



| | |
|------------------|---|
| Title | 馬パラチフスの血清診断に関する研究：特に多糖類抗原を以てする沈降反應に就て |
| Author(s) | 平戸, 勝七; HIRATO, KATSUSHICHI; 清水, 龜平次 他 |
| Citation | 獣醫學研究, 1(1), 49-59 |
| Issue Date | 1953-01 |
| DOI | https://doi.org/10.14943/jjvr.1.1.49 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/11345 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | KJ00000104916.pdf |



馬パラチフスの血清診断に関する研究

特に多糖類抗原を以てする沈降反應に就て

平戸勝七・清水龜平次・佐藤儀平

(北海道大學獸醫學部家畜生學教室)

伊藤時哉

(北海道大學獸醫學部家畜生化學教室)

STUDIES ON THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF EQUINE PARATYPHOID.

ESPECIALLY ON THE PRECIPITIN REACTION WITH
THE BACTERIAL POLYSACCHARIDE ANTIGEN
OF *SALMONELLA ABORTUS-EQUI*.

KATSUSHICHI HIRATO, KIHUJI SHIMIZU and GIHEI SATO

(From the Laboratory of Veterinary Hygiene and Microbiology, Faculty
of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo)

TOKIYA ITOH

(From the Laboratory of Veterinary Chemistry, Faculty of
Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo.)

I. 緒言

馬パラチフスは妊馬の流産，仔馬幼駒の敗血性疾患，牡馬の睪丸炎その他年齢，性，用役に應じて種々の病像を呈するものであることは衆知の事であるが，以上の如き症状の明かでない場合に血清反應のみを以て帶患の有無を診断することは甚だ困難な問題である。従來この種の目的には凝集反應が主として用いられ，凝集價の基準として1:640疑陽性，1:1280陽性とする判定法が實際に行われているが野外でこの程度の凝集價を有する馬は頗る多く，しかも何等臨床上變化を認め得ないことから斯かる判定基準には多くの疑問が残されている實狀にある。我々はこの點の疑義を明かにし，馬パラチフス診断上最も合理的な方法を検討するため，人口感染馬に於ける感染—發病—恢復の過程を通じて各種抗体の消長態度を把握する一方，本病流行農村に於ける農馬の血清反應を検討した結果，馬流産菌の多糖類性分劃を抗原

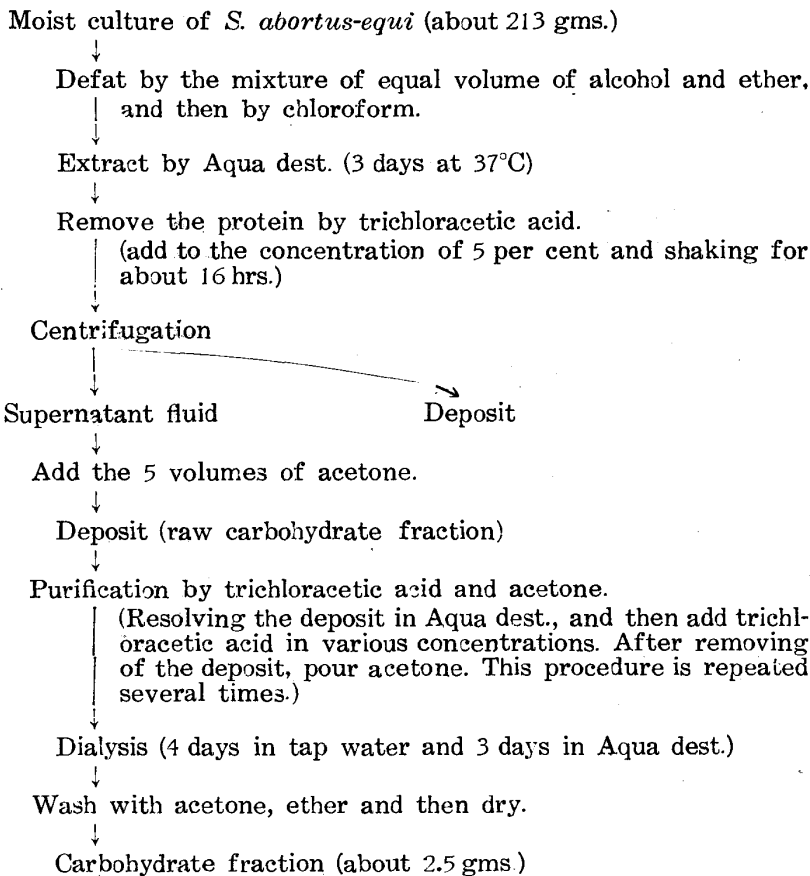
とする沈降反應が最もよく此の種の目的に合致することを認めたので茲にその概要を報告する次第である（本論文の要旨は昭和26年4月第30回日本獸醫學會席上に報告した）。

II. 血清反應の術式

1. 凝集反應

抗原として馬流産菌の分離後保存期間の短いS型1株を以て普通寒天20時間培養を食鹽水浮游液とし，60°C 30分加熱殺菌後 McFarland No. 1の $\frac{1}{2}$ の濃度に合せて調製した。可檢血清を倍數稀釋し，之に等量の抗原液を加え37°C 2時間加温一夜室温放置後成績を判定した。本文中單に凝集價と記載してあるのは全部60°C加熱抗原によるWIDAL價を言う。又寒天培養菌のアルコール處理O抗原及びブイヨン培養ホルマリン殺菌によるH抗原を用いて常にO及びH價の測定を平行せしめた。

Fig. 1. Isolation of the Carbohydrate Fraction.



glucosamine の構成成分として存在するようである。
なお本物質に就いては更に精製操作を行い、

2. 沈 降 反 應

沈降反應の抗原として煮沸抽出液、蛋白分割、多糖類分割を比較した結果煮沸抗原は偽反應が多く現われて、沈降素の出現消失の境界が不明確であり又蛋白分割は抗原性弱く之に反して多糖類分割は抗原性頗る強く反應が鮮明に現われることから、本研究に於ては専ら多糖類分割を抗原として本反應を實施した。

多糖類分割の作製法：淺見¹⁾の方法に準じ普通寒天24時間培養の馬流産菌濕潤菌を次表の如く處理して帶黄灰白色の粉末を得た(第1圖参照)。

本物質の化學的諸性狀、化學分析及びペーパークロマトグラフ分析法による構成々分は第1表に示す如くである。表の成績から本物質は微量の蛋白及びエーテル可溶性物質(主としてリポイドと思われる)を含む高級多糖類と判斷される。そのNの大部分は、完全な純化物についてその性狀竝に組成を再確認し度いと思う。

Table 1. Chemical Characters and Analyses of the Fractionated Carbohydrate Substance.

