりすればR型菌の混在のないことを示している。

2) 色素及び重金属イオンによる凝集

3 復帰菌とも Millon 試薬による凝集陰性、10%トリパフラビンによる凝集なく又10% MgSO₄に凝集をみない。他の Cu⁻、Ag⁻、Pb⁻との凝集価は原R形菌と差なく、前編でみられた様に集落形態に余り関係のないことを示した。又凝集反応態度における復帰菌の特異性というべきものもみられなかった。

3) 血清学的性状

菌体抗原の変動をしらべるため、原S煮沸菌血清に対する復帰S型菌のO凝集価を比較検討した。

まず、原S株のブイヨン、1%及び2%胆汁培養の各100継代によるS型菌をしらべたところ、原Sの凝集価と変わらず各菌とも1280倍を示し培地による差のないことが分つた。

R形菌よりの復帰S型菌においては、S_{1-a}が原S同様1280倍、S_{1-b}も原R形菌の320倍から明に上昇し1280倍となつている。S_{2-a}のみは原R形640倍に対し、集落のsmooth復帰は明であるが変動なく640倍以上の凝集は認められなかった。

復帰S型菌につき前法により煮沸抗原によるウサギ免疫血清を作製。原Sとの交叉吸収を行つたところ、原Sとの間に3菌株とも相互吸収され、復帰S型菌は原Sと同定された。林²⁹はゲルトネル菌において又北村³⁰はコレラ、バラチフス菌により、胆汁又は胆汁酸

表3 交叉吸収試験

血清	吸収抗原	抗原			
		S	S _{1-a}	S _{1-b}	S _{2-a}
S	S _{1-a}	-	-	-	-
	S _{1-b}	-	-	-	-
	S _{2-a}	-	-	-	-
S _{1-a}	S	-	-	-	-
S _{1-b}	S	-	-	-	-
S _{2-a}	S	-	-	-	-

による被凝集性の低下を報告し、30代~50代の継代でこの作用が復旧することを述べ、特に新鮮分離株において著明であることを述べている。本実験の標準保存株における100継代までの試験では原Sに凝集価の低下はみられず、復帰S株も同様でその後の普通斜面寒天継代においても凝集価の変動はみられなかった。

4) 各菌株の胆汁に対する発育態度

胆汁末による原S、R₂ rough、R形菌、復帰S型菌の発育能をしらべるため。既知の成分を有するSaunders培地を用い、前法に従いこれを基礎培地として胆汁末0.5、2.0、4.0、6.0%の割合で加え、濾過した培地を10ccに分注100°C 30分3回法により滅菌。前法同様光電比濁計を用い37° 10時間、24時間の吸光度をしらべ、同時に普通平板を用いて混釈法による生菌数を算定した。なお、6%胆汁末添加培養は発育濁度を測定することが困難なため生菌数のみによつて比較観察した。

結果：合成培地に胆汁末を加えた発育は普通肉水ブイヨンに比べはるかに劣り、一般にR形菌はS型菌に比べ発育の遅延がみられる。S型菌においては4%、6%の高濃度に僅かに発育の遅れが認められるほかは基礎培地との差が小さい。S型菌中復帰S型菌は基礎培地に比べ10時間から24時間培養の濁度の差に変わりはないが、生菌数においては増加が少いか又はほぼ同数を示し、発育速度の促進及び早期の生菌数定常状態がみられる。特にS_{1-a}、S_{2-a}に明である。

一般に、0.5%~2%程度の胆汁末添加では発育促進がみられるが、4%~6%の高濃度では抑制の傾向がみられる。

鷹取³¹は胆汁中のタウロコール酸ソーダ及びグルココール酸ソーダはチフス菌の発育を抑制し、チフス菌の発育促進物質はトリプトファンであり、牛胆汁中には3.2γ/cc程度のトリプトファンが含まれていることを実験している。直鎖アミノ酸が必要であるこの一連のチフス菌においても胆汁添加により発育速度の促進

表2 凝集反応 (煮沸菌血清対アルコール処理抗原)

