

# ツベルクリン様物質を産生する 一変異菌株 B.O.K. に関する研究

## 第 1 篇

### 一般生物学的性状に就いて

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任；柿下教授）

専攻生 粟津喜久夫

*Kikuo Awazu*

（受付 昭和29年3月1日）

KIKUO AWAZU : - STUDIES ON VARIANT STRAIN B. O. K. PRODUCED  
TUBERCULIN-LIKE SUBSTANCE. (Report I)  
Biological Research.

The Immuno-bacteriological Department of the Tuberculous Research  
Institute in Kanazawa University. (Director: Prof. M.Kakishita, M. D.)  
(Received for Publication: March, 1, 1954)

### 第1項 緒言及び本菌の由来

昭和24年10月金沢大学結核研究所薬理製剤部（主任岡本教授）に於て Kirchner 培地をメチウムとして PAS (p-aminosalicylic acid) の結核菌（人型結核菌河上株使用）発育阻止力測定試験実施中たまたまその発育限界濃度に於て形態極めて結核菌に類似し然も橙紅色の色素産

生能を有する一菌株を分離した。爾来本菌を B. O. K. と仮称しその生物学的並びに免疫学的諸性状に就いて、結核菌及び各種の細菌と比較研究を行つて来たので、その成績を茲に報告する。

### 第2項 染色性並に形態

本菌はメチレン青、フクシン、ゲンチアナ紫等の一般アニリン色素に好染し、グラムは陽性である。Ziehl-Neelsen 氏染色法では青染する。又普通染色に於ても菌体内又は菌端に1個乃至数個の濃染する顆粒が見られ、結核菌顆粒染色を施せば更に著明である。〔図1, 2〕

その形態は両端鈍円なる長さ  $1.5\mu\sim 3.5\mu$ 、巾  $0.4\mu\sim 0.8\mu$  の桿菌で、直真か或いは稍々彎曲し、時に顆粒状を呈するが、垂鈴状或いは紡

錘状となる事はない。排列状態は塗抹標本上一定していないが二個相接する時は結核菌の如く V 型、Y 型を呈するものが多い。しかしチフテリ菌等に見られる柵状或いは開指状排列は見られない。本菌は固有運動なく、鞭毛、芽胞及び莢膜を有しない。〔図3〕

即ち本菌は形態的には極めて結核菌に類似するが菌体は僅かに太い様である。

## 第3項 抗酸性に就いての吟味

上述せる本菌の由来並びに結核菌との形態的類似性から見て、その抗酸性の有無は極めて重要な問題である故特に詳細に検索を加えた。

## 実験方法

本実験の為使用した菌株は

B. O. K.: 分離後60代株岡・片倉培地1週間培養  
人型及び牛型結核菌並びにBCG株: 岡・片倉3週間培養のもの

鳥型菌, チモテ-菌及びスメグマI, II株: 岡・片倉培地1週間培養のもの

大腸菌: 普通寒天培地24時間培養のもの

デフテリ-菌: レフラー培地24~48時間培養のもの

以上の各菌は、成績判定の錯誤を避けるため、菌塊の少い平等浮游液を得るよう意を用い、B. O. K. 及び抗酸性菌はメノウ乳鉢でよく磨細し軽く遠心してその上澄を用いた。染色はZiehl-Neelsen氏法に準じ微加温(40°C~50°C)石炭酸フクシン液に2分間漬浸することとし、次いで脱色は各濃度の作用液中に軽く振盪しつつ漬浸し所定時間後とり出し直ちに水洗し先ず後染色を行わずに鏡検判定し、然る後メチレン青の後染色を施し参考に資した。

成績の判定結果は次の如く現した。

- (+): 強度染色 (脱色傾向全くなし)
- (+): 中等度染色 (稍々脱色し鮮紅色を呈す)
- (±): 不完全脱色 (菌体を辛じて認め得る程度)
- (-): 完全脱色 (菌体を認め得ない)

## 実験成績

## (1) 3%塩酸アルコールによる脱色試験

第1表に示す如く、1秒ではB. O. K. は全体的に淡桃色を呈し、部分的に極めて少数ではあるが鮮紅色を呈する菌が散見せられた。結核菌及びその他の抗酸性菌は暗赤色を呈し、大腸菌は殆んど脱色されているが、尚極めて微弱なる帯色が認められた。更にメチレン青の後染色を施せば、抗酸性菌は何れも依然鮮紅色を保っているが、B. O. K. は一般に淡紫色を呈し、内に赤紫色の菌を混じ、大腸菌は全く青染した。10秒、20秒の脱色でも大体同様所見であるが、1分に至ればB. O. K. は辛うじて個々の菌体を認

