

## 〔原 著〕

グリセリンを加えない培地に継代した  
人型結核菌の生物学的性状

東京女子医科大学三神内科教室 (主任 三神美和教授)

東京女子医科大学細菌学教室 (主任 平野憲正教授)

大学院学生 野 地 キ ミ

(受付 昭和40年5月29日)

## I. 緒 言

非定型抗酸菌の或グループのものは、培養上人型結核菌に似ているが、モルモットに対して病原性がなく、ナイアシントテストは陰性であり、普通寒天培地に生えるなどの諸点が人型結核菌との主なる相違点であると考えられていた。しかるに人から分離された非定型抗酸菌は人型結核菌と血清学的に共通抗原を有し<sup>1)2)3)</sup>、マウスに対しても結核性の病変を示すばかりでなく<sup>4)</sup>、またウサギの睾丸内接種によつて結核性の病変を示し<sup>5)6)</sup>、近年非定型抗酸菌を検出した患者の病理組織像も人型結核菌による変化と変りがないことも報告されている<sup>7)</sup>。一方、人型結核菌の保存株 H<sub>37</sub>Rv, H<sub>2</sub> および青山Bが普通寒天に生えることについては、さきに平野および須子田<sup>8) 9)</sup>によつて報告された。Henley<sup>10)</sup>はグリセリンを含まない培地に結核菌の生えることを認めているが、著者はこれらの保存菌株が Kirchner 培地からグリセリンばかりでなくリン酸二ナトリウム (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) を除いた培地にも上記の菌株が發育することを認めたので、Kirchner から上記の成分のほか、さらに種々の成分を除いたものに結核菌を培養して結

核菌の發育し得る最後の線を検討し、かかる環境に培養することによつて結核菌の生物学的性状に変化を来すことはないかを研究した。さらに保存菌株ばかりでなく、肺結核患者の検査材料から新たに分離された抗結核剤耐性人型結核菌についても、普通寒天培地に發育を示す菌株のある事が認められたので<sup>11)</sup>、このような菌株についても同様に生物学的性状の検討を行ない、定型的な人型結核菌の性状に比べて異なる性状を示すものがあるかどうかを併せ研究を行なつた。

## II. 実験方法

使用菌株： この実験には人型結核菌の保存菌株 H<sub>37</sub>Rv, H<sub>2</sub> および青山Bの3株のグリセリンを抜いた Kirchner 培地に發育を示すようになった H<sub>37</sub>Rv-g, H<sub>2</sub>-g および青山B<sub>3</sub> 株と、患者から分離された抗結核剤耐性人型結核菌 R-5, R-6 および R-9 の3株を用いた。

実験方法： Kirchner 培地からグリセリンとリン酸二ナトリウムを除いたもの(培地1)と、その中からさらに硫酸マグネシウムを除いたもの(培地2)、さらにクエン酸ナトリウムを除いたもの(培地3)を、次に示すような処方によつて作成し、普通寒天培地に12代継代培養した H<sub>37</sub>Rv と普通寒天培地に9代継代培養を行なつた青山Bと H<sub>2</sub> とを培養し、37°C、約1カ月観察、發育

Kimi NOJI (Mikamiclinic, Department of Internal Medicine and Department of Bacteriology, Tokyo Women's Medical College): Studis on biological characteristics of human tubercle bacilli successively cultivated on glycerol-free Kirchner medium.

するか否かを検した。

- 培地 1. リン酸二水素カリウム 0.3 g  
 クエン酸ナトリウム 0.1 g (小西)  
 硫酸マグネシウム 0.1 g (関東化学)  
 アスパラギン 0.3 g (関東化学)  
 蒸溜水 100.0ml.  
 pH6.8
- 培地 2. リン酸二水素カリウム 0.3 g  
 クエン酸ナトリウム 0.1 g  
 アスパラギン 0.3 g  
 蒸溜水 100.0ml.  
 pH6.6
- 培地 3. リン酸二水素カリウム 0.3 g  
 硫酸マグネシウム 0.1 g  
 アスパラギン 0.3 g  
 蒸溜水 100.0ml.  
 pH6.6

