原 著

35S-Methionine 摂取後の薄層クロマトグラフィーによる 抗酸菌菌種同定法に関する知見補遺

束 村 道 雄・水 野 松 司

国立療養所中部病院 受付 昭和53年3月27日

A FURTHER STUDY ON THE METHOD OF IDENTIFICATION OF MYCOBACTERIA BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY AFTER INCUBATION WITH 35S-METHIONINE

Michio TSUKAMURA* and Shoji MIZUNO

(Received for publication March 27, 1978)

Tsukamura and Mizuno¹⁾ have reported that thin-layer chromatography of ethyl ether-ethanol-soluble fraction of mycobacteria after incubation with ³⁵S-methionine is useful for differentiation among mycobacterial species, and that distribution of radioactive spots in thin-layer chromatograms show a pattern specific for the species, although it has been observed that *M. gordonae* shows various patterns²⁾. In the present study, the results on the mycobacteria previously not studied are reported. The majority of the mycobacteria studied in the present study belong to rapidly growing, scotochromogenic mycobacteria.

The strains used are shown in Table 1. The methods used were the same as reported previously^D.

The results obtained are shown in Figs. 1 to 10 and in Table 2.

The following rapidly growing, scotochromogenic mycobacteria were shown to present an almost species-specific pattern of the distribution of radioactive spots in thin-layer chromatograms: *M. chubuense*; *M. aichiense*; *M. obuense*; *M. rhodesiae*; *M. gilvum*; *M. duvalii*; *M. phlei*; *M. parafortuitum*; *M. aurum*; *M. neoaurum*.

Only a few exceptions were observed. A strain of *M. neoaurum* lacked the spot f, although other strains of this species showed the spot(Fig. 3, F). A strain of *M. aurum* showed the same pattern as of *M. parafortuitum* (Fig. 4, F). *M. parafortuitum* and *M. phlei* showed the same pattern (Fig. 3 and 4). In contrast to the above species, *M. flavescens* showed different patterns within the species (Fig. 5). However, the patterns could be subgrouped to approximately two groups: the first type (Fig. 5, upper) contained the type strain of *M. flavescens*, and the second (Fig. 5, lower) contained the type strain of the species originally received as *M. gallinarum*.

Among slowly growing mycobacteria tested in the study, *M. kansasii*, *M. marinum* and *M. nonchromogenicum* were shown to be a homogeneous species so far viewed from the pattern, showing the same pattern within the strains of each species.

M. triviale could be differentiated from M. nonchromogenicum, showing a different pattern, and M. terrae was differentiated from M. nonchromogenicum, as the former lacked the spot f.

^{*} From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

The pattern of *M. malmoense* resembled to that of *M. avium-intracellulare* complex. The strains of *M. szulgai* showed various patterns and seemed to be heterogenous when viewed from the pattern.

M. kansasii and M. marinum could be differentiated clearly by a difference of the pattern. The former showed the spot f and the latter lacked this spot.

To test the nature of the spot f, the concentrates of the ethyl ether-ethanol-soluble fraction of the strains of these species were added with petroleum ether and a little amount of water, and a separated petroleum ether-layer was concentrated under reduced pressure and subjected to the thin-layer chromatography in the same manner. The petroleum ether-extracts of *M. kansasii* showed only the spot f, and those of *M. marinum* showed no spot (Fig. 11). The results show that a substance showing the spot f is soluble in petroleum ether, whereas other substances showing the other spots are not soluble in petroleum ether.

The test of the distribution of radioactive spots in thin-layer chromatography of the ethyl ether-ethanol-soluble fraction of mycobacteria has been shown to be useful for the differentiation among mycobacterial species.

- 1) Tsukamura, M. and Mizuno, S.: Int. J. Syst. Bacteriol., 25: 271, 1975.
- 2) Tsukamura, M. and Mizuno, S.: Kekkaku, 53:85, 1978.