Yellowish grey white powder, weak alkali soluble

Precipitation Tests (for weak alkali solution)

| | | | |
|-----------------------------------|---|----------------------------|---|
| With | | With | |
| Hydrochloric acid | — | Nitric acid | — |
| CuSO ₄ | — | Pb-acetate | — |
| Basic Pb-acetate | — | Acetic K-ferrocyanide | + |
| Hydrochloric phosphotungstic acid | + | Trichloroacetic acid | + |
| Sulfosalicylic acid | + | Acetic tannic acid | + |
| Esbach's reagent | + | Saturated ammonium sulfate | + |

Color Reactions

| | | | |
|---------------------------|----|------------------------|----|
| Orcine reaction | ++ | Phloroglucine reaction | ++ |
| Seliwanoff's (Resorcin) " | + | Molisch's " | ++ |
| Nylander's " | — | Benedict's " | — |
| Jod-Jodkalium " | — | Biuret " | + |
| Xanthoprotein " | + | Millon's " | + |
| Sakaguchi's " | + | Pauli's " | + |
| Adamkiewicz-Hopkins's " | + | Liebermann's " | + |
| Neubauer-Rhode's " | + | Acree-Rosenheim's " | + |
| Na-nitroprusside " | — | Pb-sulfide " | — |
| p-Quinone " | — | Ninhydrine " | — |

Chemical Analyses

| | |
|--|-------|
| Water | 14.2% |
| Total N | 5.7 * |
| Protein-N | 0.29 |
| Non-protein-N | 5.4 |
| Ether extractable N | 0.16 |
| Reducing Substances (calculated as glucose after hydrolysed with 1 N HCl) | 24.5 |
| Ether extract | 10.6 |
| Ash | 3.1 |
| Ca | 1.6 |
| Mg | 0.7 |
| Total P | 1.53 |
| Ether extractable P | 0.64 |
| Ether unextractable P | 0.89 |

* Percentage in Anhydride

Paper Chromatography with 1 N HCl-hydrolysate

Following components were found in one dimensional paper chromatogram.

(Solvent: Water saturated phenol, Ascending method, at 23°C for 24 hrs)

Glucose, Fructose, Galactose, Arabinose, Rhamnose, Glucosamine, Tyrosine, Arginine, Histidine, Leucine, Valine, Alanine, Glutamic acid, Some peptides.

反應の實施: 以上の多糖類性分割粉末 1 mg を食鹽水 1 c.c. に溶き 1, 2 分間煮沸後遠心分離した上清を抗原原液とする。この原液を食鹽水を以て 1:5, 1:10 の如く倍數稀釋して用いた。従つて 1:10 抗原液とは多糖類分割を 1:10,000 に稀釋したことを意味する。

反應の術式は重層法によつた。可檢血清は生のまま内徑 3 mm 程度の小試験管に入れ抗原を重層して 37°C 1 時間後判定した。室温に 1 時間放置してもほぼ同様の成績が得られる。

3. 補体結合反應

馬流産菌の普通寒天 24 時間培養を食鹽水 1 c.c. 20 mg の割に浮遊せしめ 100°C 10 分加熱後遠心分離し、上清を抗原として使用した。

反應術式として KOLMER 舊法及び CASALS 法とを比較した結果後者がよい成績を示したので、専ら CASALS 法に據ることとした。

III. 人工感染幼駒に於ける
3 種抗体の消長

1. 實驗馬

血清反應を観察した實驗馬 8 頭は主として生後 6~7 ケ月の幼駒 (1 頭のみ 19 ケ月) であつて、

内 1 頭 (No. 1) には加熱死菌ワクチンを又他の 3 頭 (No. 2, 4, 9) には安東法²⁾によるクロムワクチンを夫々 3 回に亘つて皮下接種し、4 頭の對照馬 (No. 3, 5, 7, 10) と共に馬流産菌の攻撃感染を實施したものである。感染材料としては馬流産胎兒胃液を用い投與した馬流産菌の實數は 730 萬個であり、飼料に混じて採食せしめた。その結果對照馬の 1 頭 (No. 3) は數日後に發病し、敗血症狀の下に感染後 12 日で斃死した。他の實驗例は感染實施後發熱、白血球數の動搖、好中球核の左方推移が現われ、又菌血症の認められたものもあつてその程度に輕重の差はあるが、何れも感染發病し恢復經過を辿つた。實驗馬の明細は第 2 表に掲げる。

2. 人工感染馬に於ける 3 種抗体の消長

對照馬の内 No. 5 は感染後 5 日に發熱し、數日間稽留し爾後はやや不正な熱型を持続し次第に恢復した。菌投與後 6, 11 日に流血中に菌が檢出された。感染 65 日に屠殺、剖檢上著變なく体内菌分布は總て陰性に終つた。本例は定型的な感染—發病—恢復の經過をとつた一例である。凝集素は感染後 9 日から上昇し 20 日で最高となつたが、沈降素は 11 日から出現し 2 日後に最高となつた。

Table 2.

