

原 著

日本, オランダおよびセイロン由来の
人型結核菌のファージ感受性

水口康雄・丸山米夫・須賀清子
室橋豊穂

国立予防衛生研究所結核部

受付 昭和48年2月19日

COMPARISON OF PHAGE SUSCEPTIBILITY OF *MYCOBACTERIUM*
TUBERCULOSIS ISOLATED FROM PATIENTS IN
JAPAN, NETHERLAND AND CEYLON*

Yasuo MIZUGUCHI, Yoneo MARUYAMA, Kiyoko SUGA and Toyoho MUROHASHI

(Received for publication February 19, 1973)

An investigation of the distribution of bacteriophage susceptibilities was carried out by using 99 strains of *M. tuberculosis* isolated from patients with pulmonary tuberculosis in Japan, 99 strains obtained from Netherland and 54 strains obtained from Ceylon.

Phage susceptibilities were tested by spotting phage suspensions of routine test dilution (RTD) and 10 x RTD on the lawn of mycobacteria. The name of the phages employed and the number of plaque forming unit being contained in RTD of each phage were shown in Table 1.

All of the 11 mycobacteriophages (DS6A, AG1, BK1, BG1, GS4E, PH, Clark, Legendre, Sedge, DNA III8, and D34) were employed in the case of Japanese and Netherland strains. The results obtained were as follows (Table 2): All strains except 3 were susceptible to DS6A and AG1. These 3 exceptional strains were resistant to all phages even by the spotting of 10 x RTD. Number of strains susceptible to D34 was 4 in Japanese strains and 2 in Netherland strains. Susceptibility of Netherland strains to the remaining 8 phages were generally higher than that of Japanese strains (Table 3). For instance, the number of strains susceptible to all phages except D34 by RTD was 18 in Japanese strains and 34 in Netherland strains. Forty one Japanese strains and 11 Netherland strains were susceptible only to DS6A and AG1 by RTD. However, when 10 x RTD phage suspensions were employed for spotting, most of them showed susceptibility to one or more phages in addition to DS6A and AG1. Especially, in the case of BK1 and BG1, marked differences in the number of strains lysed by 10 x RTD and by RTD were noted (Table 3). In this case, a possibility of nonspecific growth inhibition by concentrated phage particles was excluded, since the number of plaque forming units being contained in one drop of 10 x RTD ranged from about 10^2 to 5×10^4 . Therefore, this phenomenon indicates that there are many strains which show intermediate susceptibility against these phages.

* From the Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki, Shinagawa, Tokyo 141 Japan.

Phage susceptibility patterns of the 54 Ceylon strains against DS6A, BK1, PH and D34 were shown in Table 4. In general, they were more susceptible to those phages than Japanese and Netherland strains: 87% were BK1 sensitive, 68% were PH sensitive, and 8% were D34 sensitive by the spotting of RTD.

Distribution of bacteriophage types of these strains was compared using the scheme proposed by Bates and Fitzhugh. The distribution of Type A, B and C in Japan and in Netherland was almost the same. On the contrary, significant difference was observed between Japanese and Ceylon strains in the distribution of phage types (Table 5).

Based on the results obtained, we thought that the following conditions should be taken into account in the selection of a typing phage set of *M. tuberculosis*: (1) select the phages which render a clear cut, easily detectable lysis; (2) select the phages which lyse similar number of strains by the use of both 10 x RTD and RTD; (3) select the phages which do not lyse too many strains: i. e. those which lyse approximately 10 to 20% of strains are preferable; (4) select the phages the lytic pattern of which overlap each other as little as possible; (5) select the phages so as to make the distribution of strains of certain phage types evenly and minimize the number of untypable strains.

It was found that the mycobacteriophages employed in this study do not necessarily satisfy the above mentioned conditions, although it was possible to subdivide *M. tuberculosis* strains to a certain extent.