東村・水野^D は前に ³⁵S-methionine と抗酸菌とを培養した後、菌のエーテル・エタノール混液抽出画分の薄層クロマトグラフィー(薄層クロマト)を行ない、 ³⁵S 由来の放射性スポットの分布が、菌種によつ て特異 なpattern (パタン)をとることを観察した。その後、同じ方法によつて遅発育性抗酸菌の若干の菌種についての知見を補つたが²、 今回は、今まで取り扱つたことのない菌種について行なつた実験結果を報告する。今回取り扱つた菌種の中で、大部分の菌種は特有のパタンを示したが、少数の菌種ではパタンが不均一であつた。また放射性スポットの中で、薄層クロマトでフロント付近にみられるスポットの性状について新知見を得たので、あわせて報告する。

実験材料および方法

被検株は表 1 に示す。 実験方法は前報^Dと同じであるが、以下、簡単にその概略を述べる。被検株の中で、迅速発育性抗酸菌は 1 %小川培地斜面に37℃ 5 日、遅発育性抗酸菌は同じく14日培養し、白金耳で菌を集め、生食水で 3 回洗浄し、実験に供した。反応液は次の組成を使用した。M/15 燐酸緩衝液 $(pH7.1)4.0\,ml$ に、抗酸菌25mg/ml(湿菌量)、 ^{35}S -methionine 5μ Ci/ml, sodium acetate $10\mu g/ml$ を含むもの。この反応液を 37℃ 20時間静置インキュベートし、遠心して菌を集め、 $5\,ml$ の氷冷水で 2 回洗浄し、10% 三塩化醋酸液 $2\,ml$ で 2 回抽出した。その後の菌をエチルエーテル・エタノール(1:1) 混液 $3\,ml$ で $10\,\%$ ずつ 2 回抽出した。 残渣は $1\,\%$

NaOH 液 2 ml に加えて 100℃ 5 分加熱して溶解した。 エチルエーテル・エタノール抽出液 (EE 抽出液) およ び残渣画分からおのおの 0.2ml のサンプルをとつて, gas flow counter (神戸電気製) で放射能を測定した。 その後, EE 抽出液 (計 6 ml) を減圧濃縮し, 0.1 ml とし、これを薄層クロマトにかけた。薄層クロマトは Silica Gel H (Merch 製)を用い、20×20cm; 0.25mm (厚さ)の薄層を作り、次の溶媒で展開した。n-propanol -n-butanol-water-ammonia (50+20+20+3, 容積)。 展開後の薄層上の放射性スポットの分布を日本無線製 automatic scanner で記録した。記録の条件は, running, 300mm/hour; recording, 150 mm/hour; slit, 30 × 3 mm; time constant, 1,000 cpm/30 seconds を用いた。 使用した 35S-methionine は、Radiochemical Centre、 Amersham, Buckingshire, England 製の L-[35S]methionine (Batch, 133/5; specific activity, 820 Ci/ mmol) であつた。

実験成績および考察

迅速発育性抗酸菌

今回, 研究対象とした菌種は, 迅速発育性, 暗発色性 抗酸菌(rapidly growing, scotochromogenic mycobacteria) である。この中で, 次の菌種は被検株全部がほぼ 一定のパタンを示した: *M. chubuense*³⁾ (図1のA, B), *M. obuense*⁴⁾(図1のC, D), *M. rhodesiae*⁵⁾ (図1のE, F), *M. gilvum*⁶⁾ (図2のA, B), *M. duvalii*⁶⁾ (図2の C, D), *M. aichiense*³⁾(図2のE, F), *M. phlei*⁷⁾(図3

Table 1. List of Strains Studied (1)

