

短 報

Mycobacterium avium および *Mycobacterium intracellulare*
の酵素プロファイル

正 木 孝 幸 ・ 梅 橋 豊 蔵

(財)化学及血清療法研究所

受付 平成3年2月21日

ENZYMATIC PROFILE OF *MYCOBACTERIUM AVIUM*
AND *MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE*

Takayuki MASAKI* and Hozo UMEHASHI

(Received for publication February 21, 1991)

The characterization of extracellular enzymatic activities of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* which were identified by DNA probe (Gen-Probe, Cal., USA) was carried out using the API ZYM system (API, La Balme Les Grottes, France).

The enzymatic activities of *M. avium* were attributed to esterase (C4), esterase lipase (C8), leucin arylamidase, acid phosphatase and phosphoamidase.

Enzymatic characterization of *M. intracellulare* was very similar to that of *M. avium*. However, *M. intracellulare* differed from *M. avium* in the following two points :

- (i) Alkaline phosphatase activity was demonstrated,
- (ii) Acid phosphatase activity was much stronger.

Key words : *Mycobacterium avium* complex,
Enzymatic profile

キーワードズ：ミコバクテリウム アビウム コンプレックス, 酵素プロファイル

非定型抗酸菌はその感染症の増加に伴い、他の一般細菌同様に種までの鑑別が必要と考えられるようになってきた。そのため、簡易同定キットやDNA Probe法、さらにDNA hybridization法を用いた鑑別・同定キットが開発された。

著者らは非定型抗酸菌の分類に関する方法論研究の一環として、菌体外酵素活性に着目し、今回は *Mycobacterium avium* (以下、*M. avium*) ならびに *M. intracellulare* の菌体外酵素プロファイルを作成したので報告する。

供試菌株は関東通信病院岡田淳博士によりDNA Probe (Gen-Probe®, USA) で同定された *M. avium* 17株ならびに *M. intracellulare* 13株の計30株の臨床分離株である。菌の酵素活性はAPI-ZYM (API, France)を使用し、添付の能書に従い測定した。判定は添付の色調表を参考に0～5の6段階に区分した。至適菌濃度ならびに至適培養時間を検討後、各菌種の菌体外酵素プロファイルを作成した。

M. avium および *M. intracellulare* の菌体外酵素は、菌濃度はMcFaland No. 6, 培養4時間の反応で測定可能

* From the Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, 668 Ookubo, Shimizu-cho, Kumamoto 860 Japan.

Table. Enzyme activities in 17 *M. avium* and 13 *M. intracellulare* strains by API ZYM

Strain No.	Enzyme														Specis****)				
	Phosphatase alkaline Esterase (C 4)	Esterase Lipase (C 8)	Lipase (C14)	Leucine arylamidase	Valine arylamidase	Cystine arylamidase	Trypsin	Chymotrypsin	Phosphatase acid	Phosphoamidase	α galactosidase	β galactosidase	β glucuronidase	α glucosidase		N-acetyl- β glucosaminidase	α mannosidase	α fucosidase	
CS-1**)	0	4	5	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	<i>M. avium</i>
CS-2	0	4	5	0	5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-3	0	4	5	0	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-4	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-5	0	5	5	0	5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-6	0	5	5	0	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-7	0	5	5	0	5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-8	0	5	5	0	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-9	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-10	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-11	0	5	5	0	5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-12	0	5	5	0	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-13	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-14	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-15	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-16	0	5	5	0	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-17	0	5	5	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-18	4	4	5	0	4	0	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0	<i>M. intracellulare</i>
CS-19	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-20	4	4	5	0	2	0	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-21	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-22	4	4	5	0	4	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-23	4	4	5	0	4	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-24	4	4	5	0	4	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-25	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-26	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-27	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-28	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-29	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"
CS-30	4	4	5	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	"

*) : Hydrolytic activity of substrate ; 0 indicates 0 nanomole, 1, 5 nanomole ; 2, 10 nanomole ; 3, 20 nanomole ; 4, 30 nanomole ; and 5, more than 40 nanomole.