	40	80	160	320	640	1280	2560	K
S	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
S _B	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
S _{G1}	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
S _{G2}	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-
S _{1-a}	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
S _{1-b}	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-
S _{2-a}	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
R _{1-a}	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
R _{1-b}	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
R _{2-a}	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-

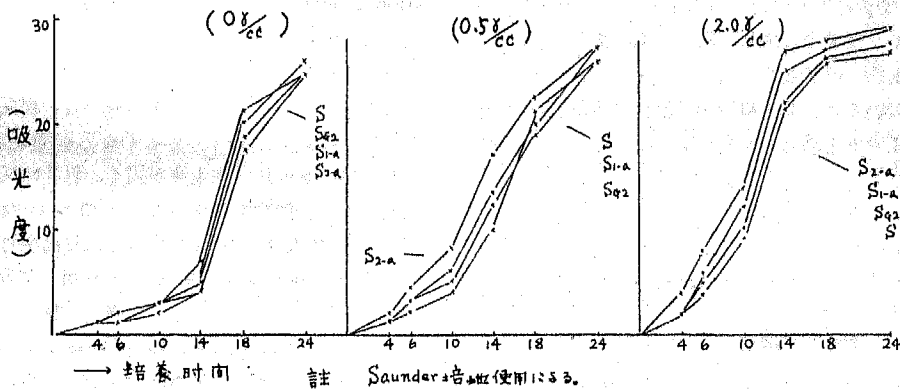
S_B、S_{G1}、S_{G2}はそれぞれ原Sのブイヨン、1%、2%胆汁添加ブイヨン培養100継代のものを示す。数字は血清の稀釈増数を示す。

表 4 各菌の胆汁(末)に対する発育態度 (Saunders 培地使用による)

菌株	培地 培養時間 成績	Saunders 培地		+0.5%胆汁末		+2%胆汁末		+4%胆汁末		+6%胆汁末	
		10h	24h	10h	24h	10h	24h	10h	24h	10h	24h
		濁度	生菌数	濁度	生菌数	濁度	生菌数	濁度	生菌数	濁度	生菌数
S	濁度	11	29	10	32	11	34	12	32		
	生菌数	(75)	(135)	(80)	(92)	(50)	(95)	(37)	(82)	(28)	(61)
SG ₂	濁度	11	31	12	30	12	29	11	34		
	生菌数	(82)	(97)	(110)	(70)	(98)	(60)	(72)	(70)	(28)	(61)
S _{1-a}	濁度	14	28	16	35	16	38	10	32		
	生菌数	(120)	(87)	(135)	(80)	(170)	(85)	(84)	(110)	(51)	(92)
S _{1-b}	濁度	13	30	16	30	15	34	10	36		
	生菌数	(78)	(81)	(97)	(68)	(100)	(115)	(42)	(86)	(45)	(52)
S _{2-a}	濁度	17	31	17	34	18	41	12	40		
	生菌数	(170)	(105)	(115)	(80)	(190)	(210)	(100)	(93)	(83)	(50)
R _{1-a}	濁度	10	26	7	31	11	33	7	32		
	生菌数	(85)	(115)	(58)	(67)	(49)	(88)	(20)	(64)	(12)	(50)
R _{1-b}	濁度	11	26	7	29	8	29	4	32		
	生菌数	(72)	(105)	(60)	(91)	(28)	(80)	0	(65)	0	(43)
R _{2-a}	濁度	10	25	6	28	4	31	4	34		
	生菌数	(6)	(72)	(8)	(57)	0	(60)	0	(62)	0	(41)
R _{3-a}	濁度	4	16	2	19	0	22	0	30		
	生菌数	0	(12)	0	(41)	0	(30)	0	(27)	0	(11)
R ₂ rough	濁度	2	18	0	20	0	20	0	28		
	生菌数	0	(9)	0	(18)	0	(11)	0	(20)	0	(13)

註: 生菌数は各培養の 10⁻⁹ を混釈法により算定。+ は Saunders 培地に胆汁末を加へたことを示す。
SG₂ = 原 S (S) の 2% 胆汁末添加培地に 100 継代したもの。