生物学的性状の検査：

1) 合成培地(1)に6回継代培養を行なった H<sub>37</sub>Rv-g, H<sub>2-3</sub>, と青山B<sub>3</sub> 菌株を小川培地に培養し、実験に用いた。これらの菌株の性状は表1に示すようであつて、1%小川培地に発育するばかりでなく普通寒天培地にもよく発育し、グリセリン抜き合成培地に著明な菌膜を形成するものであつて、すべてナイアシン試験は陽性であつた。

2) 患者から分離された結核菌 R-5, R-6 および R-9

表1 実験に用いた菌株の性状

Strain	1% 小川培地	普通寒天 培地	グリセリン 抜合成培地	ナイアシン 試験
H <sub>37</sub> Rv-g	+	+	+	+
青山B <sub>3</sub>	+	+	+	+
H <sub>2-3</sub>	+	+	+	+

の3株は、いずれも抗結核剤に対して表2に示すような耐性株である。すなわち SM に対しては1000γ完全または不完全耐性を示し、INH には5γ不完全耐性、1~0.1γ, PAS 10γ, の完全耐性であり、PZA 1000~3000γの不完全耐性、10~3000γの完全耐性であつた。

集落の分離法としては、結核菌の保存株においてはそれぞれグリセリンを加えない合成培地に発育を示した菌膜より1%小川培地に培養し、患者よりの分離菌は直接法により耐性検査を行なったストレプトマイシン加小川培地に発育したものから1%小川培地に移植し、いずれも37°C 2~4週間培養した菌を用いた。小川培地に発育した菌を定量白金耳でガラス玉入コルベンにとり、手振り法で5分間振り、湿菌量にて1mg/ml. の濃度になるように食塩水菌浮遊液を作り、さらに食塩水にて1×10<sup>-6</sup>mg/ml. に希釈し、その0.1mlを1%小川平板培地に流し、コンラージ棒にてあげ、セロテープにて封じ、37°C80日間培養した。発生した集落の全部を鈎菌し、それぞれ1%小川培地に移植し、37°C1カ月培養した菌についてナイアシンテストを行ない、これを更に小川培地に移植して37°Cで、14日間培養を行なった菌についてカタラーゼ活性、中性紅反応、抗煮沸性試験法を行なった。

1) ナイアシン試験<sup>12)</sup>：抗酸菌の中で人型結核菌のみが多量にニコチン酸を産生することから、人型結核菌とそれ以外の抗酸性菌とを生化学的に鑑別する方法として、アニリンプロームシアン法とベンジジンプロームシアン法とがあるが、当実験においてはベンジジンプロームシアン法を採用した。実験方法としては、1%小川培地に約1カ月培養した菌苔の斜面部に、熱水約1.5mlを注ぎ振盪、5分間水平に静置、菌液0.2mlを小試験管に入れ、3%ベンジジンエタノール液(ベンジジン3g, エタノール100ml)0.1mlを混和し、それに臭化シアン飽和溶液(10%臭化シアン10.5gに蒸溜水を

表2 患者から分離した結核菌の耐性検査成績(直接法一中検細菌)

株	SM		PAS		INH		PZA	
	完全耐性	不完全〃	完全耐性	不完全〃	完全耐性	不完全〃	完全耐性	不完全〃
R-5	1000γ	/	10γ	/	1γ	5γ	10γ	1000γ
R-6	1000γ	/	10γ	/	/	5γ	1000γ	3000γ
R-9	10γ	1000γ	10γ	/	0.1γ	5γ	3000γ	/

注：SM—ジヒドロストレプトマイシン PAS—パス INH—ヒドラジッド  
 PZA—ピラジナマイド

10%になるように入れる) 0.1ml をまぜ、よく振る。5分ぐらい後にまた振盪して判定する。白色沈澱(一)、ピンクの沈澱(+),赤ピンク色の沈澱(++)であつて、着色した菌は人型結核菌と決定する。

2) 中性紅反応試験: Dubosら<sup>13)</sup>および柏村<sup>14)</sup>の方法に従つて1%小川培地培養2週間の菌を使用して中性紅反応を施行した。すなわち密栓のできる試験管に5%メタノールを5ml ずつとり、これに菌集落1~2個をとり、37°Cのフラン器に1時間保つた後、メタノールを捨て、この操作を2度くり返し、これに約5mlの新鮮なアルカリ性緩衝液(食塩5g, 溶性バルビタール1g, 蒸留水100ml)を加え、それに0.05%中性紅水溶液を0.2ml 加え、37°Cに1時間保つた後に観察し、判定にあつては、菌塊が深紅色を呈するものを(++), 紅色を呈するものを(+), 淡紅色を呈するものを(±), (+)以上を中性紅反応陽性とし、菌塊が中性紅の紅色とはならない供試菌塊固有の色調のみを呈するものは(一)とした。人型結核菌は陽性、非定型抗酸菌は陰性である。