**): Collection number of The Chemo-Sero Therapeutic Research Institute.

***): These strains isolated from clinical specimens were identified by DNA probe (Gen-Probe, USA).

であった。

M. avium 17株の中で活性の認められた酵素は esterase (C4), esterase lipase (C8), leucin arylamidase, acid phosphatase および phosphoamidase の5種であった。他方, *M. intracellulare* 13株の酵素活性は *M. avium* とほぼ同様であったが, alkaline phosphatase 活性を有し, acid phosphatase 活性は強度である点において *M. avium* と異なった (Table)。

抗酸菌の分類には, 多数の表現形状について, コンピューターで Similarity を計算する Numerical Taxonomy¹⁾, ガスクロマトグラフィーによる菌体脂質の分析法²⁾³⁾, DNA-DNA hybridization 法⁴⁾ などや, 菌体成分の血清学的性状によるもの⁵⁾ などがある。しかし, 抗酸菌菌体外の種々の酵素活性測定については少なく, 著者らの調べた限りでは新井ら⁶⁾ および Amador ら⁷⁾ の報告に過ぎず, いずれも今回著者らの検討対象であった *M. avium*, *M. intracellulare* を中心としたものではない。その中で新井ら⁶⁾ は抗酸菌の酵素活性は菌株によりバラツキが多く, *M. tuberculosis* では生物型別が可能であったが, *M. kansasii* や *M. intracellulare* は型別困難であったと述べている。しかし, 今回検討した *M. avium* ならびに *M. intracellulare* の2菌種とも菌株間に酵素活性の差は特に認められず, alkaline phosphatase 活性の有無ならびに acid phosphatase 活性の強弱によりこれら両者は鑑別可能であった。acid phosphatase 活性に関して金井⁸⁾, Saito et al.⁹⁾ の報告がありその有用性は既に示されているが, 今回の著者らの方法による成績でもそれを追認することができた。

現在, 他菌種のこれらの酵素プロファイルも作成中である。

最後に, 貴重な菌株を分与して頂いた関東通信病院岡田淳博士に感謝いたします。

(本論文の要旨の一部は第64回日本感染症学会総会(松山)にて報告した。)

文 献

- 1) Tukamura, M : An approach to numerical identification of bacteria species, J Gen Microbiol, 95 : 207-212, 1976
- 2) Tisdal, P. A., Robarts, G. D., Ahnalt, J. P. : Identification of clinical isolates of mycobacteria with gas liquid chromatography alone, J Clin Microbiol, 10 : 506-514, 1979.
- 3) Lambert, M. A., Moss, C. W., Silix, V. A. : Analysis of mycolic acid cleavage products and cellular fatty acids of mycobacterium species by capillary gas chromatography, J Clin Microbiol, 23 : 731-736, 1986.
- 4) Imaeda, T. : Deoxyribonucleic acid relatedness among selected strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium africanum*, Int J Syst Bacteriol, 35 : 147-150, 1985.
- 5) 田坂博信 : α 抗原について, 臨床検査, 34 : 435-437, 1990.
- 6) 新井俊彦, 小松貞雄 : 抗酸菌の諸性状について(抄), 日本細菌学会(第52回関東支部総会) : 14, 1984.
- 7) Amador, Y. A., Garcia, S. J. F. : Identification de micobacterias de crecimiento rapido utilizando como substrato el sistema API ZYM, Laboratorio, 31 : 223-239, 1976.
- 8) 金井興美 : 抗酸菌の酸性 phosphatase 活性について, 結核, 39 : 149-154, 1964.
- 9) Saito, H., Hosokawa, H. and Tasaka, H. : Acid phosphatase activity of mycobacteria. An aid in the differentiation of *Mycobacterium avium* from nonphotochromogenic acid-fast bacilli, Am Rev Resp Dis, 91 : 279-282, 1965.