Strain No.	Species name	Source (Other designations)			
02001	M. rhodesiae	L. King, 3163/70			
02002	"	L. King, 3171/70; ATCC 27024			
02003	"	L. King, 3172/70			
02004	<i>y</i>	L. King, 3173/70			
10001	M. neoaurum	M. Tsukamura; ATCC 25791			
10002	"	M. Tsukamura; ATCC 25795; NCTC 10818			
10003	"	M. Tsukamura, ATCC 25796			
10004	"	M. Tsukamura; ATCC 25799			
14005	M. phlei	R. Bönicke, SN105			
14006	"	R. Bönicke, SN106			
14024	<i>"</i>	ATCC; ATCC 23042			
14025	"	ATCC; ATCC 11758			
15035	M. aurum	M. Tsukamura, ATCC 25803			
15066	"	M. Tsukamura; ATCC 25793			
15067	<i>"</i>	M. Tsukamura; ATCC 25794			
15068	<i>y</i>	M. Tsukamura; ATCC 25797			
16001	M. parafortuitum	M. Tsukamura; ATCC 19687			
16002	"	M. Tsukamura; ATCC 19686			
16003	<i>"</i>	M. Tsukamura; ATCC 19685			
16008	<i>y</i>	M. Tsukamura, E2590			
29006	M. gilvum	S. L. Stanford, 35			
29007	"	S. L. Stanford, 132			
29008	"	S. L. Stanford, 391			
29009	<i>"</i>	S. L. Stanford, 392			
29505	M. dwvalii	S. L. Stanford, NCTC 358			
29506	"	S. L. Stanford, NCTC 509			
29507	<i>n</i>	S. L. Stanford, NCTC 514			
29508	. <i>"</i>	S. L. Stanford, NCTC 8645			
47001	M. obuense	M. Tsukamura; ATCC 27023			
47002	"	M. Tsukamura, E5434			
47003	<i>"</i>	M. Tsukamura, E5435			
47006	"	M. Tsukamura, E5431			

Table 1. List of Strains Studied (2) (continued)

Strain No.	Species name	Source (Other designations)
48001	M. chubuense	M. Tsukamura, E5499
48002	"	M. Tsukamura, E5501
48013	"	M. Tsukamura, E5517; ATCC 27278
48014	"	M. Tsukamura, E5518
49001	M. aichiense	M. Tsukamura, E5540
49002	"	M. Tsukamura, E5542
49004	"	M. Tsukamura, E5544; ATCC 27281
49005	"	M. Tsukamura, E5545; ATCC 27280
33001	M. flavescens (I)	ATCC; ATCC 14474
33002	"	M. Tsukamura
33003	"	M. Tsukamura
33004	"	M. Tsukamura
33005	"	M. Tsukamura
33022	"	ATCC; ATCC 23009
33023	"	ATCC; ATCC 23033
33024	"	ATCC; ATCC 23035
33035	<i>"</i>	M. Tsukamura
32001	M. flavescens (II)	M. Tsukamura; ATCC 19170 (M. gallinarum)
33021	"	ATCC; ATCC 23008
33025	"	M. Tsukamura
E 8451	M. malmoense	P. A. Jenkins, 22619
E 8452	"	P. A. Jenkins, 22620
E 8453	"	P. A. Jenkins, 22621
E 8454	"	P. A. Jenkins, 22622
E 8455	"	P. A. Jenkins, 22623
E 8456	"	P. A. Jenkins, 22624
S Z 12001	M. szulgai	J. Marks, 23428
S Z 12002	<i>"</i>	J. Marks, 25932; NCTC 10821
S Z 12003	<i>y</i>	J. Marks, 26701
S Z 12004	<i>"</i>	J. Marks, 20886; NCTC 10829
S Z 12006	<i>y</i>	M. Tsukamura, E7420
S Z 12010	"	M. Tsukamura, E7145
S Z 12012	<i>"</i>	M. Tsukamura, E7634
S Z 12015	<i>"</i>	M. Tsukamura, E8330
S Z 12016	<i>"</i>	M. Tsukamura, E8413
S Z 12017	"	M. Tsukamura, E8414
S Z 12018	· <i>y</i>	M. Tsukamura, E8466; NCTC 10428

Table 1. List of Strains Studied (3) (continued)