緒 言

人型結核菌をファージ感受性の違いに基づいて分類しようというファージ型別の試みは、他の生物学的、生化学的方法によつては人型菌を分類できないために、ミコバクテリア属全体のファージ型別の中でも主要な研究課題になるであろうことを 1964 年に徳永¹⁾が述べているが、その後実際に人型結核菌の菌株によつて異なつた感受性を示すファージがいくつか発見、分離され、それらを用いてタイピングを行つた成績が Bates ら²⁾³⁾、Baess⁴⁾、徳永⁵⁾、北原⁶⁾などによつて報告されてい

る。一方ミコバクテリアのファージ型別に関するワーキンググループが世界的な規模で組織され、これまでの5回にわたる会議によつて人型結核菌のファージ型別の方法論が徐々にではあるが確立されてきつつある。

このような背景のもとで、われわれは 99 株の日本国内分離株と、同じく 99 株のオランダより送付された株および 54 株のセイロン由来の結核菌株の 11 種のファージに対する感受性を検討したのでその成績を報告し、あわせて人型結核菌のファージ型別の現時点での問題点について考察を行う。

Table 1. Mycobacteriophages Employed

Phage	Host strain	RTD conc. /ml	Isolated by
DS 6 A	<i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	6×10^4	W. B. Redmond
GS 4 E	"	2×10^3	"
DNA III 8	"	1×10^4	E. Mankiewicz
PH	"	7×10^3	K. Sushida
AG 1	<i>M. kansasii</i> AT 7	1×10^3	W. B. Redmond
BG 1	<i>M. sp.</i> MC 153	1×10^3	"
D 34	<i>M. sp.</i> F 130	3×10^4	S. Froman
BK 1	<i>M. smegmatis</i> ATCC 607	1×10^4	I. Baess
Clark	"	3×10^5	E. Mankiewicz
Legendre	"	3×10^5	"
Sedge	"	4×10^5	"

材料と方法

培地：宿主菌が発育の早い非病原性のミコバクテリアの場合、ファージ増殖などのための液体培地にはトリプトソイブイオン(栄研)を、また RTD 濃度決定のための力価測定用の固型培地としては、上記トリプトソイブイオンに1.5%ならびに0.6%に寒天を加えた2種類の培地を用いた。また宿主菌が発育の遅いミコバクテリアの場合のファージ増殖および力価測定、また人型菌のファージ感受性試験の場合には RVA⁷⁾ 培地を用いた。なおタイピングの際の被検菌株の前培養には Middlebrook の 7H9 培地 (ADC enrichment 加, Difco) を用いた。

ファージおよび宿主菌：用いたファージは PH を除いてオランダから凍結乾燥して送られたもので、その名称、由来、宿主菌および routine test dilution (RTD) 濃度中に含まれるファージ粒子数を表1に示した。このうち PH⁸⁾ を除く 10 種のファージは上記ワーキンググループで共同実験中のものである。ファージの増殖は通気培養法もしくは平板法で行った。

ファージ感受性試験：第4回ワーキンググループで合意のみられた方法によった。すなわち被検結核菌を比較的大量 7H9 培地に接種し 5~7 日間増殖させたのち、その約 1 ml を十分に表面を乾燥させた RVA プレート上に均等に広げた。10分ほど放置して菌を寒天培地に吸

Table 2. Lytic Patterns of Tubercle Bacilli Isolated in Japan and in Netherland by the RTD Spot Method

Phage											No. of strains	
DS6 A	AG1	BK1	BG1	PH	GS4E	Clark	Sedge	Legendre	DNA III8	D34	Japan	Netherland
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	18	34
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	
+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+		1
+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	1	
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	1	
+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	1	1
+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	1	
+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	1	
+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	1	
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2	1
+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	1	
+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	1	
+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1	
+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-		2
+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-		1
+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-		2
+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	2	15
+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	1	2
+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-		2
+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-		4
+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-		1
+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-		1
+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1	1
+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	1	2
+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-		1
+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-		1
+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	4	2
+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-		11
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	12	1
+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	4	1
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41	11
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Totals											99	99

い取らせたあと、余分の菌液を除去した。そのまま 24 時間放置したのち、半流動寒天を重層することなしにあらかじめ力価を測定し RTD 濃度に調製したファージ液、およびその 10 倍濃度のファージ液を約 1/100 ml 量 スポットした。1 枚のプレート当り 5~6 種のファージをスポットし、以後 37°C で培養を続け溶菌の有無を観察した。最終判定は溶菌域の広さやその程度がそれ以上変化しなくなつたとき、通常 10~14 日目に行つた。実験ごとに必ず宿主菌を対照として用い、RTD 濃度のスポットによつて完全溶菌が起ることを確かめた。溶菌の程度の判定には完全溶菌をⅢ、それよりやや溶菌程度が低いものを不完全溶菌Ⅱ、さらに溶菌程度が低くブランクが独立してみえるものを十、溶菌の認められないものを一としたが、溶菌の程度によつて 3 段階に分けて成績をまとめると、パターンをひどく複雑にするので、本報告においては十~Ⅲを一括して十とした。また感受性テストは 2 枚のプレートについて行つたので、一方で溶菌が認められ一方で溶菌が認められない場合でも、明らかにそれが溶菌によるもので非特異的な発育阻止斑ではないと判定されたものは十とした。