第1表 3%塩酸アルコールによる脱色試験

| 菌種 \ 作用時間               | 1秒   | 10秒  | 30秒  | 1分   | 3分   | 5分   | 10分 |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|-----|
| B. O. K.                | (±)  | (±)  | (±)  | (±)  | (-)  | (-)  | (-) |
| 人型結核菌(H <sub>2</sub> )  | (++) | (++) | (++) | (++) | (++) | (++) | (+) |
| 鳥型結核菌(A <sub>62</sub> ) | (++) | (++) | (++) | (++) | (++) | (+)  | (+) |
| スメグマI株                  | (++) | (++) | (++) | (++) | (+)  | (+)  | (-) |
| チモテ-株                   | (++) | (++) | (++) | (+)  | (+)  | (±)  | (-) |
| 大腸菌                     | (±)  | (-)  | (-)  | (-)  | (-)  | (-)  | (-) |

(+)はフクシンの染色程度を示す。

め得る程度に脱色され、後染色により完全に青染し、大腸菌のそれと異なる所がなかつた。結核菌は3~5分間作用するも脱色する事なくスメグマ及びチモテ-菌も結核菌に比較すればその抗酸性は弱いが3分間作用するも尚鮮紅色を保っていた。

従つて、B. O. K. はZiehl-Neelsen氏染色法(脱色時間1分~2分)では非抗酸性を示し結核菌は勿論抗酸性の比較的弱き部類に属するスメグマI株及びチモテ-株に比較するもその間に格段の差異が見られた。

## (2) 各種鉱酸による脱色試験

硝酸、塩酸及び硫酸を各所定濃度に稀釈し、作用時間を1分として判定した。その結果第2表に示す如く、5% $\text{HNO}_3$ 、10% $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、10% $\text{HCl}$ では完全に脱色するが、4% $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、3% $\text{HCl}$ では稍々不十分であつた。しかし $\text{H}_2\text{SO}_4$ の脱色性を利用したZiehl-Gabbet法(脱色時間1~2分)では完全に青染した。(第2表)

## (3) アルコールによる脱色試験

アルコールでは大体何れの%でも脱色されるが、5%以下では稍々不完全であつた。尚アルコールの脱色を利用せるZiehl-戸田法<sup>1)</sup>(脱色時間1分間)でも非抗酸性を示した。(第2表)

## (4) アルカリによる脱色試験

10%亜硫酸ソーダの脱色は30秒ではやや色調が残るが2~3分では完全であつた。従つてKonrich法によるも同様非抗酸性である。

## (5) 抗煮沸性試験

第2表 各種鉱酸及アルコールによる脱色試験

| 菌種                             |      | 人型菌            | チモテ1株 | B・O・K菌 | デフテリ1菌 | 大腸菌 |
|--------------------------------|------|----------------|-------|--------|--------|-----|
| 作用液                            |      | H <sub>2</sub> |       |        |        |     |
| HNO <sub>3</sub>               | (5%) | (+)            | (+)   | (-)    | (-)    | (-) |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 10%  | (+)            | (+)   | (-)    | (-)    | (-) |
|                                | 4%   | (++)           | (+)   | (±)    | (-)    | (-) |
| HCl                            | 10%  | (+)            | (+)   | (-)    | (-)    | (-) |
|                                | 3%   | (++)           | (+)   | (±)    | (-)    | (-) |
|                                | 1%   | (++)           | (++)  | (±)    | (±)    | (-) |
|                                | 0.5% | (+++)          | (++)  | (+)    | (±)    | (-) |
| 3% HCl alcohol                 |      | (++)           | (+)   | (-)    | (-)    | (-) |
| Alcoh.                         | 96%  | (++)           | (+)   | (±)    | (-)    | (-) |
|                                | 70%  | (++)           | (+)   | (-)    | (-)    | (-) |
|                                | 50%  | (++)           | (+)   | (±)    | (-)    | (-) |
|                                | 25%  | (+++)          | (+)   | (±)    | (±)    | (-) |