| Foil Number | Age | Preventive Inoculation with Equine Paratyphoid Vaccine (Subcutaneous) | | Test Infection with <i>S. abortus-equi</i> | | Days elapsed from Infection to Slaughter | Localization of <i>S. abortus-equi</i> in the infected Animals | Remarks |
|-------------|----------|---|---|--|-------------|--|--|--|
| | | Date | Dose | Date | Dose** | | | |
| 1 | 6 months | Dec. 2, 1950 7, " 13, " | 8mg Heat-Killed Vaccine 20 " 40 " | Dec. 25, 1950 | 7.3 million | 71 | — | Positive blood-culture on Jan. 7, 16. |
| 2 | 7 " | Dec. 1, " 6, " 13, " | 20 " 60 " Chrome Vaccine 120 " | " | " | 57 | in a mesenterial lymph nodule, Kidney * | |
| 4 | 7 " | Same as above | | " | " | 52 | in a mesenterial lymph nodule * | |
| 9 | 19 " | " | | " | " | 50 | — | |
| 3 | 6 " | Control | | " | " | Died of Sepsis 12 days after Infection | generally spread | |
| 5 | 7 " | " | | " | " | 64 | — | Positive blood-culture on Dec. 31, Jan. 1. |
| 7 | 7 " | " | | " | " | 59 | — | |
| 10 | 7 " | " | | " | " | 7.5 months | — | |

Note : * The bacilli were detected by enrichment culture.

** The number of the abortion bacilli in a gastric content of an aborted fetus was calculated, then used as a challenge dose.

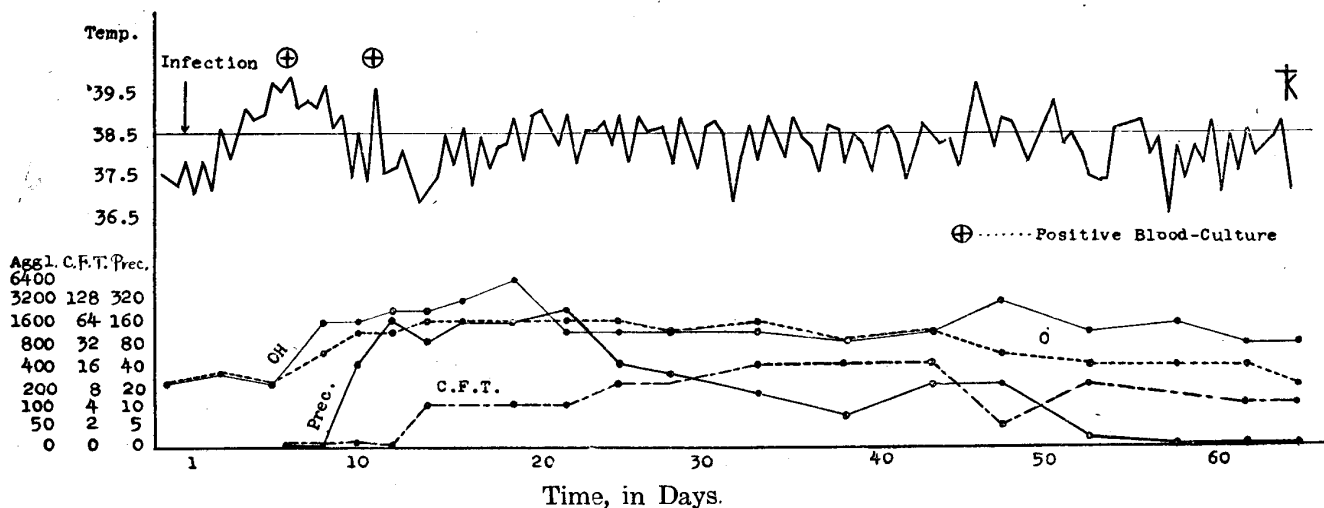


Fig. 2. Rise and Fall of Agglutinins; Precipitins and Complement-fixing Antibodies in Blood of Foal No. 5 after Infection with *S. abortus-equi*.

Table 3. Titre of Agglutinin, Precipitin and Complement-Fixing Antibody after Preventive Inoculation and Test Infection into Foals.