被検菌株：タイピングに使用した人型菌は日本国内分離株 99 株、オランダ株 99 株、セイロン株 54 株である。このうち国内分離株は国立公衆衛生院の川村達博士より分与を受けたもので、療研共同研究に使用された菌株の一部であり、そのうち 35 株は昭和 41 年に全国より集められた新入院患者よりの分離菌、残りは昭和 45~46 年にかけて集められた重症難治患者よりの分離菌である。オランダ株はワーキンググループの共同研究用として送られたもの、またセイロン株は結核の base line survey の際に分離されて WHO の reference laboratory としての当研究所に昭和 46 年に送られてきた菌株である。

成 績

I. 日本株およびオランダ株のファージ感受性

表 1 に示した 11 種のファージの RTD 濃度のスポットに対する日本株とオランダ株の感受性のパターンをまとめて表 2 に示した。また表 3 は RTD と 10 倍 RTD の 2 段階濃度のファージをスポットした場合、それぞれのファージが何株の菌を溶菌したかを示したものであ

る。このうち RTD 濃度で得られた成績から DS6A と AG1 の両ファージには日本株は 2 株を除いて、またオランダ株は 1 株以外はすべて感受性を示すこと、しかも溶菌の程度はそのほとんどが完全溶菌かそれに近いものであることが知られた。一方 D34 に感受性を示す菌は逆に日本株では 4 株、オランダ株では 2 株のみであつた。それ以外のファージの RTD 濃度のスポットに対しては BK1 を除いて日本株とオランダ株で感受性の分布に大きな差がみられた。すなわち表 3 において RTD 濃度で溶菌された菌株数を比較すると、たとえば Clark ファージにおいては、日本株では 30 株が感受性を示すにすぎなかつたがオランダ株は 84 株が感受性であり、DNA III 8 に対しては日本株は 25 株、オランダ株は 59 株がそれぞれ感受性であるなど、全体として日本株に比しオランダ株のほうが、感受性の菌株数が多かつた。

表 2 に示したパターンから、被検菌株をいくつかのファージタイプにまとめることは、のちに述べるように必ずしも簡単ではないが、そのうち D34 を除いたすべてのファージに感受性を示す菌は、これを 1 つのタイプとしてまとめて考えることが可能であるように思われる。このタイプに属する菌はこれらファージの RTD 濃度のスポットにはほぼ完全溶菌を示す高感受性のもので、H₃₇Ra, H₃₇Rv はファージタイプとしてはこのグループに属する。なお Bates ら³⁾ の分類による Type B に属する菌の大部分はこのグループに入るものと思われる。また日本株の場合、昭和 41 年分離株 35 株中このタイプに属するものは 4 株 (約 11%)、昭和 46 年分離株の場合は 64 株中 14 株 (約 22%) であつた。次に D34 ファージ感受性グループがある。このグループに属する菌は日本株では 4 株、オランダ株では 2 株であるが、のちに述べるように D34 ファージ感受性は Bates ら²⁾、北原ら⁶⁾ においては重要なマーカーであり、後者においてはこのグループがさらに 2 つのタイプに分かれることになる。またすべてのファージに感受性を示さない菌がオランダ株に 1 株、日本株に 2 株存在したが、このうちオランダ株はナイアシン陰性であり人型菌ではないものと思われた。このようにすべてのファージ (特に DS6A) に感受性を示さない菌については、この菌が人型菌であることを確認する必要がある。以上にあげた以外の菌株

Table 3. Number of Strains Lysed by 10×RTD and RTD Spot Method

		Phage										
		DS6A	AG1	BK1	BG1	GS4E	PH	Clark	Sedge	Legendre	DNAIII8	D34
Japanese strain	10×RTD	97	97	88	66	27	25	32	26	26	28	5
	RTD	97	97	41	28	25	25	30	22	22	25	4
Dutch strain	10×RTD	98	98	61	70	46	46	93	71	64	67	3
	RTD	98	98	40	44	36	40	84	64	59	59	2