Strain No.	Species name	Source (Other designations)				
09003	M. nonchromogenicum	M. Tsukamura; ATCC 19530; NCTC 10424				
09013	"	M. Tsukamura; ATCC 19531				
09033	"	M. Tsukamura; ATCC 19533; NCTC 10479				
09112		M. Tsukamura; ATCC 19689				
09113	"	M. Tsukamura; ATCC 19690				
37002	M. triviale	G. P. Kubica, DT-67-4				
37003	"	G. P. Kubica, C-1614				
37004	"	G. P. Kubica, C-5181; ATCC 19386				
37013	<i>"</i>	G. P. Kubica, T-254-3; ATCC 19387				
37014	. //	G. P. Kubica, T-255-3				
38001	M. terrae	L. G. Wayne, W-167				
38002	<i>y</i>	L. G. Wayne, W-168A				
38013	<i>y</i>	L. G. Wayne, W-45; ATCC 19755				
38018	<i>y</i>	M. Tsukamura (M. novum)				
38019	<i>"</i>	ATCC; ATCC 19619 (M. novum)				
07006	M. kansasii	K. Takeya; E. H. Runyon, P-1				
07007	<i>y</i>	K. Takeya; E. H. Runyon, P-16				
07009	"	K. Takeya; E. H. Runyon, P-21				
07062	<i>"</i>	ATCC; ATCC 25221				
07063	"	ATCC; ATCC 25222				
07065	"	ATCC; ATCC 12478				
07069	"	M. Tsukamura, E8248				
07070	"	M. Tsukamura, E8262				
08001	M. marinum	ATCC; ATCC 927				
08002	"	K. Konno; R. J. Ross, B-916				
08003	"	K. Konno; R. J. Ross, B-913				
08011	"	R. Bönicke, SN1251				
08012	"	R. Bönicke, SN1253				
08013	"	R. Bönicke, SN1254				

 \mathcal{O} A,B,C), M. neoaurum⁸⁾ (図 3 \mathcal{O} D,E,F), M. parafortuitum⁹⁾(図 4 \mathcal{O} A,B,C), M. aurum¹⁰⁾(図 4 \mathcal{O} D,E,F) \mathcal{O} 10菌種。

ただし M. neoaurum と M. aurum には, 1株ずつの例外がみられた。 M. neoaurum は大部分が図3のD およびEに示すパタンを示したが, 1株 (10005) だけはスポットfを欠いた。 また M. aurum は大部分が図4のDおよびEに示すパタンを示したが, 1株 (15067) だけは図4のFに示すパタンすなわち M. parafortuitum

のパタン (図4のA,B,C) を示した。また M. phlei のパタン (図3のA,B,C) は、M. parafortuitum (図4のA,B,C) と本質的には区別しがたい。

以上の10菌種の rapidly growing, scotochromogenic mycobacteria が、僅少の例外を除いて、菌種特有のパタンを示したのに対して、M. flavescens のパタンは不均一であつた。12株の M. flavescens と同定された菌株の中で、9株は図5のA、B、Cのパタンを示した。この三つのパタンは少しずつ違つているが、図5の下のD、

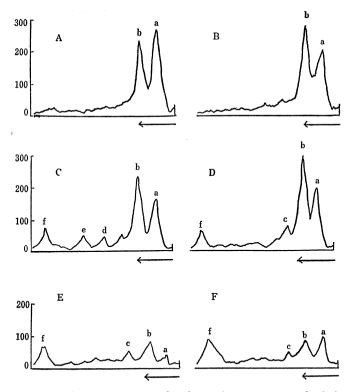


Fig. 1. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A. M. chubuense 48002, B. M. chubuense 48014, C. M. obuense 47002, D. M. obuense 47006, E. M. rhodesiae 02001, F. M. rhodesiae 02003. Vertical scale shows counts per minute(cpm).