| Foal Number | Previous Treatment | Anti-bodies | Dec. 1 | 23 | 25 | 29 | 31 | Jan. 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 13 | 16 | 19 | 27 | Feb. 1 | 6 | 10 | 15 | 20 | 24 | 27 | Mar. 6 | | |
|-------------|------------------------|-------------|--------|-------|----|-------|-----|--------|-------|--------|-------|--------|------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|---------|------|---------|--------|--------|-----|
| 1 | Preventive Inoculation | A | 200 | 12800 | | 6400 | | 12800± | | 12800± | | 6400 | | 6400± | 1600 | 1600± | 1600 | 3200± | 3200 | 3200 | 3200 | 3200 | 3200 | | 1600 | |
| | | O | 100± | 12800 | | 3200 | | 3200 | | 6400± | | 3200 | | 1600 | | 800 | 800± | 1600 | 3200± | 3200 | 3200± | 1600 | 3200± | 1600 | | 800 |
| | | P | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | + |
| | | C | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | ## |
| 2 | Preventive Inoculation | A | 200 | 25600 | | 3200 | | 12800 | | 12800 | | 6400± | | 3200 | 1600 | 1600± | 1600 | 1600± | 1600 | 1600± | 1600 | 800 | Feb. 20 | | | |
| | | O | 200± | 25600 | | 1600 | | 12800± | | 6400 | | 6400± | | 1600 | | 800 | 400 | 1600 | 1600± | 1600 | 1600± | 800± | 800± | ## | | |
| | | P | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | + | ± | + | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | + |
| | | C | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | ## |
| 4 | Preventive Inoculation | A | 400± | 51200 | | 51200 | | 102400 | | 51200 | | 102400 | | 25600 | 12800± | 12800± | 6400 | 6400± | 3200 | 6400± | Feb. 15 | | | | | |
| | | O | 200 | 51200 | | 25600 | | 51200 | | 12800 | | 102400 | | 25600 | | 6400 | 6400 | 6400 | 6400± | 3200 | 6400± | 3200 | 3200 | ## | | |
| | | P | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | ## |
| | | C | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | ## |
| 9 | Preventive Inoculation | A | 400± | 51200 | | 25600 | | 25500 | | 12800 | | 6400 | | 3200 | 1600 | 1600± | 800 | 400 | 800 | 800 | 800 | 800 | Feb. 13 | | | |
| | | O | 200± | 51200 | | 25600 | | 6400 | | 3200 | | 6400 | | 800 | | 400± | 800 | 400 | 800 | 400 | 800 | 400 | 400 | ## | | |
| | | P | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | + | ± | - | - | - | - | - | - | ## | | |
| | | C | - | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | | ## |
| 5 | Control | A | | 200 | | | 200 | 1600 | 1600 | 3200± | 3200± | 3200 | 6400 | 1600± | 1600± | 1600± | 1600± | 800 | 1600± | 3200 | 1600± | 1600 | 800 | 800 | 800 | |
| | | O | | 100 | | | 200 | 800± | 1600± | 1600± | 1600 | 1600 | 1600 | 1600 | 1600± | 1600± | 1600± | 800 | 1600± | 800± | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| | | P | | - | | | - | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## | ## |
| | | C | | - | | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| 7 | Control | A | | 200 | | | 200 | 800 | 800 | 1600 | 1600 | 1600 | 1600 | 1600 | 1600± | 1600± | 800± | 800 | 800 | 800 | 1600 | 800 | 800 | 800 | 800 | |
| | | O | | 100 | | | 200 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 800 | 1600± | 1600± | 800± | 800 | 800 | 800 | 800 | 400± | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| | | P | | - | | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| | | C | | - | | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| 10 | Control | A | | 100 | | | 100 | 200± | 200 | 400 | 800 | 800± | 800 | 800 | 400± | 400± | 200± | 400± | 400± | 200 | 200 | 100 | 100 | 100 | Aug. 9 | |
| | | O | | 50 | | | 50 | 200± | 200 | 200 | 200 | 200 | 800 | 800 | 800 | 400± | 400± | 200± | 200± | 200± | 200± | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | P | | - | | | - | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| | | C | | - | | | - | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |

Test infection: *S. abortus-equii* was administered perorally.

Note: A, O, P, C means Widal, O-Agglutinin, Precipitin and Complement-Fixing Antibody respectively.
P, -, or ± indicates negative or doubtful precipitate at 1:5 dilution of antigen.
+, ++, ## indicates positive precipitate at 1:5 ~ 1:20, 1:40 ~ 1:80, 1:160 dilution of antigen respectively.
C, -, or ± indicates complete or 75% hemolysis at 1:2 dilution of sera.
+, ++, ## indicates positive complement fixation at 1:2 ~ 1:4, 1:8 ~ 1:16 1:32 dilution of sera respectively,

又補結抗体は前者より更に遅れて15日で出現し、徐々に増強して34日で最高に達した。之等抗体の下降態度は夫々趣を異にし沈降素は最も急速に下降する傾向を示し、感染後23日で下降し始め54日で全く消失した。補結抗体は44日から下降し始め沈降素消失後もなお陽性反応を続けた。凝集素はその下降緩慢であつて感染前の價に却々復歸しない (Fig. 2)。

對照馬の内 No. 7 及び 10 は菌投與後 39°C 前後の暫時熱があり血像の動搖を現わしたが、臨床上特記すべき變化を認めず耐過したものであつて、極めて輕症に屬し野外では實際にこのような無症狀感染と見做し得る症例は多數に存在するものと推察される。この2例では凝集價の上昇も極めて輕微で最高 1:800~1:1600 に止まり、沈降素は No. 7 に於て感染後 9~39 日の間出現し、また No. 10 に於ては感染後 9~44 日の間弱陽性乃至疑

陽性を呈した。補結抗体は 2 例共沈降素に平行して弱陽性を呈したに過ぎない。

以上 2 例のように感染を極めて輕度に耐過したものは抗体の產生も甚だ微弱で出現後短期間に消失する傾向がある (Tab. 3, Fig. 3)。但し斯かる例では凝集價が低いにも拘らず、感染中期にはなお沈降素、補結抗体共に平行して證明されることは注目を要する。

次にワクチンを接種した4頭の幼駒であるが之等は3回の接種によつて3種抗体の產生は顯著である。4例共攻撃接種によつて發熱、血像の動搖が起り、特に No. 1 の如きは感染後 13 及び 21 日に流血中に菌を検出した。従つて之等の豫防接種馬は何れも感染發病したものと解するが、攻撃接種後特に抗体の増強は認められず、次第に下降する傾向を示した。凝集價の下降に伴つて他の抗体もその量を減ずる。沈降素は No. 9 の如き例で

Fig. 3. Foal No. 7.