Table 4. Lytic Patterns of Tubercle Bacilli Isolated in Ceylon

Phage				No. of strains
DS6 A	BK1	PH	D34	
+	+	+	-	33
+	+	-	-	11
+	-	+	-	1
+	+	+	+	3
+	-	-	+	1
+	-	-	-	5
Total				54

について溶菌のパターンからこれをいくつかのタイプにまとめるためにはさらに検討を要するが、その理由は溶菌のパターンが

非常に多様であること、また中間的な感受性を示すために再現性の点で問題がある菌株がこの中に多いからである。たとえば BK1 および BG1 ファージの場合、表3に示したように10倍 RTD と1倍 RTD による感受性菌数の差が著明であるが、RTD で溶菌がみられず10倍 RTD で溶菌のみられた菌株のほとんどすべて、また2枚のプレートで異なる成績を示した菌株の大部分はこの中に含まれていた。

II セイロン株のファージ感受性

セイロン由来の株に関しては、11種のファージのうち DS6A, BK1, PH, D34 のみを用いた。その結果を表4に示したが、全体としてこれらのファージに対する感受性の菌の比率が高く、DS6A は別として、BK1 ファージの場合、RTD 濃度では87%、10倍 RTD 濃度では100%が感受性であった。PH ファージにおいても RTD で68%が、10倍 RTD で85%がそれぞれ感受性を示し、D34 感受性菌も RTD で54株中4株(7%)とやや多いように思われた。

III Bates らの分類方式による3ヵ国由来の菌株の感受性の分布の比較

Bates ら⁹⁾ は人型結核菌を DS6A, GS4E (または BK1) および D34 の3種のファージに対する感受性で分類している。彼らの方式に従って日本株、オランダ株、セイロン株を分類した結果を表5に示した。この方式によると、日本株とオランダ株の場合、それぞれのタイプに属する菌株数のパーセントはほとんど一致することがわかる。それに比べてセイロン株では type A が非常に少なく type B が圧倒的多数を占めており、この間には有意の差がみられることがわかった。なお彼らの分類ではみられない型、すなわち BK1 非感受性で D34 感受性の菌がそれぞれわずかではあるが認められた。

IV. 適応ファージ応用の可能性について

チフス菌においては Vi ファージのように宿主適応に

Table 5. Distribution of Bacteriophage Types* of Tubercle Bacilli Isolated from Patients in Japan, Netherland and Ceylon

Type	Phage			No. of strains		
	DS6A	BK1	D34	Japan	Netherland	Ceylon
A	+	-	-	55 (55.6%)	57 (57.5%)	6 (11.1%)
B	+	+	-	38 (38.4%)	39 (39.3%)	44 (81.4%)
C	+	+	+	3	1	3
Others	+	-	+	1	1	1
	-	-	-	2	1	0
Total				99	99	54

* According to the scheme of J. H. Bates and J. K. Fitzhugh²⁾

よる単一ファージ由来のものを用いてタイプングが行われている。人型菌のタイプングにおいてそのようなファージを得ることが可能であるか否かを確かめるため、GS4E ファージを用いてこのファージに対し感受性のごく低い BCG および H₂ 株⁹⁾ を高度に溶菌する適応ファージを得、セイロン株を用いて感受性を調べてみた。対照として GS4E ファージの原株を用いたが、同一濃度のファージスポットにより、原株は54株中29株を溶菌したのに対し、適応を行った GS4E は両者とも全株を溶菌し、少なくとも GS4E に関しては適応ファージを応用しうる可能性はないものと考えられた。

考 察

11種のファージを用いて人型結核菌のファージ感受性を検討した。これらのファージのうち DS6A と AG1 ファージは人型菌のほとんどの株を溶菌することが知られた。一方 D34 ファージについては日本株99株中4株、オランダ株99株中2株、セイロン株54株中4株と地域によつてわずかな差は認められたが、いずれも感受性を示す菌株は少ないことが知られた。それ以外のファージに対する感受性菌株の比率は、その菌株の分離された上述の国別によつて相当な差の認められるものがあつた。たとえば BK1 ファージでは RTD 濃度で日本株の場合、41%が感受性、オランダ株は40%、セイロン株は87%がそれぞれ感受性、PH ファージでは日本株25%、オランダ株40%、セイロン株68%、GS4E ファージは日本株25%、オランダ株36%、セイロン株54%、Clark ファージでは日本株30%、オランダ株84%などであつた。すなわち全体として日本株は感受性の低いものが多く、オランダ株がそれに次ぎ、セイロン株は感受性の高いものが多かつた。成績のⅢの項で Bates らの方式で分類した場合、日本株とオランダ株の間で感受性の分布に差がなかつた理由は、たまたま BK1 ファージに