3) カタラーゼ活性試験: 植田<sup>15)</sup>の方法により、清拭したスライドグラスに1%小川培地培養2週間の菌を1白金耳とり、これに新鮮な3%過酸化水素水を1滴おとし発泡の強さを観察した。判定にあつては、全層にこまかい泡のあるもの(++), 一層の泡(+), あちこちに泡(±), 3~4コの泡(一)とした。人型結核菌は弱陽性であるが、非病原性の抗酸菌は活性が強い。

4) 抗煮沸性試験<sup>16)</sup>: 1%小川培地に2週間培養した菌を塗抹、乾燥、固定した標本をおのおの5枚作り、Ziehl-Nelsenの石炭酸フクシン染色を施した後、沸騰蒸留水中に浸し、15秒, 30秒, 1分, 5分, 10分毎に1枚ずつ取出し、放冷してからメチレン青にて後染色し、鏡検を行ない、散在菌についてフクシンの脱色の有無を検した。脱色に要した時間をkfなる符号で現わした。人型結核菌はkf5~20を示すが、非病原性抗酸菌のkfは1内外以下である。

### III. 実験成績

人型結核菌はKirchner培地からグリセリンとリン酸二ナトリウムを除いたものには良く発育したけれども、それより更に硫酸マグネシウム或はクエン酸ナトリウムを除いたものには発育しなかつた。したがつてKirchner培地からグリセリンとリン酸二ナトリウムを除いたもの(培地1)は、人型結核菌が発育し得る限界の培地と考えられる。上述したように、普通寒天培地に12代継代

培養を行なつたH<sub>37</sub>Rv, 9代継代培養した青山BとH<sub>2</sub>とを上記の液体培地に6代継代培養してから小川培地に移し、その生物学的性状を検した。

#### (1) グリセリンを加えない培地に継代培養した人型結核菌(保存菌株)の生物学的性状

人型結核菌はナイアシン試験陽性、カタラーゼ活性陽性、中性紅反応陽性、抗煮沸性試験にて脱色され難く、Kf値5~20以上である。本実験に用いた人型結核菌H<sub>37</sub>Rv-g, 青山B-3およびH<sub>2</sub>-3はいずれも前述のように普通寒天培地からさらに合成培地に移植し、それをさらに小川培地に培養したものであつて、これらの株は表3に示すように、H<sub>37</sub>Rv-g株の40個の集落のうち、ナイアシン試験の成績において28株は中等度陽性、11株は強陽性で、97.5%は本来の人型結核菌の性状を示し、ナイアシン試験で微弱陽性のものが1株(約2.5%)であつた。青山B-3においても同様に1株(2.8%)が微弱陽性であつたが、その他の35株(97%)は中等度陽性であつた。H<sub>2</sub>-3では17集落のすべて陽性であつた。すなわちナイアシン陰性のものはH<sub>37</sub>Rv-g, 青山B-3およびH<sub>2</sub>-3の3株のうち、いずれも認められなかつたが、H<sub>37</sub>Rv-gおよび青山B-3のそれぞれ1集落ずつ、すなわち2集落が微弱陽性であつた。カタラーゼ活性においては、強く発泡を示すものが青山B-3株の分離集落35株中3株の集落に認められたが、H<sub>37</sub>Rv-gおよびH<sub>2</sub>-3においては強陽性のものは認められなかつた。中性紅反応においてはH<sub>37</sub>Rv-gの分離集落の38株のうち2株(5.3%), 青山B-335株のうち14株(40%)の集落が弱い反応を示したが、陰性のものはなかつた。上述の実験において親株に比していずれか1つ性状の異なるものを表4に一括して示した。これによると、H<sub>37</sub>Rv-gのNo.4株はナイアシン試験が微弱陽性であつたが、中性紅反応は陽性、カタラーゼ試験においては発泡の程度がやや強く、抗煮沸性試験ではkf=10以上であつた。中性紅反応で着色のやや弱かつたNo.32およびNo.44においては、いずれもナイアシン試験は陽性であり、カタラーゼ活性の程度はやや強い傾向を示したが、抗煮沸性試験においては、No.32はkf=10以上で、No.44