占部氏<sup>2)</sup>によつて行つた。その結果は第3表に示す如く、そのk.fは0.07で極めて弱く従つて抗煮沸性を利用したる Johanson<sup>3)</sup>法 (Osol

第3表 抗煮沸性試験

| 菌株                    | 煮沸時間 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|                       | 5秒   | 7〃  | 10〃 | 12〃 | 15〃 | 30〃 | 35〃 | 40〃 | 50〃 | 60〃 |
| B. O. K.              | (±)  | (±) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 人型菌(H <sub>2</sub> 株) | (+)  | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| 牛型菌(10型)              | (+)  | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| B C G (竹尾)            | (+)  | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| 鳥型菌(A <sub>02</sub> ) | (+)  | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| スメグマ(I)               | (±)  | (±) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| スメグマ(II)              | (±)  | (±) | (±) | (±) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |

法の変法) によるも本菌は非抗酸性であつた。

以上の実験により本菌は明らかに抗酸性、抗アルカリ性、抗煮沸性の極めて微弱なる菌であるが、大腸菌、デフテリ1菌の如き一般細菌に比し多少の抗酸性を有し、而も極めて少数ではあるが、微抗酸性ともいふべき性状を有する菌の混在が見られる事は興味深き事柄である。

#### 第4項 培養試験

本菌は通性好気性にして、嫌気性培養ではその發育は極めて不良である。その發育温度の範囲は45°C~25°Cである。發育し得るpHの範囲は6.0~8.5で至適pHは6.8~7.2である。

至適条件に於ける發育状況は極めて迅速で24時間乃至48時間で集落が発見できる。

コロニーの性状は岡・片倉培地に於て36時間乃至48時間後半球状で大きい直径0.5mm~1.5mm, S型, 膨隆突出し, 色調淡橙黄色で, 表面粗糙, 無光沢, 軟柔, 少々粘稠性を帯び, コロニーの週辺平滑で大体正円をなすが, 次第に不整形円形を呈し, 培養長期に及べば泥状に湿潤するものもある。上述の帯色は日の経過と共にその度を増し, 遂に煉瓦紅色及び橙紅色となる。この色調は培地に移行しない。而して發育及び色素形成は液体培地に於て表面に近い程良好である。

又本菌はフィルム培地上分岐を形成し, ミコ

バクテリウムの發育形式をとる。(笹島論文<sup>4)</sup> [図4])

而して各種培地に於ける發育状況は次の如くである。

(1) 普通寒天及びブイヨン: 2, 3日後僅かに發育するが glycerin 加培地に比して極めて不良である。

(2) グリセリン寒天培地: 1, 2日で小鱗片状乃至縮緬状乾燥せる集落を發生する。斜面では約1週間後全面を覆い, 皸皸菌苔を形成する。本培地の高層穿刺培養では穿刺線に沿うての發育は見られず, 僅かに穿刺部にのみ發育が見られる。

(3) 岡・片倉<sup>5)</sup>培地: 發育状態は前述の如くである。尚培地のマラヒット緑の色調を還元する。[図5]

(4) 柿下一号寒天培地<sup>6)</sup>: 24時間前後で小円形扁平湿潤な集落を發生し, 發育は極めて良好

である。

(5) Corper-Cohn 培地<sup>7)</sup>: 發育狀況は岡・片倉培地に於けると大体同様であるが、特に本培地に於いては菌苔の着色が著明であつた。

(6) 血液寒天培地: 培養 3, 4 日で小露滴状集落を認め溶血作用はない。

(7) 馬鈴薯グリセリン培地: 4, 5 日で菌苔を生じ、極めて早期に液面に移行し縮緬状菌膜を作る。

(8) グリセリン・ブイオン培地: この表面培養は極めて迅速旺盛で 24 時間後灰白色乃至桜色の菲薄な菌膜を作り、急速に全表面にひろがり、更に管壁を伝ひ、縮緬状皺襞を作るが、この菌膜は遂に橙紅色を呈し、個々の皺襞は結核菌のそれより稍々細い。液内及び管底には發育せず、従つて濁濁を来さない。〔図 6〕

(9) Kirchner 培地<sup>8)</sup>: ブリセリン・ブイオン培地同様發育は極めて佳良である。一般に本菌は好気性並びに疎水性が強く、液体培養は表面にのみ發育するが、培地に馴致せられた為か、現在では Kirchner 培地 (10% 血清加) に

