

# 抗酸菌の PABA あるいは Procain 加培地 における絮状沈澱物産生現象と PAS 加培 地における黄色色素産生現象

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

福 山 裕 三

（受付：昭和40年12月1日）

## 緒 言

かねてより抗酸菌の芳香族化合物の代謝過程に複雑な酵素反応が多く存在するであろうと予測し、さきに PAS 黒化現象<sup>1)</sup>がある特殊な菌群にのみおこり得ることを認め、これが抗酸菌分類の一方法<sup>2)</sup>として利用され得ることを報告したが、その研究途上ある濃度の PAS を含む培地である菌群は鮮明な黄色色素<sup>2)</sup>を産生することを認めた。さらに PABA および Procain

加培地を用いて検討した結果、ある菌群は白色または黄色のゲル状の絮状沈澱物を産生することを認めた。これら三つの現象とアリルサルファターゼ3日テスト<sup>3)</sup>を各種抗酸菌について検討した結果、これらの現象は抗酸菌の分類に役立つであろうと思われる成績を得た。以下その概要を述べる。

## 材料および方法

培地：血清を含まないキルヒナー液体培地にそれぞれ PAS を 1mg/ml, PABA を 1mg/ml, Procain を 2mg/ml の濃度を加え、またいずれの薬品も含まない対照を用意し、それぞれ pH. 7.0 に修正し 120°C 15 分間滅菌し実験に供した。

供試菌株：第1表に示す32株の抗酸菌を用いた。それらは photochromogen 1株, nonphotochromogen 5株, scotochromogen 4株, *M. fortuitum* 17株, *M. smegmatis* 1株, *M. phlei* 1株, その他3株（竹尾株, 獣調株, 細谷株）である。

培養方法：あらかじめキルヒナー液体培地の表面に発育させた各菌株を対照, PAS 加培地, PABA 加培地, Procain 加培地の表面に浮遊させて培養し、1週毎に培地の色調の変化、絮状沈澱物の有無を観察し4週後に PABA 加培地ならびに Procain 加培地では絮状沈澱物の有無およびその色調、PAS 加培地では PAS 黒化現象の有無あるいは黄色色素産生状態から

次に示した基準に従って判定した。

絮状沈澱物 卅：液面の  $\frac{1}{2}$  の高さ。

++：液面の  $\frac{1}{4}$  の高さ。

＋：液面の  $\frac{1}{8}$  の高さ以下。

(Y)：黄色を帯びる。

PAS 黄色色素 ＋：菌は橙色に着色され、管底に橙黄色沈澱物を認める。

PAS 黒化度 卅：黒色。

++：黒褐色。

＋：褐色

なお、*M. fortuitum* の鑑別のためにアリルサルファターゼ3日テストを各菌株について行った。この実験では 0.001M tripotassium phenolphthalein disulfate を含むキルヒナー液体培地に培養後3日目に 2N-NaOH を数滴滴下し淡紅ないし紅色の呈色をみたものを陽性と判定した。

## 結果および考察

1 mg/ml PABA, 2 mg/ml Procain, 1 mg/ml PAS をそれぞれ含むキルヒナー液体培地に32株の抗酸菌をそれぞれ表面培養し, PABA 加培地および Procain 培地では絮状沈澱物の産生の有無を PAS 加培地では PAS 黒化現象あるいは PAS 黄色色素産生現象を観察したが4週後の成績は第1表に示した。またアリルサルファターゼ3日テストの結果もこれに加えた。

PABA あるいは Procain 加培地において絮状沈澱物を産生しない株はいわゆる三林群に属

する三林, A-62, OP-182, OP-303, OP-605 LAN-37A, LAN-37の7株であった。これらは全て PAS 黒化現象を呈する株であり, また PAS 黒化現象を呈するもう一つの群すなわち山本s群とはツベルクリン反応ではっきり区別されることは前報<sup>2)</sup>でのべたが, ここでも PABA (あるいは Procain) 絮状沈澱物産生現象の有無により絮状沈澱物を産生しない三林群と産生する山本s群にはっきり鑑別出来ることは抗酸菌の分類という見からみても重要な所見であろうと考えられる。