表3 人型結核菌 H<sub>37</sub>Rv-g, 青山B<sub>3</sub> および H<sub>2-3</sub> を小川培地に希釈培養を行ない, 発生した集落を純粹に培養した菌における諸試験成績

	Strain	—	±	+	++	Total
ナイアシン 試験成績	H <sub>37</sub> Rv-g	0	1 (2.5)	28 (70.0)	11 (27.5)	40
	青山B <sub>3</sub>	0	1 (2.8)	35 (97.2)	0	36
	H <sub>2-3</sub>	0	0	8 (47.1)	9 (52.9)	17
	Total	0	2 (2.1)	71 (76.4)	20 (21.5)	93
カタラーゼ 試験成績	H <sub>37</sub> Rv-g	0	8 (21.0)	30 (79.0)	0	38
	青山B <sub>3</sub>	0	2 (5.7)	30 (85.7)	3 (8.6)	35
	H <sub>2-3</sub>	0	1 (6.3)	15 (94.7)	0	16
	Total	0	11 (12.4)	75 (84.2)	3 (3.4)	89
中性紅反応 成績	H <sub>37</sub> Rv-g	0	2 (5.3)	36 (94.7)	0	38
	青山B <sub>3</sub>	0	14 (40.0)	12 (34.3)	9 (25.7)	35
	H <sub>2-3</sub>	0	0	13 (81.2)	3 (34.3)	16
	Total	0	16 (18.0)	61 (68.5)	12 (68.5)	89

注：数字は集落株数，括弧内数字は総集落数に対する陽性株数のパーセント

ナイアシン試験：白色（—），薄ピンク（±），濃ピンク（+），赤（++）

カタラーゼ活性：泡3～4コ（—），あちこちに泡（±），1層の泡（+），全層の泡（++）

中性紅反応：菌色（—），淡紅色（±），紅色（+），深紅色（++）

表4 人型結核菌の保存株より分離された菌株中，ナイアシン試験，中性紅反応およびカタラーゼ活性試験の内，1つ以上弱陽性或いは強陽性を示したものの生物学的性状

Strain	集落 No.	ナイアシン 試験	中性紅 反応	カタラーゼ	抗煮沸性試験 (Kf=)				
					15''	30''	1'	5'	10'
H <sub>37</sub> Rv-g	4	±	+	+	—	—	—	—	—
	32	+	±	+	—	—	—	—	—
	44	+	±	+	—	—	—	—	±
青山B <sub>3</sub>	5	+	±	+	—	—	—	—	—
	7	±	+	++	—	—	—	—	+
	13	+	±	++	—	—	—	—	—
	20	+	±	+	—	—	—	—	—
	22	+	±	+	—	—	—	—	—
	25	+	±	+	—	—	—	±	+
	27	+	±	+	—	—	—	—	—
	28	+	±	+	—	—	—	—	—
	30	+	±	+	—	—	—	—	±
	32	+	+	++	—	—	—	—	—
	36	+	±	+	—	—	—	—	—
	38	+	±	+	—	—	—	—	—
	39	+	±	+	—	—	—	—	—
	41	+	±	+	—	—	—	—	—
	42	+	±	±	—	—	—	—	—
43	+	±	+	—	—	—	—	—	

においては10分でやや脱色した菌が認められた。青山 B<sub>3</sub> においてはナイアシン試験の成績において非常に弱い反応を示した No. 7 について見ると、中性紅反応は陽性、カタラーゼ活性強陽性、抗煮沸性試験では  $kf=10$  であつた。同じく青山 B<sub>3</sub> から分離された菌株のうち、中性紅反応弱陽性を示した16個の集落のうち、No.13 はカタラーゼ活性が強陽性であり、No.25 は抗煮沸性試験で  $kf=5$  であり、No. 30 では抗煮沸性試験で  $kf=10$  であつた。また No.32はカタラーゼ活性のみ強陽性で、他に著明な変化は認められなかつた。すなわち、これら4種の検査を行なつたもののうち、青山B<sub>3</sub> の No.7 および No.13 の成績が定型的人型結核菌のそれとはやや相違していた。

