

# 病原性プラスミド保有 *Yersinia enterocolitica* の スライド凝集反応による検出

山口県衛生公害研究センター  
富田正章・松崎静枝・片山 淳  
遠藤隆二

## Detection of Virulence Plasmid-Harboring *Yersinia enterocolitica* Isolates by a Slide Agglutination Test

Masaaki TOMITA, Sizue MATSUSAKI, Atsushi KATAYAMA, Ryuji ENDO

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health

はじめに

前報<sup>1)</sup>においてKanekoら<sup>2)</sup>の検出法を改良した酵素抗体法による病原性 *Yersinia enterocolitica* の検出法について報告した。

この方法は、病原性プラスミドを保有する *Y. enterocolitica* が 37°C で培養された時に放出する外膜蛋白の検出にある。

Soryらは<sup>3)</sup>病原性プラスミド保有 *Y. enterocolitica* が産生する外膜蛋白に対する抗血清を用いて、病原性株と非病原性株をスライド凝集反応によって鑑別する方法を報告している。

酵素抗体法もスライド凝集反応もプラスミド依存性外膜蛋白を検出する方法であり、*Y. enterocolitica* と *Yersinia pseudotuberculosis* の外膜蛋白は免疫学的に交差性のあることが報告<sup>4~6)</sup>されていることから、前報<sup>1)</sup>で作製した *Y. pseudotuberculosis* の外膜蛋白の抗血清を用いてスライド凝集反応による病原性 *Y. enterocolitica* の検出について検討した。

### 材料と方法

菌株：被検菌株としてブタの腸内容物及び他県の食中毒事例等から分離された142株の *Y. enterocolitica* を用いた。

自発凝集性試験、カルシウム依存性試験、プラスミドDNAの検出：いずれも前報<sup>1)</sup>と同じ方法で実施した。

スライド凝集反応：トリプトソイ寒天培地で25°Cまたは37°Cで一晩培養した菌体1白金耳量と *Y. pseudotuberculosis* (血清型O:2b) を用いて前報<sup>1)</sup>と同様の方法で作製した抗血清をガラス板上で混合し、1分以内

に凝集したものを陽性と判定した。

### 結果及び考察

結果はTable 1 に示すようにトリプトソイ寒天培地に37°Cで培養したプラスミド保有株(カルシウム依存性試験陽性、自発凝集性試験陽性)のみが抗血清と凝集し、プラスミド非保有株(カルシウム依存性試験陰性、自発凝集性試験陰性)は凝集しなかった。また、プラスミド保有株であっても25°Cで培養した菌株は凝集しなかった。

病原性のあるものは、特定の血清型に偏っていることが知られており、我が国では血清型O:3, O:5, O:8, O:9が分離されている。*Y. enterocolitica* の病原性を判定するには血清型のみでは不十分であり、スライド凝集反応を取り入れることにより病原性 *Y. enterocolitica* の検出が迅速に行えると考えられる。

Soryらは<sup>3)</sup> *Y. enterocolitica* の外膜蛋白の一つであるP1に対する抗血清を用いたスライド凝集反応による病原性 *Y. enterocolitica* の検出について詳細に検討している。それによると、*Y. enterocolitica* のP1はA, B, C, D, E, Fの6種類の因子からなり、それぞれ血清型及び生物型により因子の構成が異なることを報告している。

今回、前報<sup>1)</sup>の酵素抗体法に使用した *Y. pseudotuberculosis* の抗血清でスライド凝集反応を検討したところ、用いた病原性株のいずれとも凝集反応が認められ、病原性株の検出に有効であった。

スライド凝集反応試験は酵素抗体法に比べて特別な機器が不要で、簡単に短時間に判定できることから、病原性 *Y. enterocolitica* の検出に役立つものと思われる。

今後は、*Y. pseudotuberculosis*と*Y. enterocolitica*に共通して産生される凝集性に関与する外膜蛋白が、どのような性状を有するのかは明らかでないので、これらの解析を進めていく必要がある。

Table 1 Results of slide agglutination test and virulence-plasmid associated properties of *Y. enterocolitica* used<sup>a)</sup>

Serogroup	Biogroup	No. of strains tested	Slide agglutination	Plasmid (about 70 Kb)	CAD <sup>b)</sup>	Autoagglutination
O : 3	3B	4	+	+	+	+
	3B	2	-	-	-	+
	4	35	+	+	+	-
	4	12	-	-	-	-
O : 5	1	23	-	-	-	+
	2	2	+	+	+	-
	2	2	-	-	-	-
O : 8	1	1	+	+	+	+
	1	2	-	-	-	-
O : 9	2	2	+	+	+	+
	2	2	-	-	-	-
Others	1	55	-	-	-	-

a) : The strains used were grown at 37°C TSA plates.

b) : Calcium dependency.

## 要 約

*Y. pseudotuberculosis*菌体外膜蛋白のマウス抗血清を用いたスライド凝集反応による*Y. enterocolitica*の病原性株と非病原性株の鑑別法を検討した。病原性プラスミド保有*Y. enterocolitica*のみが抗血清と反応したことから、本法は病原性*Y. enterocolitica*の迅速な確認方法と考えられる。

## 謝 辞

貴重な菌株の分与を頂いた島根県衛生公害研究所の福島博博士に深謝します。

## 文 献

- 1) 富田正章ほか：山口衛公研業報, 13, 11~14 (1992)
- 2) Kaneko, S., Maruyama, T. : J. Clin. Microbiol. 27, 748~751 (1989)
- 3) Sory, M-P. et al : J. Clin. Microbiol. 28, 2403~2408 (1990)
- 4) Bolin, I. et al : Infect. Immun. 48, 234-240 (1985)
- 5) Heesemann, J. et al : Infect. Immun. 54, 561-567 (1986)
- 6) Weninger, J. et al : Med. Microbiol. Immunol. 178, 45-51 (1989)