E,F と比較すると互いに似かよつている。残りの 3株は図 5 の下のD,E,Fのパタンを示したが,これらのパタンは,上のパタンに比較すると互いに似ている。したがつて,M. flavescens のパタンを,図 5 の上の「I型」と図 5 の下の「I型」に大別できるように思われる。図 5 のAは,33001(ATCC 14474)のもので,この株は M. flavescens¹¹⁾の'type strain'である。一方,図 5 のDは,32001(ATCC 19170)のもので,この株は,はじめ M. gallinarum¹²⁾として報告されたもので,のち東村により M. flavescens と同定されたものである(未発表成績)。したがつて,M. flavescens のパタンは,元来のM. flavescens 型(I型)と M. gallinarum 型(II型)に 2 大別されるように思われる。

遅発育性抗酸菌

最近、新菌種として報告された M. malmoense 13 は図 6 のパタンを示した。M. malmoense のパタンは、先に示した M. avium,M. intracellulare $^{1)20}$ のそれに似ている。b , f の2 スポットを示すものと,b スポットのみを示すものと,スポットがないものがある。

M. szulgai¹⁴⁾ のパタンは変化が多い(図7)。 1 菌種で

種々のパタンを示した例としては、先に報告した *M. gordonae*²² がある。 *M. szulgai* は性状の点でも多分に *M. gordonae* と類似点がある¹⁵⁰。 種々のパタンを示す点で, *M. flavescens*, *M. szulgai* および *M. gordonae* は特別な地位にあるように思われる。この3者ともに暗発色性抗酸菌で発育が遅い (*M. flavescens* は発育が他の2者よりやや速い)。

 $M.nonchromogenicum^{16}$ のパタンは、先に示したように 10 、被検株全部で互いに類似している(図 8)。すなわちパタンの均一性からみて、均一な株からなる菌種とみられる。これに反して、M.nonchromogenicum と近縁または同一菌種とみられる $M.terrae^{17}$ のパタンは均一性を欠く(図 9 の A,B,C)。M.terrae の type strainである 38013(ATCC 19755)のパタンは M.nonchromogenicum とよく似ている。唯一の区別点は、38013 ではスポット f を欠く点である。スポット f は M.terrae の 被検株全部で欠如し、この点で M.nonchromogenicum と M.terrae を区別できる。

*M. triviale*¹⁸⁾ は *M. nonchromogenicum* と近縁では あるが区別できる菌種とされている¹⁵⁾。この菌のパタン

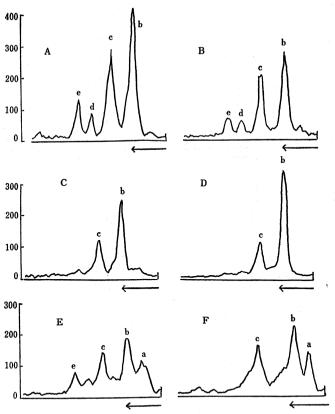


Fig. 2. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A. M. gilvum 29006, B. M. gilvum 29009, C. M. duvalii 29505, D. M. duvalii 29506, E. M. aichiense 49004, F. M. aichiense 49005.

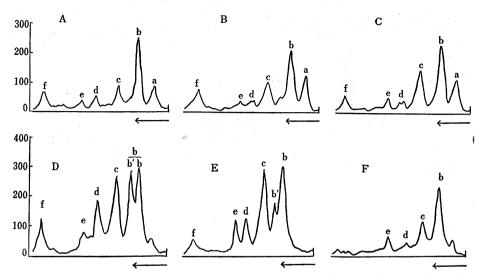


Fig. 3. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M. phlei 14006, B.M. phlei 14005, C.M. phlei 14025, D.M. neoaurum 10002, E.M. neoaurum 10003, F.M. neoaurum 10005.

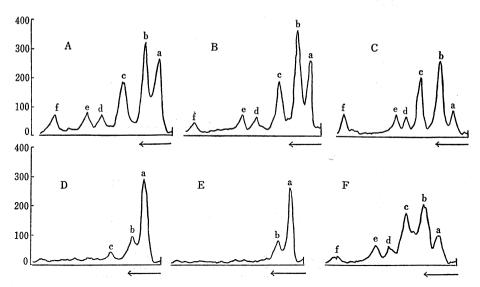


Fig. 4. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M. parafortuitum 16001, B.M. parafortuitum 16002, C.M. parafortuitum 16008, D.M. aurum 15066, E.M. aurum 15068, F.M. aurum 15067.

