

## 短 報

最近分離された *Mycobacterium tuberculosis* 株の性状

矢 守 貞 昭 ・ 東 村 道 雄

国立療養所中部病院呼吸器科  
藤田学園保健衛生大学医学部微生物学教室CHANGE IN BIOCHEMICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF  
*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS ISOLATED IN RECENT YEARS

Sadaaki YAMORI and Michio TSUKAMURA \*

One hundred strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated in 1988–89 from patients who were newly hospitalized in the National Chubu Hospital were studied on their biochemical and biological characteristics and compared with the strains isolated previously. Recently isolated strains showed frequently a much stronger arylsulfatase activity, grew at a higher rate at 42°C, and showed a little stronger niacin production.

**Key words :** *Mycobacterium tuberculosis*, Arylsulfatase activity, Growth at 42°C, Niacin production

**キ ー ワ ー ズ :** *Mycobacterium tuberculosis*, Arylsulfatase 活性, 42°C 発育, Niacin 産生

ヒトに感染した結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) の性状が、過去何十年の間不変なのか、あるいは少しずつ変わってきているのかは、疫学上興味ある問題である。もし変化があるとすれば、その原因として、第一に化学療法の影響を考えねばならぬし、第二には宿主の環境の変化を考えねばならぬであろう。われわれは、過去約 25 年にわたって、数年ごとに患者分離結核菌株の性状の検査を行ってきたが、その際、第一の可能性を除外するために、対象を新規入院の化学療法未使用者に限定してきた。最近の検査は、1988 年分離株について行ったが、その結果は、最近の分離株の性状が過去の分離株の性状と若干違ってきていることを示したので報告する。

## 方 法

国療中部病院に新規入院した患者で、過去に化学療法を受けていないものを対象とした (注: 化学療法 1 カ月以内の患者は、化学療法歴なしの中に加えた)。検査の

対象とした菌株は、各患者 1 株とし、薬剤耐性検査で全抗結核剤に感受性を示す株とした。これは、いわゆる primary resistance の株を除外するためである。結核菌の分離は、咯痰に等量の 4% (2%) NaOH 水溶液を加えて室温で振盪して溶解させ、それを渦巻白金耳で「1%小川培地」(1978 年まで) または「Tween 卵培地」<sup>1)</sup> (1979 年以後) に接種する方法によった。分離された抗酸菌を PNB 培地<sup>2)</sup> に接種し 37°C 3 週培養後、発育陰性と陽性の 2 群に分け、各々について既報<sup>3)</sup> の方法で同定した。PNB 培地発育陰性株は、すべて結核菌と同定された。同定検査の方法は、1964 年以來、おおよそ同じであるが、Table に示すように若干の変更も行った。結核菌の同定は、次の 7 項目の検査で 6 項目以上を満たすことによった<sup>3)</sup>。1) PNB 培地に発育しない。2) SS 培地 (Table 参照) に発育しない。3) HA 培地 (Table 参照) に発育しない。4) niacin 産生陽性。5) 硝酸塩還元陽性。6) TCH 培地 (Table 参照) に発育する。7) 28°C に発育しない。発育の判定は 3 週後に行った。

\* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

**Table.** Comparison of Biological and Biochemical Characters among *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated in Different Periods

characteristics	% of strains showing positive reaction			
	1964 N=80	1974 N=90	1983 N=46	1988 N=100
Growth on SS medium	0	0	0	11
Growth on PNB medium	0	0	0	0
Growth on HA medium	0	0	0	0
Niacin production (4 weeks)	75	89	80	95
Niacin production (6 weeks)	N.T.	N.T.	89	98
Nitrate reduction	94	100	100	100
Growth on TCH medium	98 <sup>a</sup>	86 <sup>a</sup>	100	100
Growth at 28°C	0	13	0	15
Growth at 37°C	100	100	100	100
Growth at 42°C	N.T.	N.T.	2	64
Growth on Sauton agar medium	8	0	2	20
Arylsulfatase (3 days)	0	0	13	30
Arylsulfatase (2 weeks)	0	0	61	82
Urease	75 <sup>b</sup>	100	91	73
Nicotinamidase	46 <sup>b</sup>	96	87	97
Pyrazinamidase	9 <sup>b</sup>	80	83	77
Resistance to rifampicin (25µg/ml)	N.T.	0	0	0
Resistance to ethambutol (5µg/ml)	N.T.	0	0	0