於てのみ深部にも發育可能である。此の際色素は殆んど產生せず、結核菌同様に無色の顆粒状或いは雲絮状の菌塊となり、一見結核菌との区別が困難である。更に之に 0.05%~0.1% の割に Tween 80 を加えた Kirchner 変法培地では瀰蔓性の發育を来す。

(10) Sauton<sup>9)</sup> 培地: 大体グリセリン・ブイオン培地と同様である。

(11) レフラー培地: 發育は不良である。

(12) グラチン: 發育せず、液化せず。

(13) 牛乳培地: 發育せず、凝固せず。

(14) 中性紅寒天: 發育不良で還元性を認めない。

(15) テル、酸加里培地<sup>10)</sup>還元して黒変し、發育は大して阻碍せられない。

以上培養所見を要約するに、本菌は通性好気性で普通寒天にも發育し、結核菌に比し發育は極めて迅速で、グリセリン嗜好性を有し、結核菌培地に最も良好に且典型的發育を遂げ、その様式はミコバクテリウムとよく類似し、且橙紅色の色素を產生する特性を有する。

第 5 項 各種薬劑に対する抵抗力

(1) 硫酸に対する抵抗力

第 3 項に於て B. O. K. の抗酸性に就いて述べたが、更に培養により本菌の酸に対する抵抗力を検した。

実験方法は先ず各濃度の硫酸水に可成り濃い均等菌游浮液を混じ、室温 20 分放置後滅菌生理的食塩水約 5 倍量加へ、遠心沈澱法に依り反復 3 回洗滌しその沈渣を岡・片倉培地 (大腸菌は普通寒天) に塗抹し、4 週間培養後判定した。

その成績は第 4 表に示す如く、2%~4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 液に 20 分作用せしめて、その發育は認められなかつたが、1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 液では疎なるコロニーの發生を認めた。然し結核菌に比較すれば極めて少数であつた。又大腸菌では 0.5% でも發育は見られなかつた。即ち本実験の成績を第 3 項の成績と併せ考へる時本菌は極めて硫酸抵抗力の微弱なる事が知られる。

第 4 表 硫酸に対する抵抗力

| 菌種                     | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 濃度 |       |       |       |       |
|------------------------|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                        | 4%                                | 3%    | 2%    | 1%    | 0.5%  |
| B. O. K.               | (-)                               | (-)   | (-)   | (+)   | (+)   |
| 人型結核菌(H <sub>2</sub> ) | (+++)                             | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) |
| チモテー株                  | (++)                              | (++)  | (++)  | (+++) | (+++) |
| 大腸菌                    | (-)                               | (-)   | (-)   | (-)   | (-)   |

註: (+) は菌の發育程度を示す。

(2) 各種抗結核劑に対する抵抗力

一般抗結核劑に対する抵抗力を、結核菌、結核菌変異菌及び非病原性抗酸性菌と比較実験を行つた。

実験方法は一般に行われている抗結核劑の發育阻止力測定法<sup>23)</sup>に準じ、培地は 10% 血清加 Kirchner 培地を使用し、対照菌株として人型結核菌 (H<sub>2</sub> 株), Mycobact. tuberculosis variety huminis No. 607 of A.T.C<sup>14)</sup>(Myc