図 1 復帰 S 型菌のトリプトファン利用状況



が認められ、前編での実験におけるトリプトファン添加に対する態度と似た傾向を示し、胆汁末0.5%~2%の添加ではグルコース、アスパラギン、チスチン、トリパフラビン (1r/cc) 含有の基礎培地に発育した菌の発育促進がみられた。しかし、この濃度の範囲では胆汁の濃度による発育の差は著明でなかった。

5) 復帰 S 型菌のトリプトファン要求

復帰 S 型菌は原 R 形菌に比べトリプトファン要求が高まり原 S とは異なる一致した発育曲線を示すが、3 復帰菌とも原 S よりやゝ lag が短く、トリプトファンの増加に応じて発育速度が促進されている。即ち S 型菌はトリプトファン非含有培地では原 R 形菌よりやゝ遅れ

た発育濁度を示し、特に S_{1-a}, S_{2-a} は lag が延長している。これと対照する 2% 胆汁 100 継代の原 S のトリプトファン利用率はやゝ増加しているが原 S と大差をみない。

6) マウスに対する毒力

表 5 マウスに対する毒力試験

	0.75mg	0.5mg	0.25mg
S	D D D	D D D ₂₄	S S S
S _B	D D D	D D ₄₈ S	S S S
S _{G0.5}	D D D	D D ₂₄ S	S S S
S _{G2}	D D S	D ₇₂ S S	S S S
S _{G4}	D D S	D ₂₄ S S	S S S
S _{1-a}	D D D	D D ₂₄ S	S S S
S _{1-b}	D D D	D D ₂₄ S	S S S
S _{2-a}	D D D	D D D ₂₄	D ₇₂ S S

註: 11~14g マウス使用, 腹腔内接種。D=斃死, S=生存, 5日間観察, 数字は斃死までの時間を示す。

前法により S 復帰型菌のマウスに対する毒力をしらべると, MLID は原 R 形菌に比べ低くなり S 原とはほぼ一致して 0.25mg~0.5mg を示し特に S_{2-a} は他の復帰菌に比べ毒力が増加している。原 S のブイオン及び胆汁 100 継代は減弱を示し、特に 4%, 2% 胆汁培養は 0.5mg~1.0mg 程度に減弱している。この結果、マウスに対する原 S の胆汁高濃度培養では減毒の傾向を示し、復帰 S 型菌は原 S に近い毒力を示して来ているが、原 R 形菌よりは毒力の増強の傾向が明である。

7) 生物学的諸性状

原 S においては、2% 胆汁 100 継代の菌にガラクトースの遅延分解を認め、原 R 形菌でガラクトース非分解であった S_{2-a} は遅れて分解するようになって来ている。このように、親株を同一とする一連の腸チフス菌の糖分解において、ガラクトース分解の遅速不定の知見のほか特に興味ある変化は認められなかつた。

考按及び綜括

Conradi (1906) が胆汁中の腸チフス菌に対する栄養源の存在を指摘してより、Kauffmann 増菌培地など牛胆汁が腸チフス菌増菌の目的に使用され、以来細菌に対する胆汁及び胆汁成分の研究は多く、Kleinsorgen^⑩は腸チフス菌培養において、タウロコロール酸ソーダは発育を促進しグルココロール酸ソーダは阻害することを報告、Nichols^⑪はこの阻害作用も加熱により消失することを述べている。

高木^⑫は胆汁及びその成分である胆汁酸、脂肪酸、ムチンが正常血液の有する殺菌及び発育抑制に対しきつ抗作用のあることを明らかにし、又藤取^⑬は腸チフス菌の発育促進物質はトリプトファンであることを述べている。

合成培地に胆汁末を加えて行つたこの実験においても、S 及び R 形菌培養とも、普通ブイオンにははるかに劣るが、胆汁末 2% 以下ではグルコース、チスチン、アスパラギン、トリプトファンを含有する基礎培地の発育に対し発育の促進が観察された。この傾向は胆汁加培養の継代により得た S 型復帰菌に著明であつた。又 4%, 6% 等の高濃度添加では発育濁度よりみて抑制の傾向が認められ、特に rough の強い R 形菌において著明にみられている。