a : The test was made by use of TCH, 10 µg/ml

b : The test was made by use of the incubation time 12 hours. In contrast, the test was done by use of the incubation time 24 hours in the other studies.

N.T. : not tested.

SS medium, Ogawa egg medium containing 0.5 mg/ml sodium salicylate.

PNB medium, Ogawa egg medium containing 0.5 mg/ml p-nitrobenzoic acid.

HA medium, Ogawa egg medium containing 125 µg/ml hydroxylamine.

TCH medium, Ogawa egg medium containing 1 µg/ml thiophene-2-carboxylic acid hydrazide.

Sauton agar medium is a modified medium, in which sodium glutamate was substituted for asparagine.

### 成績および考察

成績を Table に示す。Table の結果から、次のことが考えられる。(1) 結核菌は元来 SS 培地発育(-)であるはずであったが、1988 年分離株では発育を示す株が 11% あった。(2) niacin 反応陽性率は段々に高くなってきた。(3) 42°C 発育株は、1988 年分離株で急増した。(4) arylsulfatase 陽性株は 1983 年分離株から急増してきた。(5) Sauton 寒天培地に発育する菌株が若干増加

したかにみえる。

以上の中で、arylsulfatase 3 日反応陽性となるのは *M. fortuitum* のみといわれていた<sup>4)5)</sup>。また、後に *M. chelonae* も 3 日反応陽性とされた<sup>6)</sup>。しかし、1988 年分離の結核菌の 30% もが、この反応を示した。ただし、結核菌の陽性反応は、上記の迅速発育性の 2 菌種と比較するとだいぶ弱い。これらの結核菌の性状の変化がなぜ起こったかは分からない。ここには示さなかったが、最近分離される結核菌は、同じ R 型といっても数十年前の

菌と比べるとR型の度合いが少ないように思われる。性状の変化は、集落形態のS型化（R型でもR型の度合いが少ない）と関連があるのかもしれない。以上の変化は、化学療法の施行とは、一応、関係がないと思われる。化学療法歴のない患者の菌株で比較したからである。

### 結 論

最近分離された結核菌は、以前に分離された菌と比較すると、少し性状が違ってきていると思われる。最近の分離株は、arylsulfatase 活性が強く、niacin 産生能も強くなっている。また、42°Cに発育する株が多い。

### 文 献

- 1) Tsukamura, M., Toyama, H. and Fukaya, Y. : "Tween egg medium" for isolating mycobacteria from sputum specimens. *Microbiol Immunol*, 23 : 833-838, 1979.
- 2) Tsukamura, M. and Tsukamura, S. : Dif-

ferentiation of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* from other mycobacteria. *Tubercle*, 45 : 64-65, 1964.

- 3) Tsukamura, M. : Identification of mycobacteria. *Tubercle*, 48 : 311-338, 1967.
- 4) Kubica, G. P. and Rigdon, A. L. : The arylsulfatase activity of acid-fast bacilli. III. Preliminary investigation of rapidly growing acid-fast bacilli. *Am Rev Respir Dis*, 83 : 737-740, 1961.
- 5) Wayne, L. G. : Recognition of *Mycobacterium fortuitum* by means of a three-day phenolphthalein sulfatase test. *Am J Clin Pathol*, 36 : 185-187, 1961.
- 6) Tsukamura, M. : Differentiation between *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium borstelense*. *Am Rev Respir Dis*, 101 : 426-428, 1970.