## (2) 肺結核患者より分離された結核菌の生物学的性状：

本実験には本学付属病院の中央検査室において分離された R-5, R-6 および R-9 の3株を用いた。これらの菌株の小川培地の培養菌より菌液を作り、その希釈液を小川培地の平板にまき、発生した集落全部をそれぞれ純粋に培養し、それらについて、ナイアシン試験、中性紅反応、カタラーゼ試験、抗煮沸性試験等を行なつた、その成績を表5に一括した。これによると、ナイアシン試験の成績は R-5 株より分離された集落31個のうち2株 (No. 3, No. 8) が微弱陽性で、R-6 より分離された25株および R-9 より分離された33株に

おいてはいずれも弱陽性または陰性を示すものは認められず、中等度ないし強い反応を示した。カタラーゼ活性は R-5 より分離された28菌株のうち1株 (No. 24) が強陽性を示し、他は R-6 および R-9 より分離されたものも大多数が中等度の陽性を示し、少数のものが微弱陽性であつた。中性紅反応では R-6 から分離された27株のうち1株 (No.25) だけが陰性であり、また R-9 から分離された32株のうち9株が弱陽性であつた。上述のように結核菌と診断された患者からの分離株 R-5, R-6 および R-9 より平板培地に分離培養した集落数10株について、ナイアシン試験、カタラーゼ活性、中性紅反応試験を行なつた結果は、その中に定型の結核菌とは異つた菌株が認められたので、これらの菌株の性状を一括して表6に示した。これによると、R-5 株から分離された No. 3 および No. 8 はナイアシン試験において薄いピンク色 (±) を示したが、中性紅反応陽性、カタラーゼ活性陽性、抗煮沸性試験はいずれも  $kf=10$  以上の脱色時間を示した。No.24 はカタラーゼ活性が強かつたが、ナイアシン試験、中性紅反応はいずれも陽性であり、抗煮沸性試験における脱色時間は  $kf=15$  で脱色された。R-6 株から分離された No.25 の中性紅反応は繰り返し検査を行なつたが陰性であつた。しかしナイアシン試験陽性、カタラーゼ活性も陽性、抗煮沸性試験は  $kf=10$  以上であつた。R-9 株から分離されたもののう

表5 患者より分離した抗結核剤耐性結核菌における生物学的検査成績

	Strain	—	±	+	++	Total
ナイアシン 試験成績	R-5	0	2 (6.4) %	18 (58.1) %	11 (35.5) %	31
	R-6	0	0	20 (80.0)	5 (20.0)	25
	R-9	0	0	27 (81.8)	6 (18.2)	33
	Total	0	2 (2.3)	65 (73.0)	22 (24.7)	89
カタラーゼ 試験成績	R-5	0	3 (10.7)	24 (85.6)	1 (3.7)	28
	R-6	0	4 (14.8)	23 (85.2)	0	27
	R-9	0	4 (12.5)	28 (87.5)	0	32
	Total	0	11 (12.6)	75 (86.2)	1 (1.2)	87
中性紅反応 成績	R-5	0	0	27 (96.4)	1 (3.6)	28
	R-6	1 (3.7)	0	23 (85.2)	3 (11.1)	27
	R-9	0	9 (28.1)	20 (62.5)	3 (9.4)	32
	Total	1 (1.2)	9 (10.3)	70 (80.5)	7 (8.0)	87

注：数字は分離集落の菌株数、括弧内数字は総集落数に対する陽性株数のパーセント

表6 患者より分離した抗結核剤耐性結核菌中、ナイアシン試験、中性紅反応試験およびカタラーゼ活性試験のうち、1つ以上弱陽性或いは強陽性を示したものの生物学的性状

Strvain	集落No.	ナイアシン試験	中性紅反応	カタラーゼ	抗煮沸性試験					
					15''	30''	1'	5'	10'	15'
R-5	3	±	+	+	-	-	-	-	-	-
	8	±	+	+	-	-	-	-	-	-
	24	+	+	+	-	-	-	-	-	+
R-6	25	+	-	+	-	-	-	-	-	-
R-9	8	+	±	+	-	-	-	-	-	-
	10	+	±	+	-	-	-	±	+	-
	12	+	±	±	-	-	+	+	+	-
	21	+	±	+	-	-	-	±	+	-
	23	+	±	+	-	-	-	-	±	-
	30	+	±	+	-	-	-	-	+	-
	36	+	±	+	-	-	-	±	+	-
	37	+	±	+	-	-	-	-	+	-
38	+	±	±	+	-	-	-	±	±	