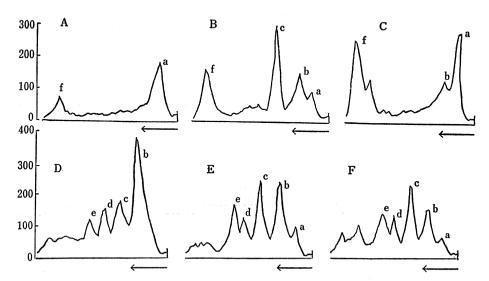


Fig. 5. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M. flavescens 33001, B.M. flavescens 33004, C.M. flavescens 33022, D.M. flavescens 32001 (Originally, M. gallinarum), E.M. flavescens 33021, F.M. flavescens 33025.

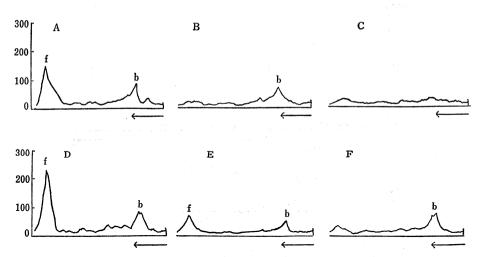


Fig. 6. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M. malmoense 8451, B.M.malmoense 8452, C.M.malmoense 8453, D. M.malmoense 8454, E.M.malmoense 8455, F.M.malmoense 8456.

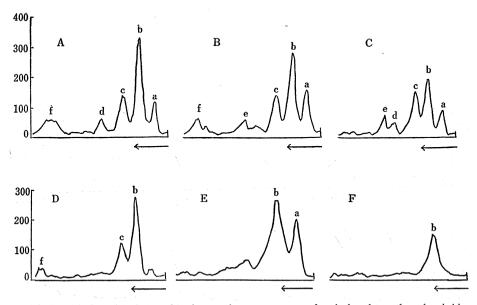


Fig.7. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M. szulgai SZ12001, B.M. szulgai SZ12003, C.M. szulgai SZ12010, D.M. szulgai SZ12004, E.M. szulgai SZ12002, F.M. szulgai SZ12018.

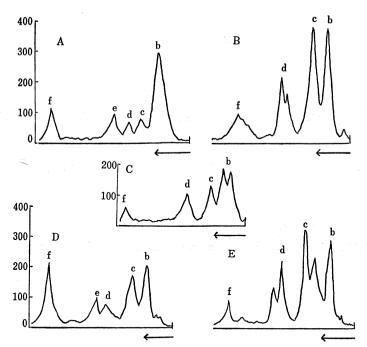


Fig. 8. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M.nonchromogenicum 09003, B.M. nonchromogenicum 09013, C. M. nonchromogenicum 09033, D. M. nonchromogenicum 09112, E.M.nonchromogenicum 09113.

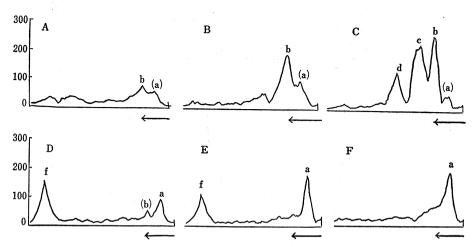


Fig. 9. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl ether-ethanol-soluble fraction from A.M. terrae 38001, B.M. terrae 38002, C.M. terrae 38013, D.M. triviale 37003, E.M. triviale 37004, F.M. triviale 37002.

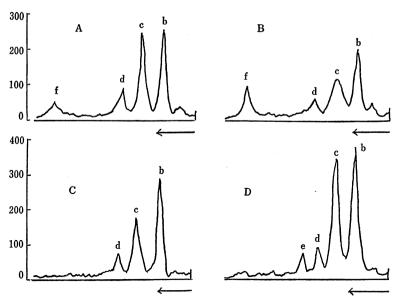


Fig. 10. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of ethyl etherethanol-soluble fraction from A.M. kansasii 07063, B.M. kansasii 17062, C.M. marinum 08003, D.M. marinum 08011.

