

## 短 報

DNA Probe テストによって同定された *Mycobacterium avium* と  
*Mycobacterium intracellulare* の Butanol 利用能

佐藤 勝 昌・斎 藤 肇

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 平成元年9月27日

UTILIZATION OF BUTANOLS BY DISEASE-ASSOCIATED *MYCOBACTERIUM AVIUM*  
AND *MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE* CLASSIFIED BY DNA PROBE TEST  
AND RELATIONSHIP WITH THEIR ABILITY TO GROW AT 45°C

Katsumasa SATO\* and Hajime SAITO

(Received for publication September 27, 1989)

Utilization of n-butanol and iso-butanol by *Mycobacterium avium* and *M. intracellulare* classified by DNA probe test (20 strains each) was studied. The majority (14 strains) of *M. avium* could grow at 45°C, but none of *M. intracellulare* grew at the same temperature. All *M. avium* and the majority of *M. intracellulare* (80%) utilized n-butanol but failed to utilize iso-butanol. Therefore, the utilization test of butanols is inadequate for classification of these species.

**Key words :** Utilization butanols, n-butanol, iso-butanol, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*

**キーワードズ :** Butanol 利用能, n-butanol, iso-butanol, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*

*Mycobacterium avium* と *M. intracellulare* とは極めて近似した性状を示し、両者を明確に判別することは困難であるところから、これらは *M. avium* complex (MAC) と総称されているが、トリやウサギに対する virulence<sup>1)2)</sup>, butanol 利用能<sup>3)</sup>, 45°C における発育<sup>4)</sup>, アリルスルファターゼ<sup>5)</sup>, 亜硝酸塩還元能<sup>4)</sup> などの生物学的性状, sensitin テスト<sup>6)</sup> や凝集反応<sup>7)</sup> のような免疫血清学的性状からも判別が試みられている。

最近, *M. avium* および *M. intracellulare* の各々に特異的な DNA Probe を用いた MAC 迅速同定キット (Gen-Probe® Rapid Diagnostic System : Gen-

Probe Inc., San Diego, Calif., U. S. A.) が市販され、これは *M. avium* と *M. intracellulare* の鑑別・同定上極めて有用であることが示された<sup>8)~10)</sup>。

そこで今回は、DNA Probe テストで *M. avium* あるいは *M. intracellulare* と同定された菌株について butanol 利用能並びに 45°C での発育能について比較検討した。

供試菌としては、当教室にて長期にわたって保存している、いわゆる authentic な *M. avium* (20 株) と MAC 患者より分離され、その起因菌と考えられるものにつき DNA Probe テスト<sup>10)</sup> で *M. avium* あるいは

\* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo 693 Japan.

Table Growth of Disease-Associated Strains of *M. avium* and *M. intracellulare* and Their Utilization of Butanols for a Carbon Source

Species	Number of strains	Number of strains positive for :		
		Growth at 45°C (%)	Utilization of butanols (%)	
			n-butanol	iso-butanol
DNA probe-				
<i>M. avium</i>	20	14 (70)	20 (100)	0 (0)
<i>M. intracellulare</i>	20	0 (0)	16 (80)	0 (0)
Authentic- <i>M. avium</i>	20	2 (10)	17 (85)	1 (5)

*M. intracellulare* と同定されたものの中から無作為に各 20 株を選択した。なお, authentic な *M. avium* も DNA Probe テストによって *M. avium* であることを確認した。

被検菌の 45°C 発育能は以下の方法によって判定した<sup>11)</sup>。すなわち, 7H9 broth (Difco Laboratories, U. S. A.) 中での微濁発育菌液を 0.1% Tween 80 加生食水で 10 倍希釈し, その 1 白金耳を 1% 小川培地に塗抹し, 45°C, 6 週間培養後, 膜状発育したものを陽性と判定した。なお, 37°C における発育は全株陽性であった。

n-butanol および iso-butanol の炭素源としての利用能の検討は東村・水野の方法<sup>3)</sup>によった。すなわち, 基礎培地 (蒸留水 1,000 ml 中に (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.64 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g および寒天 20 g を溶解後 10% KOH で pH 7.0 に修正) を試験管 (17 × 156 mm) に 7 ml ずつ分注し, 100°C, 15 分間 2 回間歇滅菌した。これに n-butanol または iso-butanol を各々 0.1 M の割合に添加 (各々 n-butanol または iso-butanol 培地) し, 非添加培地とともに 1% 小川培地上 3 週間培養菌の 1 白金耳を塗抹接種し, 37°C, 4 週間培養後, 両 butanol 培地上における発育の有無を判定した。非含有培地上には MAC の発育はみられなかった。