ち中性紅反応の弱陽性のものが9株あつたが、これらはいずれもナイアシン試験陽性、カタラーゼ活性は陽性であつた。No.12は中性紅反応が弱陽性であつたばかりでなく、抗煮沸性試験で1分で脱色され、ナイアシン試験は陽性であつた。その他の8株は  $kf=5\sim 10$  であつた。上述したように R-9 から分離された菌株のうち、No.12株は定型的な人型結核菌のそれと、やや異なる性状を示した。

#### IV. 綜括ならびに考按

以上の実験に用いられた人型結核菌の保存菌株および患者から新たに分離された結核菌は、いずれも普通寒天培地に発育を示したものであつて、これらの菌株の生物学的性状について実験を行なつた。著者は Kirchner 培地からグリセリンとリン酸二ナトリウムを除いた培地に人型結核菌 H<sub>37</sub>Rv、青山Bおよび H<sub>2</sub> 株を培養し、この培地が本菌の発育し得る限界であることを認めたので、かかる培地に数代培養したならば菌の性状に変化を来すことはないかと考え、これらの菌株について、ナイアシン試験、中性紅反応、カタラーゼ試験を行なつて見ると、親株と全く同じであつて、いずれも陽性成績を示した。更にグリセリンおよびリン酸二ナトリウムを除いた培地に発育した結核菌 H<sub>37</sub>Rv-g、青山B<sub>3</sub> および H<sub>2</sub><sub>3</sub> のお

のこの株をそれぞれエムルジョンとし、希釈菌液を1%小川培地の平板にまいて培養し、発生した集落を拾つておのおの1%小川培地に培養し、個々の集落よりの菌株について生物学的諸性状を検査したならば、親株と異つた集落が見出されるかも知れないと考えて実験を行なつた。この実験は、さきに平野らの非定型抗酸菌に関する一連の実験で、非定型抗酸菌を1%小川培地平板に培養し、発生した集落の生物学的性状について実験した結果、その親株では明らかにナイアシン試験陰性であつたが、集落の中にはナイアシン微弱陽性を示すものがあり、これらの集落はモルモットに対して病原性を示すものがあつて、人型結核菌と殆んどその性質の差異が認められないという結論から、人型結核菌の中にもその集落に分離して実験を行なつてみるならば、非定型抗酸菌に近似のものが含まれているのではないかと考えたからである。その結果、人型結核菌の保存株 H<sub>37</sub>Rv および青山Bから分離された集落93株のうち、ナイアシン試験弱陽性のもの、中性紅反応弱陽性のもの、カタラーゼ活性強陽性のものがあり、肺結核患者から分離された抗結核剤耐性結核菌について行なつた実験の結果も同様であつた。親株と異つた成績を示したのは少数株あつたが、これらはナイアシン試験、中性紅反応、カタラーゼ活性試

験, 抗煮沸性試験のうちの一つだけにおいて, ナイアシン試験が弱陽性とか中性紅反応が弱いもの, カタラーゼ活性が強いもの, 抗煮沸性試験にて脱色のやや早いものがあつたが, 青山B<sub>3</sub>のうち1株(No. 7)および R-9 株のうち1株 (No. 12) は上記検査の2種の検査において親株のそれとやや異つた成績を示した. すなわち人型結核菌の保存株或いは患者から分離した抗結核剤耐性の結核菌を集落に分けて観察すると, 生物学的性状において僅かに性状を異にしているものが認められた. このような性状を異にする集落の発生率は, 本実験においては人型結核菌青山B株では分離集落  $36 \times 10^6$  個/0.1ml に1個の割合に, また患者から分離された抗結核剤耐性結核菌 R-9 株においてもほぼ同様であつて  $32 \times 10^6$  個/0.1ml に1個の割合の発生率であつて, おおよそ  $1 \times 10^8$  個/ml の集落のうち1個の割合に含まれているものではないかと考えられる. かように性状に変化を来たしたのも, 次の代になるとだいたい元の親株の性状にかえる傾向がしばしば認められた. したがつて患者から分離された抗酸菌のナイアシン試験, 中性紅試験, カタラーゼ試験等の成績が極めて弱いとか, 強すぎるとかというような場合には, これを継代して性状の再検査をする必要があると思う. また H<sub>37</sub>Rv は Kirchner 培地からグリセリンとリン酸二ナトリウムを除いた培地に数代継代培養を行なつても, その性状には変化を来さないようである. したがつて本実験における如く人型結核菌の保存菌株をグリセリンおよびリン酸二ナトリウムを抜いた培地に数代継代培養を行なつたものでも, またこれより集落に分離してその個々の集落について実験を行なつても, 更に新たに患者から分離した人型結核菌の分離集落においても, 非定型抗酸菌の性状に一致するようなものは見出すことができなかつた. おおよそ  $1 \times 10^8$  個/ml に1個ぐらいの集落株は親株の生物学的性状とかなり異なる性状を示すものがあるが, まだこの性状が安定性のあるものであるかどうかは本実験の結果からは明らかでない.