対する感受性の菌株数が一致していたことから起つたもので、たとえば表2に示したように D34 以外のすべてのフェージに感受性を示す菌株数は日本株 18 株、オランダ株 34 株で後者がほぼ 2 倍近い値を示しており、Clark, Sedge, Legendre, DNA III 8 フェージなどに対する感受性菌株もオランダ株のほうが明らかに多かつた。このように地域によつてフェージ感受性の分布が異なることはすでに Bates ら⁹⁾も認めて報告している。

これらの成績を参考にして、人型結核菌のタイピングに用いるフェージとして望ましい条件を考えてみると、個々のフェージにおいては、(1) 溶菌斑が鮮明で、判定の日までの培養日数の多少の違いや、判定者の主観によつて結果が左右されないもの。(2) そのフェージに対し中間的な感受性を示すような菌株がないか非常に少ないこと。(3) 被検菌株のあまり多くを溶かさなないもの。などが考えられる。まず (1) であるが、本研究で用いたフェージは多くの場合、溶菌の有無の判定は比較的容易であつたが、時に Legendre, Sedge, Clark の 3 種のフェージにおいては、不鮮明な溶菌斑もしくはブラックがみられる場合があつた。判定の困難さはむしろ一般的に被検菌の発育により依存し、RVA 培地上での発育が非常に遅い菌においてはすべてのフェージにおいて溶菌の有無を判定することが困難であつた。次に (2) であるが、日常に行う方法としてのタイピングを考えた場合、今回行つたような 1 フェージ 2 段階濃度スポット法は時間や材料の面から考えてあまり望ましくなく、RTD 1 段階のスポットのみで成績を判定するべきであろう。その場合スポットされる小滴中に含まれるフェージ粒子の数が問題になる。仮に 100 コ前後のものを考えた場合 (たとえば BK1, PH 等)、もし被検菌のそのフェージに対するプレート効率が $1 \sim 10^{-1}$ 前後であれば、そこに溶菌斑またはブラックが生じ、 10^{-8} 以下であれば溶菌はほとんどみられないし、もし 10^{-2} 前後であれば、スポットした部位に平均 1 コのブラックが生じることになる。したがつてある場合には感受性あり、ある場合には感受性なしと判定されるようになる。成績の項で述べたように、2 枚のプレート間で異なつた成績を示したものの多くや、10 倍 RTD で溶菌され、RTD で溶菌がみられなかつたものは、このような菌とフェージの関係を持つた場合であろうと思われる。そもそもフェージタイピングにおいて高濃度のフェージ液をスポットしない理由は、真の溶菌でない非特異的な溶菌斑様の菌の発育阻止帯を作らせないためと、まれに存在する宿主域変異フェージによる溶菌の可能性を除くためである。ミコバクテリアにおいても、溶菌-フェージ増殖を伴わないで致死的に作用するフェージ・宿主の系が存在することはすでに報告されている⁹⁾。しかし RTD 濃度を表1に示したように設定すると、その 10 倍濃度を仮にスポットしたとしてもそ

こで起る発育阻止帯はそのほとんどすべてが真の溶菌によるものである。したがつてタイピングフェージとしては 10 倍 RTD と RTD 濃度における感受性菌株数の差がほとんどないもの、いいかえるとスポットされるフェージ粒子数に多少の変動があつても溶菌されるものとされないものがはつきり分かれるようなものが望ましい。この点から考えると BK1 や BG1 フェージは RTD 濃度として表1に示したような濃度を使用する限りにおいてはあまり望ましくないといえる。ただしあるフェージに対する菌株の感受性の分布はさきに述べたように地域によつて相当に異なつており、BK1 フェージにおいては、10 倍 RTD と RTD による溶菌菌株数の差は 49 株であつたが、オランダ株では 21 株であり、Baess⁴⁾によるとデンマーク株では 205 の被検菌株のうち 10 倍 RTD 濃度相当のフェージスポットで溶菌 62 株、RTD での溶菌 57 株でわずかに 5 株の差しかみられていない。また GS4E フェージの場合、日本株ではその差は 2 株のみであつたが、オランダ株は 10 株の差があつた。したがつてタイピングフェージとしてあるフェージが適当か否か、またどの程度のフェージをスポットすれば非特異的な溶菌斑様の発育阻止斑の出現が避けられ、かつ再現性のある結果が得られるかを知るには、多数の菌株を用いて種々の濃度のフェージをスポットし、感受性の分布を検討する必要があるように思われる。(3)の条件についてであるが、用いたフェージのうち DS6A や AG1 のようにほとんどすべての菌を溶菌するようなフェージをタイピングフェージとして用いるのはあまり意味がなく、いくつかのフェージをセットとして用いることを考えると、理想的には被検菌の 10~20% 前後を溶菌するようなものが望ましい。ただし DS6A フェージは人型または牛型菌のみに感受性を示すので、これらの菌を他の菌種から区別するフェージとしては重要である。