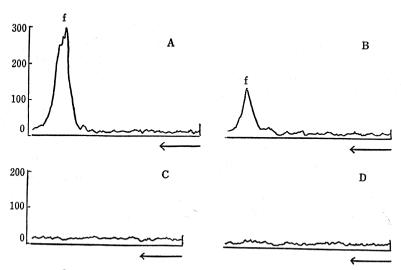


Fig. 11. Radioactive spots in thin-layer chromatograms of petroleum ether-soluble extracts of the concentrate of ethyl ether-ethanol-soluble fractions from A. M. kansasii 07063, B. M. kansasii 07062, C. M. marinum 08011, D. M. marinum 08003. Vertical scale shows counts per minute (cpm).

Table 2. Radioactive Spots in Thin-Layer Chromatography of Ethyl Ether-Ethanol-Soluble Fraction of Mycobacteria after Incubation with ³⁵S-Methionine

	•						
	Radioactive spots $(R_f \text{ values})$						
Species	$0.00 \stackrel{ ext{A}}{\sim} 0.02$	$0.14 \sim 0.16$	$\begin{array}{c} C \\ 0.30 \sim 0.35 \end{array}$	D 0.49~0.52	$0.60 \stackrel{\text{E}}{\sim} 0.63$	$0.94 \stackrel{\text{F}}{\sim} 0.98$	
M. chubuense	A	В					
M. obuense	A	В				f	
M. rhodesiae	a	b	, c			f	
M. gilvum		В	C	d	e		
M. duvalii		В	C				
M. aichiense	A	В	С				
M. phlei	A	В	\mathbf{C}	\mathbf{d}	e	f	
M. neoaurum		В	C	d	e	f	
M. parafortuitum	Α	В	C	d	e	f	
M. aurum	A	ь					
M. flavescens (I)	Α	(B)	(C)			F	
M. flavescens (II)	а	В	С	d	e		
M. malmoense		ъ				(F)	
M. nonchromogenicum		В	\mathbf{C}	d		F	
M. triviale	A					F	
M. kansasii		В	С	d		F	
M. marinum		В	$^{\circ}$ C	d			

The spot shown by a large letter is a large spot, and that shown by a small letter is a small spot. The spot shown in brackets is a spot which appears or does not appear according to the test strain.

The spots in this table, A, B, C, D and F correspond to the spots in a previous study (Tsukamura, M. and Mizuno, S.: Int. J. Syst. Bacteriol., 25:271, 1975), a, b, c, d and e, respectively. The R_f values of the previous study are not correct, and the values in this table are correct.

は図9の下(D, E, F)に示すように、スポットaとスポットfの二つを示すが、スポットfを欠く株もある(図9のF)。

M. kansasii¹⁹⁾ および M. marinum²⁰⁾ もおのおの均一なパタンを示す (図10)。この両者の主な区別点は,M. kansasii ではスポット f があり,M. marinum では,これがないことである。

スポット f の有無は、M.kansasii と M.marinum の 区別および M.nonchromogenicum と M.terrae の区別に重要である。したがつて、このスポットを示す物質の性状を知るために次の実験を行なつた。M.kansasii および M.marinum から得た EE 抽出液を減圧濃縮して $0.1\,\mathrm{ml}$ とし、これに $5\,\mathrm{ml}$ の石油エーテル(片山化学; specific gravity、 $0.62{\sim}0.67$; fraction($30{\sim}70^\circ\mathrm{C}$)、minimum $90\,\mathrm{v}\%$; non votile,maximum 0.002%)と $0.5\,\mathrm{ml}$ の水を加えると、上の石油エーテル層と下の水層に分かれる。この石油エーテル層を減圧濃縮して $0.1\,\mathrm{ml}$ とし、前と同じ方法で薄層クロマトを行なうと、M.kansasii の石油エーテル抽出液からはスポット f が得られたが、M.marinum のそれからは得られなかつた (図11)。石油エーテル可溶画分からはスポット f のみが現れ、他のスポットは現れなかつたので、薄層クロマト