第1表 各種抗酸菌のPABAまたは Procain 絮状沈澱物産生現象, PAS黒化現象, PAS 黄色色素産生現象およびアリルサルファターゼ3日テスト

菌株	テ ス ト	PABA 絮状沈澱物 産生現象	Procain 絮状沈澱物 産生現象	PAS 黒化現象	PAS 黄色色素 産生現象	アリルサル ファターゼ 3日テスト
三林		-	-	+++	-	+
A-62		-	-	+++	-	+
OP-182		-	-	+++	-	+
OP-303		-	-	+	-	+
OP-605		-	-	+	-	+
LAN-37		-	-	++	-	+
LAN-37A		-	-	++	-	+
山本s		++	+++	+++	-	+
佐藤		++	+++	+++	-	+
335-R		++	+++	+++	-	+
P-5		++	+++	++	-	+
P-27		++	+++	++	-	+
OP-606		+	++	++	-	+
OP-80A		+(Y)	+(Y)	-	+	+
OP-155		+(Y)	+(Y)	-	+	+
OP-156		+(Y)	+(Y)	-	+	+
OP-295		+(Y)	+(Y)	-	+	+
フレイ		+++ (Y)	+++ (Y)	-	-	-
P-8		+(Y)	+++	-	-	-
P-17		+(Y)	+++	-	-	-
P-44		+(Y)	+++	-	-	-
上田		+(Y)	+++	-	-	-
甲府		+++ (Y)	+++	-	-	-
島本		+++ (Y)	+++	-	-	-
P-48		+++ (Y)	+++	-	-	-
石井		++ (Y)	+++	-	-	-
大久		+++ (Y)	+++	-	-	-
松本		++ (Y)	+++	-	-	-
竹尾		+	+	-	-	-
獣細		+	+	-	-	-
スメグマ		+	+	-	-	-

また *M. fortuitum* のうち PAS 黒化現象を呈さない群 (OP-80A, OP-155, OP-156, OP-295) はすべて PAS 加培地において鮮やかな橙黄色の色素<sup>2)</sup>を産生するが、この菌群は PABA 加培地, Procain 加培地では黄色を帯びた絮状沈澱物を産生することを認めた。1944年 Mayer<sup>4)</sup> が PABA および Procain から黄色色素を産生する結核菌 No. 607 について述べているがおそらくこの黄色の呈色を指しているのではないかと推察される。

非定型抗酸菌の Runyon<sup>5)</sup> の分類の I, II, III 群の各株は 1 mg/ml PAS 培地では発育出来ないために PAS 黒化現象ならびに PAS 黄色色素産生現象の判定は不能であるが、PABA あるいは Procain 加培地ではすべてに明らかな絮状沈澱物が認められる。しかし PABA 加培地における絮状沈澱物はレモン黄色に着色されているが Procain 加培地では乳白色の沈澱物を

作る。この所見は両培地でレモン黄色に呈色する *M. fortuitum* OP-80 A 群および両培地で黄色に呈色しない *M. fortuitum* 山本 s 群との鑑別点として重要な所見であると思われる。

またいわゆる鳥型菌といわれる竹尾, 獣鳥, 細谷株とスメグマ菌は PABA あるいは Procain 加培地にてわずかに絮状沈澱物を産生し, PAS 加培地では液面に浮遊発育する菌集落がレモン黄色に呈色するが OP-80A 群の橙黄色の呈色とは趣きを異にし, また管底にも黄色色素の沈澱は認められない。

以上の成績を総合すれば, PABA 絮状沈澱物産生現象, Procain 絮状沈澱物産生現象, PAS 黒化現象, PAS 黄色色素産生現象, アリルサルファターゼ 3 日テストの 5 つの現象およびテストの組み合わせから抗酸菌の各菌群間の鑑別点を第 2 表のごとくまとめることが出来ると考えられる。

第 2 表 抗酸菌の PABA および Procain 絮状沈澱物産生現象, PAS 黒化現象, PAS 黄色色素産生現象, アリルサルファターゼ 3 日テスト

菌 群	テ ス ト	絮状沈澱物産生		PAS		アリルサル ファターゼ 3 日テスト
		PABA	Procain	黒化現象	黄色色素	
* IV 群	三 林 群	-	-	+	-	+
	山 本 s 群	+	+	+	-	+
	OP-80A 群	+(Y)	+(Y)	-	+	+
	I, II, III 群*	+(Y)	+	-	-	-
	いわゆる鳥型菌	+	+	-	-	-
	<i>M. smegmatis</i>	+	+	-	-	-
	<i>M. phlei</i>	+(Y)	+(Y)	-	-	-