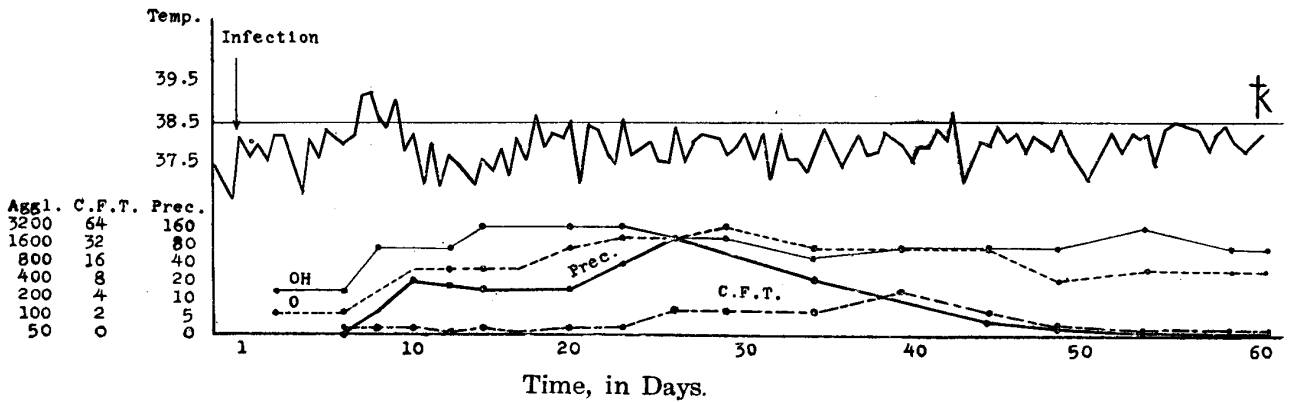
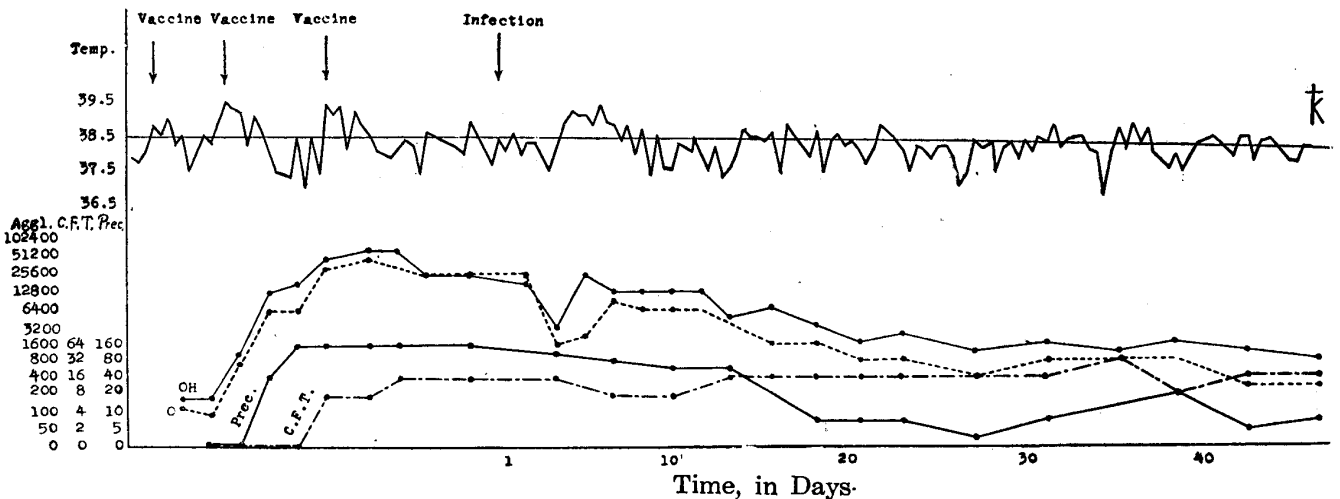


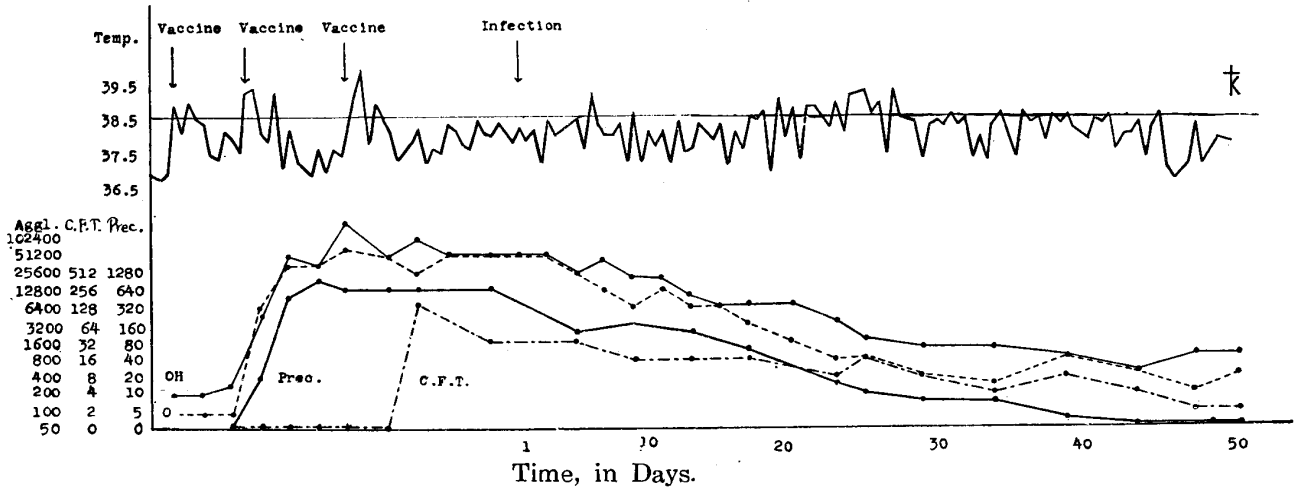
Fig. 4. Foal No. 2.



は全く消失したが他の3例(No. 1,2,4)は屠殺時まで陽性を続けた。之等4頭の体内菌分布検索の結果

果No. 9及びNo. 1は陰性又No. 2及びNo. 4では1, 2の淋巴節及び臓器に菌が検出された(Fig. 4, 5)。

Fig. 5. Foal No. 9.