でみられる a, b, c, d, e, f の六つのスポットの中で、スポット f を示す物質のみが石油エーテル可溶であると分かつた。この物質は ^{35}S -methionine 由来の ^{35}S を含有しており、この物質の存否が抗酸菌の菌種の区別にかなり重要な意義をもつていると思われる。

今回研究対象とした抗酸菌各菌種の薄層クロマト上の スポットの位置を表2に総括して示した(表2)。

結 論

35S-methionine と抗酸菌とを培養した後、菌体からのエチル・エーテル-エタノール抽出画分を薄層クロマトにかけて放射性スポットを記録する方法は抗酸菌の菌種の区別に役立つ。

今回, 研究対象とした次の rapidly growing, scotochromogenic mycobacteria はほぼ菌種特有の放射性スポットの分布パタンを示した: M. chubuense, M. obuense, M. aichiense, M. rhodesiae, M. gilvum, M. duvalii, M. phlei, M. parafortuitum, M. aurum, M. neoaurum. これに対して M. flavescens のパタンはほぼ 2型に大別された。一つは M. flavescens の type strain を, 他は M. gallinarum の type strain を含んでいた。

遅発育性抗酸菌の中では、M. kansasii、M. marinum、

M. nonchromogenicum が均一なパタンを示した。 M. nonchromogenicum complex を構成する 3 菌種の中で、M. nonchromogenicum と M. terrae はスポット f の有無で区別できた。 M. triviale もほぼ特有なパタンを示した。 M. szulgai はパタンの面からみると不均一であった。 また M. malmoense は M. avium-intracellulare に近いパタンを示した。

文 献

- 1) Tsukamura, M. and Mizuno, S.: Int. J. Syst. Bacteriol., 25: 271, 1975.
- 2) 束村道雄·水野松司:結核,53:85,1978.
- 3) 東村道雄:医学と生物学,86:13,1973.
- Tsukamura, M. and Mizuno, S.: J. Gen. Microbiol., 68: 129, 1971.
- Tsukamura, M., Mizuno, S., Gane, N. F. F., Mills, A. and King, L.: Jap. J. Microbiol., 15: 407, 1971.
- Stanford, J. L. and Gunthorpe, W. J.: Brit. J. Exp. Pathol., 52: 627, 1971.
- 7) Lehmann, K. B. und Neumann, R. O.: Lehmann's Medinische Handatlanten. X. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik, 2:411,

- 1899.
- 8) 東村道雄:医学と生物学、85:229、1972
- 9) 東村道雄・外山春雄・水野松司: 医学 と 生 物 学, 70:232, 1965.
- 10) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 45: 253, 1966.
- Bojalil, L. F., Cerbón, J. and Trujillo, A.: J. Gen. Microbiol., 28: 333, 1962.
- 12) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄: 結核, 42:15, 1967.
- 13) Schröder, K. H. and Juhlin, I.: Int. J. Syst. Bacteriol., 27: 241, 1977.
- 14) Marks, J., Jenkins, P.A. and Tsukamura, M.: Tubercle, 53: 210, 1972.
- Tsukamura, M.: Int. J. Syst. Bacteriol., 26: 409, 1976.
- 16) 東村道雄:医学と生物学、71:110、1965.
- 17) Wayne, L.G.: Amer. Rev. Resp. Dis., 93: 919, 1966.
- 18) Kubica, G. P., Silcox, V. A., Kilburn, J. O., Smithwick, R. W., Beam, R. E., Jones, W. D. and Stottmeier, K. D.: Int. J. Syst. Bacteriol., 20: 161, 1970.
- Hauduroy, P.: Derniere aspects du monde des mycobactéries, p. 73, Masson et Cie, Paris, 1955.
- 20) Aronson, J. D.: J. Infect. Dis., 39: 315, 1926,