結果は一括して表に示した。今回の実験においては, いわゆる authentic な *M. avium* とされるもののうち, 45°C 発育可能株は予期に反してわずかに 2 株 (10%) にみられたにすぎなかったが, DNA Probe テストによって同定された *M. avium* では 70% の菌株が陽性であった。この authentic な *M. avium* の 45°C における発育の欠如は, これらの菌株が長期にわたって小川培地上に継代 (37°C) されてきたことによって変異したものと思われる。最近, われわれは自然界より分離され, DNA Probe テストによって同定された *M. avium* は

45°C での発育能を欠いていることを報告<sup>12)</sup>した。したがって, 少なくとも患者由来 MAC の新鮮分離株のうち 45°C での発育陽性のものは *M. avium* と考えてよいように思われる。

東村・水野<sup>3)</sup>によれば, *M. avium* は大部分 (21/29 株) が 45°C に発育し, その多くは n-butanol および iso-butanol の利用能を欠くこと, 他方 *M. intracellulare* では, 45°C に発育するもの (46/102 株) の大部分は n-butanol および iso-butanol 利用能を示すことから, *M. avium* と *M. intracellulare* の中で 45°C 発育可能なものについては, n-butanol および iso-butanol 利用能によって鑑別可能であると報告している。また, ブタノール利用能のみについて考慮してみると, *M. avium* では n-butanol および iso-butanol 利用能陽性のものはまれ (2/29 株) であるのに対して, *M. intracellulare* では多くは陽性 (53/102 株) であるという。

今回の実験においては, 両菌種とも iso-butanol 利用能を欠いたが, n-butanol については authentic *M. avium* および DNA Probe テストによって同定された *M. avium* と *M. intracellulare* の大部分の菌株が陽性であった。また, 検討した *M. intracellulare* の中には 45°C 発育を示すものは皆無であったことから, 東村・水野<sup>3)</sup>の報告におけるように, *M. avium* と *M. intracellulare* のうち 45°C 発育を示すものについての butanol 利用能を比較することはできなかった。しかしながら, 今回の実験において, 少なくとも, DNA Probe テストによって分けられた *M. avium* 並びに *M. intracellulare* の butanol 利用能と, 従来の表現型によって分類されたそれらの butanol 利用能とは一致しないことが分かった。

## 文 献

- 1) Durr, F. E., Smith, D. W. and Altman, D.

- P. : A comparison of the virulence of various known and atypical mycobacteria for chickens, guinea pigs, hamsters, and mice, *Am Rev Respir Dis*, 80 : 876-885, 1959.
- 2) 占部 薫, 斎藤 肇, 田坂博信 : トリ型菌ならびに非定型抗酸菌 Group III Battey 菌のウサギに対する病原性, *結核*, 42 : 511-516, 1967.
  - 3) 束村道雄, 水野松司 : Butanol 利用能による *Mycobacterium avium* と *Mycobacterium intracellulare* の区別—*M. intracellulare* の日本分離株と米国分離株の比較一, *結核*, 46 : 197-202, 1971.
  - 4) Wayne, L. G. : *Mycobacterial speciation*, In Kubica, G. P. and Wayne, L. G. (ed.), *The mycobacteria : A sourcebook (Part A)*, Marcel Dekker, N. Y., U. S. A., pp.25-65. 1984.
  - 5) Kubica, G. P. and Beam, R. D. : The aryl-sulfatase activity of acid-fast bacilli. II. The differentiation of *Mycobacterium avium* from the unclassified group III nonphotochromogenic mycobacteria, *Am Rev Respir Dis*, 83 : 733-736, 1961.
  - 6) Magnusson, M : *Mycobacterial sensitins : Where are we now ?* *Rev Infect Dis*, 3 : 944-948, 1981.
  - 7) Schaefer, W. B. : Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination, *Am Rev Respir Dis*, 92 (Suppl.) : 85-93, 1965.
  - 8) Drake, T. A., Hindler, J. A., Berlin, O. G. et al. : Rapid identification of *Mycobacterium avium* complex in cultures using DNA probes, *J Clin Microbiol*, 25 : 1442-1445, 1987.
  - 9) Kiehn, T. E. and Edwards, F. F. : Rapid identification using a specific DNA probe of *Mycobacterium avium* complex from patients with acquired immunodeficiency syndrome, *J Clin Microbiol*, 25 : 1551-1552, 1987.
  - 10) 斎藤 肇, 富岡治明, 佐藤勝昌他 : Gen-Probe<sup>®</sup> による *Mycobacterium avium-intracellulare* complex の鑑別・同定, *結核*, 63 : 261-264, 1988.
  - 11) 斎藤 肇 : 非定型抗酸菌とその類似菌の鑑別・同定法, *臨床検査*, 29 : 394-404, 1985.
  - 12) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : Identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes, *J Clin Microbiol*, 27 : 994-997, 1989.