小括：感染初期に於ける3種抗体の出現は一般に凝集素の出現に始まり、沈降素は之と同時に又はやや遅れ、補結抗体は更に遅れて出現する。各抗体の産生量は感染程度の軽重と平行し軽症のものでは抗体の産生量も微弱である。しかし感染中期に至ればたとえ凝集価は低くても沈降素補結抗体共に平行して出現する。恢復期諸症状の軽快と共に各抗体は下降し始め、特に沈降素の下降消失は最も速かに行われる。沈降素の消失した時期に屠殺した実験馬(No. 5, 7, 9)では体内菌分布は全く陰性を示し、屠殺時なお沈降素の残存した3例中2例(No. 2, 4)に於て1, 2の淋巴節及び臓器に馬流産菌を検出したことから沈降素の消失は体内に於ける菌の消失を意味するものの如く推察される。

IV. 馬パラチフス流行農村に於ける農馬の血清反應

檜山郡上の國村に昭和25年12月から馬の傳染性流産、鬚甲腫、睪丸炎、關節炎等の病馬が續出したため、同村では村内に於ける馬パラチフスの浸染状況を知るため26年2月一齊に全馬から採血し血清診断を當教室に依頼して來た。我々は之等519頭の馬血清に就て3種血清反應を実施し3種反應相互間の關係に就て検討を加えた。

先ず凝集價を各血清に就て測定し、沈降及び

補結反應を実施して各凝集價に對應する陽性反應數を第4表に掲げた。

凝集價に就て見ると1:200~1:400の低價を示す血清は2歳馬に最も多く、年齢の増加と共に1:800~1:1600程度の凝集價を有するものが多くなる。しかしながら1:3200以上の高凝集價を示したものは2歳馬が最も高率で19.3%を占め2歳馬に於ける感染率が他よりも高いことを示唆している。又流産馬は1:3200以上の凝集價を有するもの38.4%、現症馬(鬚甲腫、關節炎、睪丸炎)は40%であり、之等の多くのものが馬流産菌感染によるものであることを示している。ワクチン接種馬の55.9%は1:3200以上の凝集價を示した。

以上各詳を通じ凝集價と他の2反應の平行性を検討して見ると、1:6400以上では沈降素、補結抗体共にほぼ平行を示すが1:3200では他の2反應共陰性のもの9%を占め、1:1600では62.8%、1:800では78.1%と2反應陰性の數を増し、凝集價の低下と平行して沈降素、補結抗体の證明は困難となる。又1:3200から1:800に至る3段階の血清に就いて沈降素のみ證明された數は凝集價の低下と平行して17.9%から1.8%に減少したが、補結抗体のみ陽性の數は逆に4.5%から18.9%に増加した(Table 5)。

Table 4. Correspondence between 3 Reactions observed on Sera of almost all Horses in Kaminokuni Village Where Equine Paratyphoid is prevalent.

| Age Group and others | Reactions | No. of Sera showing positive Reactions at various Agglutinin Titres | | | | | | | | | Total |
|---|-----------|---|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|-------|
| | | 1:200 | 1:400 | 1:800 | 1:1600 | 1:3200 | 1:6400 | 1:12800 | 1:25600 | 1:51200 | |
| 2 | A | 7 | 24 | 13 | 2 | 5 | 2 | | 2 | 2 | 57 |
| | C | 0 | 3 | 2 | 2 | 4 | 2 | | 2 | 2 | 17 |
| | P | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 2 | | 2 | 2 | 12 |
| 3 | A | 1 | 6 | 15 | 9 | 1 | 1 | 1 | 1 | | 35 |
| | C | 0 | 1 | 5 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | | 15 |
| | P | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | | 8 |
| 4 | A | 2 | 6 | 19 | 11 | 3 | 2 | 1 | | | 44 |
| | C | 0 | 0 | 7 | 6 | 3 | 2 | 1 | | | 19 |
| | P | 0 | 0 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | | | 11 |
| 5 and over | A | | 26 | 102 | 106 | 35 | 7 | 2 | 1 | | 279 |
| | C | | 1 | 17 | 23 | 21 | 6 | 2 | 1 | | 71 |
| | P | | 0 | 3 | 19 | 26 | 7 | 2 | 1 | | 58 |
| Aborting Mares | A | | 6 | 9 | 25 | 13 | 5 | 2 | 5 | | 65 |
| | C | | 1 | 0 | 11 | 11 | 4 | 2 | 5 | | 33 |
| | P | | 0 | 0 | 9 | 12 | 5 | 2 | 5 | | 33 |
| Orchitis, Jointill, Fistura of Withers etc. | A | | | | 3 | 1 | 1 | | | | 5 |
| | C | | | | 3 | 1 | 1 | | | | 5 |
| | P | | | | 2 | 1 | 1 | | | | 4 |
| Vaccinated Mares | A | | 1 | 6 | 8 | 9 | 6 | 2 | 1 | 1 | 34 |
| | C | | 0 | 2 | 3 | 6 | 5 | 2 | 0 | 0 | 18 |
| | P | | 0 | 0 | 3 | 8 | 6 | 2 | 1 | 1 | 21 |
| Total | A | 10 | 69 | 164 | 164 | 67 | 24 | 8 | 10 | 3 | 519 |
| | C | 0 | 6 | 33 | 53 | 47 | 21 | 8 | 9 | 2 | 179 |
| | P | 0 | 0 | 5 | 5 | 56 | 24 | 8 | 10 | 3 | 147 |

Note: A, C, P means Agglutination, Complement Fixation and Precipitation respectively.

Table 5. The Lack of Correspondence between the Presence of Precipitins and Complement-fixing Antibodies at various Agglutinin Titres.

| Agglutinin Titre | C. F. and Prec. | | C. F. Positive and Prec. Negative | C. F. Negative and Prec. Positive | No. of Sera Examined |
|------------------|-----------------|---------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| | Both Positive | Both Negative | | | |
| 1:3200 | 46 (68.6%) | 6 (9.0%) | 3 (4.5%) | 12 (17.9%) | 67 |
| 1:1600 | 33 (20.1%) | 103 (62.8%) | 20 (12.2%) | 8 (4.9%) | 164 |
| 1:800 | 2 (1.2%) | 128 (78.1%) | 31 (18.9%) | 3 (1.8%) | 164 |

C. F. = Complement fixation.

小 括: 馬パラチフス流行農村の全馬から採血して血清反応を実施してみると、高凝集價を有するものが少ない。年齢別に見ると2歳馬が最も高率に高凝集價を示し、馬流産菌による感染率の高いことを示唆している。流産馬、現症馬(馬パラチフス症状)は高凝集價のものが高率であった。