次にタイピングフェージセットとしていくつかのものを選び出す場合、それぞれのフェージの溶菌域によつて被検菌全体をいくつかのタイプに分けるわけであるから、そのためには (1) 溶菌域がオーバーラップしないもの、(2) 特定のフェージタイプが多数を占めないようにフェージを選び出すこと、が望ましい。まず (1) の条件であるが、成績の項で述べたように現段階ではミコバクテリアにおいては適応フェージをタイピングに応用しうる可能性は少ないと考えられるので、サルモネラなどの場合のように 1 種のフェージから出発したタイピングフェージセットを求めめるのではなく、異なつた種類のフェージを用いてのタイピングという線で考えを進める必要がある。表2の成績からみると、D34, DS6A, AG1 の 3 フェージを除けば、残りの 8 種類のフェージの溶菌域は全体として重なりが大きい、その中でも Sedge, Legendre および DNA III 8 の 3 フェージは特にその

重なりが著明であつた。そこでこれまでに考察した事項を参考にしてタイピングファージを選ぶとすれば、GS4E, PH, Clark, DNA III 8 および D34 が一応考慮にあげられるが、このうち前4者は溶菌域の相当部分がオーバーラップしており、最終的にはGS4E(またはBK1)とD34ファージに対する感受性の差で型別を行つたBatesら³⁾、北原ら⁶⁾の方法とあまり変わらないものになる。ただしその場合特定のファージタイプが多数を占めないという(2)の条件が満足されない。このようにKey phageとして適切なものがない現在、比較的条件をみたすようなものを2~3選んで第一次の型別を行い、さらに別のファージに対する感受性によつて細別を行うという2段階の方式がよいように思われる。その際第一次、第二次のファージとしてなにを選ぶべきかについては地域によるファージ感受性分布の違いも考慮に入れる必要があり、さらに検討を要する。理想的な形でのタイピングファージセットによる人型結核菌の型別化は、今後既存のファージとは溶菌域を異にする新しいファージが分離されて初めて可能になるように思われる。

なお、日本株の一部についてファージ感受性と薬剤耐性の関係を調べたがその限りにおいてはこれらの間に関連性は認められなかつた。

結 論

日本、オランダ、セイロン由来の結核菌の11種のフ

ァージに対する感受性を検討した結果、地域によつて分離される結核菌のファージ感受性の分布が異なることが知られた。

本研究を行うにあたり、国立公衆衛生院の川村達博士に多数の菌株の供与を、東京女子医大の須子田キヨ博士にPHファージの分与を、また当結核部徳永徹博士より種々の助言をいただいた。記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 徳永徹：胸部疾患，8：126，1964.
- 2) Bates, J.H. and Fitzhugh, J.K. : Amer. Rev. Resp. Dis., 96：7，1967.
- 3) Bates, J.H. and Mitchson, D.A. : Amer. Rev. Resp. Dis., 100：189，1969.
- 4) Baess, I. : Acta Path. Microbiol. Scand., 76：464，1969.
- 5) Tokunaga, T., Maruyama, Y. and Murohashi, T. : Amer. Rev. Resp. Dis., 97：464，1967.
- 6) 北原康平：結核，48：9，1973.
- 7) Redmond, W.B. and Ward, D.M. : Bull. Wld. Hlth. Org., 35：563，1966.
- 8) Sushida, K. and Hirano, N. : Amer. Rev. Resp. Dis., 106：269，1971.
- 9) Tokunaga, T., Mizuguchi, Y. and Murohashi, T. : Amer. Rev. Resp. Dis., 89，926，1964.