継代培養に用いた胆汁加ブイオンの発育経過から考察すると、R 形菌特に S 型復帰の R 形菌において、初代普通ブイオンに比べやゝ発育の劣りをみるがその後発育濁度増大し、30代前後で最高となり、沈澱が特に増加するとともに比較的 rough の弱い菌の培養において S 型菌が出現し、それに続いて沈澱は漸減し、発育濁度は再び大となり S 型菌で占められるという経過を示している。

これは胆汁培地に適応して来た菌が常に同種培地に対し発育サイクルにおける定常期において植え継がれるため、30代前後で最高の発育に達し^⑭、長期培養により R 型集落に含まれていた S 型傾向の強い菌の相対数も次第に大となり胆汁培地における S 型菌の selection が助長され集落の S 型復帰の結果となつたものと思われる。前編で明らかな如く、デゾキニコール酸ソーダを重要成分とする SS 培地上の発育状況においても R 形菌中 rough の程度の強いもの程発育が抑制されている。

R 形菌は S に比べ親水性が弱く、胆汁は又培地の表面張力低下の作用を有するため、増々 rough の強い菌の沈澱を大きくし、30代附近の最高発育を過ぎる頃、菌の population pressure も作用して S 型菌に有利の発育結果をもたらすことも考えられる。

中川^⑮は結核菌の胆汁培地発育実験において、胆汁酸の添加は、高濃度で菌の発育を阻止、中等度で沈澱を促進し、低濃度では発育が良好であることを述べている。この事は腸チフス菌の合成培地による胆汁添加培養の実験によつても明らかな如く、特に R 形菌の胆汁に対する態度と一致している。この現象は Arndt-Schultz 法則^{⑯⑰}で説明可能であり、少量の時は発育促進となり更に高濃度の時は発育阻止能度をとるものである。

Witkin^②はデゾキニコール酸が大腸菌の変種を起さしめる作用のあることを実験報告し、又 Henry 等^③はデゾキニコール酸ソーダが核蛋白に作用してWelchi菌のグラム染色性を転換することが出来ることを明にしている。

この実験におけるR形菌よりのS型集落復帰はO→φの真のR→Sではないが、以上の種々の発育環境の因子により比較的S要素の強いR形集落中の菌が胆汁ブイオン長期継代培養により淘汰され、同時に胆汁酸により何等かの内面的影響も与えられたものと考えられる。なお、北村^④、林^⑤はそれぞれ腸チフス菌、ゲルトネル菌の胆汁培養継代で菌の被凝集性が低下後恢復し、等に新しい分離株にこの影響を受け易いことを報告しているが、胆汁末による私の実験では原S菌100継代において凝集価の低下は捕捉することが出来なかつた。たゞ、R形菌からの復帰S型菌3株中S_{2.a}のみは集落形態、モルモット血清に対する低抗性、ブイオン培養、Millon凝集、重金属イオンによる凝集、毒力試験、トリプトファン要求において原S株と殆ど一致しているにかゝらず、原S血清に対しては原S株より1管低い凝集価を示した。

Gladstone^⑬は腸チフス菌H901をトリプトファン要求株の exacting グループに入れ training により他のN源よりトリプトファンを合成可能の non-exacting 株になりうることを報告している。又秋葉^⑭はアスパラギン、チスチンMを源として発育可能の腸チフス菌はこれらのアミノ酸よりトリプトファンを合成しうることを述べている。この実験における2%胆汁末加ブイオンにより出現した復帰S型菌は原Sに比べてトリプトファンによる発育速度の促進傾向がみられ、この事は、トリプトファンを必須としない供試S. typhi H901WもそのR形菌にとっては必須に近いものであることが分り、S型復帰への変化過程において、胆汁ブイオン中のトリプトファン利用度もかなり関係があるものと考えられる。

結 論

S. typhi H901Wのブイオン培養により得た種々の rough 集落を呈するR形菌の胆汁末添加ブイオン継代培養により、roughの比較的軽度の菌にS型復帰がみられ、この菌は生物学的血清学的に原S型菌と同性状を示した集。

smooth 集落の出現は、継代初期の最高発育後に沈澱の減少とともに除々にみられ、これは胆汁に対するS型菌、R形菌の発育の優劣からS型菌が select されたものと考えられる。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導を賜つた愛知県衛生部長小川朝吉博士現愛知県衛生研究所長岸田秋彦博士ならびに御教示と御校閲を戴いた田崎忠勝教授ならびに増山忠俊博士に深甚の謝意を捧げ、種々御協力下さつた愛知県衛生研究所細菌血清科のみなさまに心から御礼申し上げます。