1:6400以上の高凝集價を示す血清は沈降素補結抗体共にほぼ平行して陽性を示すが、1:3200以下では凝集價の低下と平行して2反応共陰性のものが増加する。凝集價の高低に拘わらず2反応が平行して陽性である場合は第III章に述べた実験馬に於ける各抗体の消長態度から見てこれを感染中期にあるものと推定し得るが、2反応共陰

性を示すような場合に就ては次章に於て考察を加えることとする。

V. 考 按

馬パラチフスの流行地である上の國村の農馬殆ど全部に就いて3種血清反應を調べた結果、血清診断によつて帶患の有無を判定することの容易ならざることを知つた。即ち凝集價に就て上の國村の農馬に於ける分布を見れば1:800~1:1600を示す馬の數は年齢の進むにつれて次第に増加し5歳以上の馬では208/279即ち74.6%に達する。之等の凝集價を有する馬は從來行われている判定標準に従えば疑似又は感染馬として判定される結果となる。從來馬流産菌の感染とその凝集價との關係に就ては充分な検討が行われて居らず、従つて現在診断の基準となつてゐる凝集價の限界に就ても慎重な吟味を必要とすることは言うまでもない。1:6400以上の高凝集價を有する馬血清は同時に沈降素や補結抗体もよく平行して證明され、實驗馬に就いて各抗体の消長態度を検索した成績から推してかかる3種抗体の出揃つてゐる状態は病氣がなお活動状態にあることを推定し得ると思ふ。

1:3200以下の凝集價になると次第に他の2反應の平行性が失われ、1:800~1:1600では他の2反應は大多數に於て陰性を示し、僅に一部のものが2反應共に陽性又は何れか一方のみ陽性反應を呈するに過ぎない。かかる自然材料に於ける3反應の現われ方を吟味するには實驗馬に於て觀察し得た各抗体の消長態度を參考する必要がある。即ち、人工感染馬(No. 5, 7, 10)の感染—發病—恢復の各期に就て之等抗体の消長態度を要約すれば、1. 感染初期には凝集價の上昇と殆ど同時又はやや遅れて沈降素が現われ、補結抗体の出現は多少遅れる傾向がある。2. 感染後2週以上を經過した感染中期には各抗体は出揃い、たとえ凝集價の上昇が1:800~1:1600に止まつても、沈降及び補結抗体は陽性を呈する。3. 恢復期には沈降素の下降消失が最も早く、補結抗体は之より遅れて消失するか或は低い抗体價を持続し、凝集價は下降はするが、感染前の値には却々復歸しない。

以上のような實驗馬の抗体消長態度から野外馬に於ける血清反應の成績を考究してみると、凝集價が1:800~1:1600であつても他の2反應が共に陽性又は何れか一方が陽性の場合にはそれらの個体は馬流産菌の活動期にあるか、少なくとも感染經過のある時期に該當するものと見做し度い。しかし他の2反應が共に陰性の場合には之を如何に解釋するかが問題となる。かかる例に對しては感染を耐過して凝集素のみ残存する状態とも解し得るし、又一方この程度の凝集價は個体差による正常凝集價の範圍と見做すことも可能であらう。

かくの如く凝集價のみを以てする血清診断法を以てすれば1:800~1:1600程度の價を有するものの判定に困惑せざるを得ない。之に反して多糖類性抗原を以てする沈降反應は病勢の推移に應じて鮮明な消長曲線を描き、感染から恢復までの時期的經過をある程度表現するものの如く見受けられる。即ち本抗体は感染初期には、凝集價の上昇とほぼ平行して出現し、感染中期には凝集價が1:800~1:1600に止まつても證明され、又恢復期には最も早く下降消失する。沈降素の消失した時期に馬を屠殺し、体内菌分布を検索した例では何れも保菌を證明し得ないのに反して、沈降素のなお證明される時期に体内菌分布を検索した場合は1, 2の淋巴腺又は臓器から菌を検出し得た。このことは沈降素の消長が体内に於ける菌の活動性と關連性を有することを窺わしめるものとする。検査の目的は現在その動物が傳染源となるか否かを決定することが主体であるから、診断法としては當然この目的に添う手技を選ばなければならない。之等の觀點からすると、沈降反應は凝集反應に比べ明かに利點を有するものと言ひ得る。既にTULASNE等²⁾はBOIVIN完全抗原を以てする沈降反應をチフス、パラチフスの診断に試み、本反應はWIDAL反應に比べ臨床及び細菌學的所見によりよく適合するものとしてその診断價値を認めてゐる。我々の得た成績はTULASNE等の見解にほぼ一致するものである。

以上の結果から我々は多糖類性抗原を以てする沈降反應は馬パラチフスの血清診断上實用價値を有することを提唱し度い。

VI. 總 括

幼駒パラチフス症のモデルとして生後6~7ヶ月の幼駒に馬流産菌を微量経口投與し、症状に輕重の差はあるが全例に感染を成立せしめ得た。之等の實驗例に就て感染—發症—恢復の全経過を逐日的に採血し凝集素、沈降素、補結抗体の消長を追及し本症の血清學的診斷に對する基礎知見を得ようと試みた。又本症の流行—農村の殆ど全馬から採血し3種血清反應を實施して實驗例に於ける各抗体の消長態度から野外馬血清の反應結果に對し檢討を加えた。

以上の成績を要約すれば次の如くである。

1. 感染初期に於ける3種抗体の出現状態は、凝集價の上昇と同時に又はやや遅れて沈降素が現われ補結抗体は前者より遅れて出現する(第3表、第2~5圖)。

2. 感染中期に達すれば3種抗体は平行して出現し最高値を示す。但し抗体價は症状の輕重に關係があり、輕度發病例に於ては抗体價も低弱である(第3表)。

3. 恢復期には各抗体價は何れも下降し始めるが、沈降素の降下消失は最も早く、補結抗体は沈降素より遅れて消失し又は低價を持続する。凝集價は次第に下降するが感染前の價には却々復歸しない(第3表、第2~5圖)。