註 +(Y) : 黄色の絮状沈澱物産生

\* : Runyon の分類による。

### 結 論

ある種の抗酸菌を 1 mg/ml PABA あるいは 2 mg/ml Procain を含むキルヒナー液体培地に表面培養すると白色またはレモン黄色の絮状沈澱物を産生することを認め、これを PABA または Procain 絮状沈澱物産生現象と名付けた。またある種の抗酸菌では 1 mg/ml PAS を含む液体培地に表面培養するとき菌集落は橙黄

色を呈し、管底に黄色色素を沈澱することを認め、これを PAS 黄色色素産生現象と名付けた

これらの反応はそれぞれ抗酸菌のある特定の菌群に見られ、PAS 黒化現象、アリルサルファターゼ 3 日テスト等との組み合わせにより抗酸菌の分類に利用し得るものと考えられる。

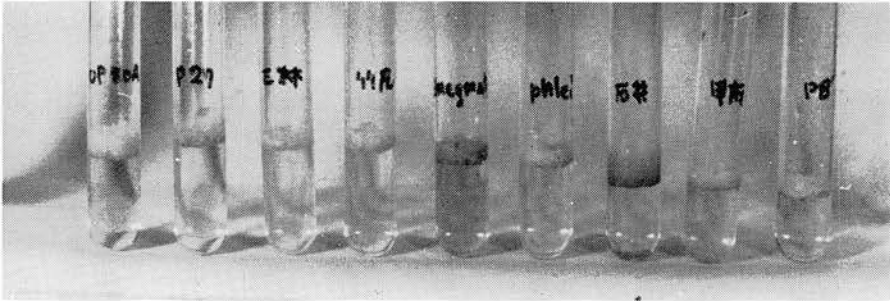
## 文 献

- 1) 福山裕三: 金大結研年報, 22, 1, 1964.
- 2) 福山裕三: 金大研年報, 23, 23, 1965.
- 3) Wayne, L.G.: Am. J. Clin. Path., 36, 185, 1961.
- 4) Mayer, R.L.: J. Bact., 48, 337, 1944.
- 5) Runyon, E. H.: Bull. Inter. Union against Tuberc., 29, 69, 1959.

福山論文附图

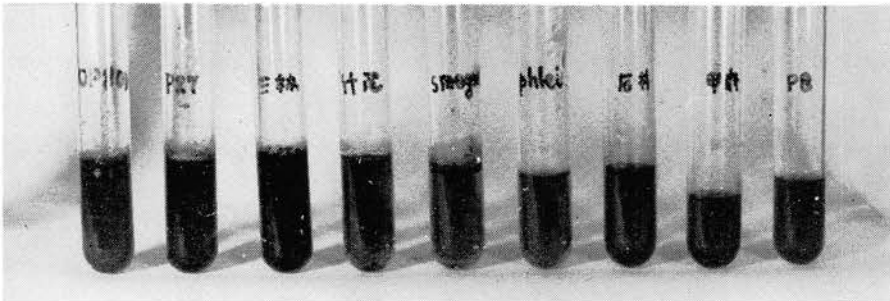
対 照

OP-80A P-27 三林 竹尾 smegma phlei 石井 甲府 P-8



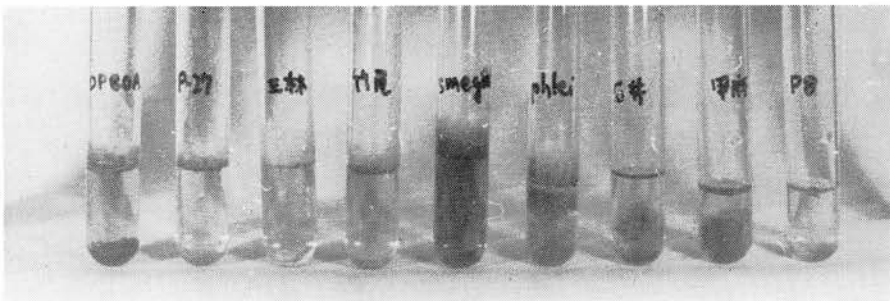
PAS 黒化現象 (黒) および PAS黄色色素産生現象 (黄)

(黄+) (黒+) (黒+) (-) (-) (-) (-) (-) (-)



PABA 絮状沈澱物産生現象

(++) (++) (-) (+) (+) (+++) (+++) (+++) (+)



Procain 絮状沈澱物産生現象

(++) (++) (-) (+) (+) (+++) (+++) (++) (++)