## V. 結 論

### 1. 人型結核菌の保存株 H<sub>37</sub>Rv, H<sub>2</sub> および青

山Bは Kirchner 培地からグリセリンとリン酸二ナトリウムを除いた培地には発育するけれども, それ以上いずれの成分を除いても発育しない. したがつて上記の培地は人型結核菌が発育し得る限界のものであると思われる.

2. 上記の培地に人型結核菌を数代培養しても, ナイアシン試験, 中性紅試験, カタラーゼ活性, 抗煮沸性試験等の成績に変動を認めることはできなかつた.

3. 上記の合成培地に生えた菌をエムルジオンとして小川培地の表面にまいて培養し, 発生した集落をとり, 純粋に培養し, それらについて生物学的性状を検し, また患者から分離した R-5, R-6 および R-9 の3株をそれぞれ希釈して分離培養を行ない, 発生した集落を拾つて上記と同様の検査を行なつた結果, 4種の検査のうち1種のみ検査成績が親株の性状とやや異なるものが10数株ずつあることを認めた. R-9 株では, 極めて稀ではあるがただ1株においてナイアシン試験は陽性で, 中性紅反応およびカタラーゼ活性弱陽性であり,  $kf=1$  のものがあつて, 親株とやや異つた成績を認めた. しかし4つの検査のうち, 3種以上の検査成績で異常を認めたものはなかつた. ナイアシン試験の成績が弱い場合に, これを継代して同試験を行なうと, 通常強い反応が現われる.

4. 以上の成績から見ると, 不適當なる培養条件の程度では結核菌の生物学的性状に変動を認めるが, その性状は不安定であつた.

稿を終るにあたり, 終始御懇篤なる御指導御校閲を賜つた本学細菌学教室平野憲正教授, 三神内科教室三神美和教授に謝意を表わすと共に, 種々御援助と御教示いただいた細菌学教室須子田キヨ講師に深謝致します.

(本稿の要旨は昭和39年4月東京女子医科大学学会第125回例会において発表した.)

## 文 献

- 1) Hirano, N. and K. Sushida: Japan J Microbiol 4 303 (1960)
- 2) Sushida, K. and N. Hirano: Japan J Microbiol 6 113 (1962)
- 3) Sushida, K. and N. Hirano: Japan J Microbiol 7 9 (1963)
- 4) 張 登川: 東女医大誌 30 100 (昭35)

- 5) **Hirano, N. & K. Sushida:** Japan J Microbiol 5 35 (1961)
- 6) **Hirano, N. & K. Sushida:** Japan. J. Microbiol 5 174 (1961)
- 7) **Corpe, R.F., E.H. Runyon and W. Lester:** Amer Rev Resp Dis 87 459 (1963)
- 8) 平野憲正・須子田キヨ : 医学と生物学 63 43 (1962)
- 9) 平野憲正・須子田キヨ・野地キミ : 日細菌誌 19 (8) 197 (1964)
- 10) **Henley, R.R.:** Amer Rev Tuberc 32 724 (1935)
- 11) 平野憲正・須子田キヨ・弥吉真澄 : 日細菌誌 19 (9) 293 (1964)
- 12) 今野 淳 : 抗研誌 9 1 (1953)
- 13) **Dubos, R.J. and G. Middlebreck:** Amer Rev Tuberc 58 698 (1948)
- 14) 柏村晋一郎 : 広島医学 7 1829 (1959)
- 15) 植田三郎 : 結核菌検査の実際 南江堂 東京 1950 25頁
- 16) 戸田忠雄 : 結核菌とBCG 南山堂 東京 1944 108頁