4. 屠殺時沈降反應陰性の馬体内からは馬流産菌を検出し得ないのに反して、屠殺時なお沈降反應陽性を持続した3例中2例に於て1,2の淋巴節及び臓器から菌を検出した(第2表)。

5. 馬パラチフス流行農村上の國村の全馬に就て3種血清反應を實施した結果1:3200以上の高凝集價を示したものは2歳馬に於て最も高率であつたが、1:800~1:1600程度の凝集價を示す馬は年齢と平行して増加し5歳以上の馬では74.6%が同上凝集價を示した(第4表)。

6. 1:6400以上の凝集價を有する血清は他の2反應もよく平行して高い抗体價を示し、病氣がなお活動性の状態にあるものと推定される(第4表)。

7. 1:3200以下の凝集價を示す血清では他の2反應の平行性が凝集價の低下と平行して失われ1:800~1:1600では過半数が2反應共陰性である。かかる現象の成因に就ては更に今後の検討を必要とする(第5表)。

以上の事實から馬パラチフスの血清學的診斷に當つて凝集反應をその手段とすれば、1:800~1:1600程度の凝集價を如何に判定するか頗る困難性を感じる。之に反して多糖類抗原を以てする沈降反應は感染—發病—恢復の経過に應じてその消長が鮮明であつて、恢復と共に沈降素は消失する傾向を示す。沈降反應が陽性であることは感染から恢復までの何れかの時期に該當するものと見做すことが出来よう。従つて沈降反應は凝集、補結反應よりも利點を有し、馬パラチフス診斷の一手段たり得るものと考えらる。

本研究は文部省科學試驗研究費によつたものである。記して謝意を表す。なおペーパークロマトグラフ分析法に御援助を頂いた札幌醫大細菌學教室佐々木禎一氏に謹謝する。

文 献

- 1) 淺見：豚コレラ菌毒性物質の研究I. 糖脂体に就て、日本獸醫學雜誌, 5, 499(1943).
- 2) ANDO, K. & Y. NAKAMURA: Studies on the Vi antigen of typhoid bacilli IV. A new type of antityphoid vaccine. *Japan. J. Exp. Med.*, 2', 149 (1951).
- 3) TULASNE, R. et M. A. KUHLMAN: Etude des précipitines dans la fièvre typhoïde a l'aide d'antigènes purifiés. *Rev. Imm.*, 5, 299(1939).

Résumé

Equine paratyphoid is still prevalent in Hokkaido. Agglutination Reaction is most widely used method of diagnosis, however, its interpretation in relation to the titre that may be observed is often difficult because of frequent presence of animals showing the intermediate titre such as 1:800~1:1600. The present standard of titre is considered to be positive at 1:1280 and suspicious at 1:640. Owing to differences in technique, the titre of different laboratories may not be identical. Thus diagnosis by agglutination test is not easy.

The present authors carried out the following described experiments to gain some information on the present status of the diagnosis of this disease.

Salm. abortus-equi with a dose of 7.3 million bacilli was administered perorally into 8 foals aging 6~7 months (except one foal, 19 months old). All of them were infected and some animals showed typical symptoms and some slight. One foal died of sepsis 13 days after infection. Throughout the course of the sickness, initial stage—evolution of disease—, convalescence, the rise and fall of agglutinins, precipitins and complement-fixing antibodies were observed. Furthermore blood samples were taken from almost all horses in the village of Kaminokuni where equine paratyphoid is prevalent, and the above three serum reactions were observed on these 519 sera.

The results may be summarized as follows:

1. At an initial stage of infection precipitin appears a little later or simultaneously with agglutinin and complement-fixing antibody rises later than the former (Tab. 3, Fig. 2~5).
2. In the developing stage of infection the titres of the three kinds of antibodies rise to a maximum which is usually attained between the 14th and 25th day after inoculation. However, the amount of antibody produced in response to infection varies with the slightness or severity of the symptoms. Usually the titre is low when the symptoms are slight (Tab. 3).
3. In the convalescent stage, the antibodies begin to fall. The precipitin falls most rapidly and disappears very soon. The complement-fixing antibody disappears later than the former or persists with a low titre. The agglutinin falls gradually but does not return to the titre of pre-infection (Tab. 3, Fig. 2~5).
4. It should be noted that the abortion bacilli could not be detected from the foals slaughtered when precipitin titre sunk to zero. On the contrary, the bacilli were detected from a mesenteric lymph nodules and kidney of two foals out of three which were killed when precipitin still persisted (Tab. 2).
5. The authors carried out the above three tests with 519 sera of horses in Kaminokuni Village where equine paratyphoid is prevalent. The number of animals that possess agglutinin titre higher than 1:3200 is largest in an age group of 2 years. However, the proportion of the animals that possess intermediate titre of 1:800~1:1600 increases with increasing age. At an age group of 5 years and over, this proportion had risen to 74.6 per cent (Tab. 4).
6. When an agglutinin titre is 1:6400 or over, the other two serum reactions show also high titre. In these animals, the infection seems to be still in active stage (Tab. 4).
7. The discrepancy between the three serum reactions increases with the fall of agglutinin titre. At a titre of 1:800~1:1600, the majority of horses sera showed negative precipitation and complement fixation test (Tab. 5).

From the above mentioned data, a titre of 1:6400 or over is rarely met with except as the result of an active infection and it is usually regarded as evidence of equine paratyphoid. However, in many cases possessing low titres less than 1:3200, the discrepancy between the 3 tests increases with the fall of agglutinin titre. Because of the lack of acceptable agglutinin titre standard which determines the diagnoses of active infection, it is impossible to arrive at a diagnosis when an agglutinin titre shows an intermediate value such as 1:800~1:1600.

On the other hand, the rise and fall of precipitin reacting with bacterial polysaccharide antigen is very clear through the course of the disease and it seems very probable, when precipitins are absent, that the animal bodies are free from the infecting organism. So that the present authors are inclined to diagnose that the animals are still in active infection with *Salm. abortus-equi* when precipitins are present.