参 考 文 献

- ①Arkwright: J. Path. & Bact., 24, 36, 1921
 ②Arkwright & Pitt, R. M.: J. Path. & Bact., 32, 229, 1929 ③Burnet, F. M.: J. Path. & Bact., 32, 15, 1929 ④Dulaney, A. D.: J. Inf. Dis., 42, 575, 1928 ⑤Wilson, G. S.: J. Hyg., 30, 40, 1930
 ⑥White, P. B.: J. Path. & Bact., 32, 85, 1929.
 ⑦White, P. B.: J. Path. & Bact., 41, 567, 1935
 ⑧岡本 啓: 日新医学 31, 11, 894, 昭18 ⑨岡本 啓: 実験医学 28, 83, 昭19 ⑩安東洪次: 総合医学 10, 8, 1953 ⑪安東洪次: 日本医学及び健康保健 3262, 2959, 1941 ⑫安東洪次: Jap. J. Exp. Med., 22, 119, 1945 ⑬Kauffmann: Enterobacteriaceae, 2nd Ed., 1954 ⑭Topley & Wilson: Princip. Microb. & Imm., 4th Ed., 1955 ⑮Hardley, P.: J. Inf. Dis., 60, 129, 1937 ⑯Jordan, E. O.: J. Am. Med. Assn., 86, 177, 1926 ⑰Deskowitz, M. W.: J. Bact., 33, 349, 1937 ⑱Luria & Delbürck, M.: Genetics, 28, 491, 1943 ⑲Thjøtta & Waaler: J. Bact., 24, 301, 1932 ⑳Bernstein & Lederberg: J. Bact., 69, 142, 1955 ㉑水沼 寛: 日本細菌学雑誌 10, 707, 1955 ㉒秋葉朝一郎: 日本細菌学雑誌 7, 特別号, 434, 1952 ㉓秋葉朝一郎・荒井岩夫: Jap. J. Exp. Med., 21, 7, 1951
 ㉔中村俊一: 日本細菌学雑誌 8 (8), 876, 1953
 ㉕中沢 仁: 日本細菌学雑誌 7 (2), 115, 1952
 ㉖Mackenzie & Fitzgerald, et al: J. Bact., 29, 583, 1935 ㉗Soul, M. H.: J. Inf. Dis., 42, 93, 1928 ㉘田宮・石井・川村: 風土病研究 57, 昭24
 ㉙小川 誠: 岩手医学会雑誌 7 (6), 387, 昭31
 ㉚Crossley, V. M.: 52, 367, 1946 ㉛柳田友道: 生物化学 9, 特別号, 57, 昭23 ㉜林 幸雄: 日本細菌学雑誌 7, 特別号, 37, 1952 ㉝北村直次: 岡山医学会雑誌 65巻, 昭29 ㉞鷹取 毅: 日本細菌学雑誌 7 (4), 311, 1952 ㉟Kleinsorgen: Zent. Bakt. Orig. Bd., 104, 439, 1927 ㊱Nichols: J. Exp. Med., 24 (5), 1916 ㊲高木 篤・伊藤義広: 日本伝染病学雑誌 26 (1~3), 24, 1952
 ㊳Lamanna & Mallette: Basic Bacteriology, 1953
 ㊴中川 諭: 結核 13, 198, 昭10 ㊵増山忠俊・他: Jap. J. Med. Sci. & Biol., 7, 15, 1954 ㊶Bancroft & Richter, G. H.: J. Physiol. Chem., 35, 215, 1930 ㊷Witkin, E. M.: Biology, 7, 256 1949
 ㊸Henry & Macleod, C. M.: Nature, 151, 111, 1943 ㊹Gladstone, G. P.: Brit. J. Exp. Path., 18, 67, 1937