第 5 表 抗結核剤に対する抵抗試験

| 稀釈<br>倍數 | 物質<br>菌株  | S. T. M. |         |       |                | P A S    |         |       |                | O. M     |         |       |                | INAH     |         |       |                | Tb I     |         |       |                |
|----------|-----------|----------|---------|-------|----------------|----------|---------|-------|----------------|----------|---------|-------|----------------|----------|---------|-------|----------------|----------|---------|-------|----------------|
|          |           | B. O. K. | No. 607 | Phlei | H <sub>2</sub> | B. O. K. | No. 607 | Phlei | H <sub>2</sub> | B. O. K. | No. 607 | Phlei | H <sub>2</sub> | B. O. K. | No. 607 | Phlei | H <sub>2</sub> | B. O. K. | No. 607 | Phlei | H <sub>2</sub> |
| 1:       | 1,000     | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | -        | -       | -     | -              | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              |
| 1:       | 2,000     | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | -        | -       | -     | -              | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              |
| 1:       | 4,000     | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | -        | -       | -     | -              | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              |
| 1:       | 8,000     | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | -        | -       | -     | -              | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              |
| 1:       | 16,000    | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | -        | -       | -     | -              | +        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              |
| 1:       | 32,000    | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | +        | -       | -     | -              | +        | +       | +     | -              | +++      | +++     | +++   | -              |
| 1:       | 64,000    | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | ++       | +       | +     | -              | ++       | +       | ++    | -              | +++      | +++     | +++   | ++             |
| 1:       | 128,000   | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | ++       | ++      | ++    | -              | ++       | ++      | ++    | -              | +++      | +++     | +++   | +++            |
| 1:       | 256,000   | -        | -       | -     | -              | +++      | +++     | +++   | -              | ++       | ++      | ++    | -              | +++      | ++      | ++    | -              | +++      | +++     | +++   | +++            |
| 1:       | 512,000   | ++       | ++      | ++    | -              | +++      | +++     | +++   | -              | +++      | +++     | +++   | -              | +++      | +++     | +++   | -              | +++      | +++     | +++   | +++            |
| 1:       | 1,024,000 | +++      | ++      | ++    | ++             | +++      | +++     | +++   | -              | +++      | +++     | +++   | +              | +++      | +++     | +++   | -              | +++      | +++     | +++   | +++            |
| 1:       | 2,048,000 | +++      | +++     | +++   | +++            | +++      | +++     | +++   | ++             | +++      | +++     | +++   | ++             | +++      | +++     | +++   | +++            | +++      | +++     | +++   | +++            |
| 対        | 照         | +++      | +++     | +++   | +++            | +++      | +++     | +++   | +++            | +++      | +++     | +++   | +++            | +++      | +++     | +++   | +++            | +++      | +++     | +++   | +++            |

(+) は発育状態を示す。

607 と略す) 及び Mycobact. Phlei を用いた。又薬剤は S.M. (Dihydro-, merk), PAS (ニツパス), INAH (ハイコチッド), TbI (田辺), OM (o-Aminophenol 金大結研) に就いて検した。而してその成績の判定は B. O. K, Myco. Phlei 及び Myco. No. 607 は一週間, H<sub>2</sub> 株は 4 週目の発育状態に依つた。

上述菌株中 Myco. No. 607 及び Myco. Phlei に関してはさきに当研究所の岡本教授等<sup>12)</sup>により、是等は PAS 及び Tibione に対して殆んど感受性を有しないが、S. T に対しては結核菌同様の感受性を示す事を報告している。

本実験の成績を見るに、第 5 表に示す如く B. O. K. も Myco. 607 及び Myco. Phlei 同様抗生物質である S. M に依り結核菌と大体同程度に発育を阻止されるが、他の薬剤に対しては何れも抵抗性を示し、特に PAS 及び TbI ではそ

の1000倍稀釈に於ても殆んどその発育は阻止せられなかつた。

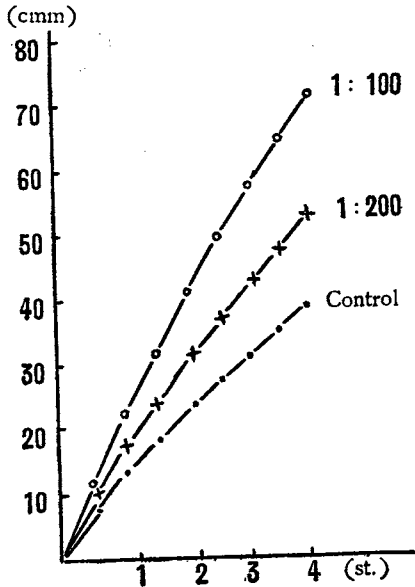
(3) 呼吸に及ぼす PAS 及び OM の影響

培養試験に於て B. O. K. は S. M. に対しては結核菌同様の感受性を示すが、PAS 及び TbI, OM に対しては感受性は極めて低い事を認めた。依つて B. O. K. の呼吸作用に及ぼすこれら薬剤の影響を Warburg 検圧法によつて比較した。即ち 38°C 4 時間観察では、人型結核菌 (H<sub>2</sub>, 青山 B, H<sub>37</sub>RV 株使用) では、PAS (100倍及び 200倍), OM (800倍及び 8000倍) 添加に依り酸素消費量は増加するに反し、B. O. K. では却つて減少するのを認めた。(第 6 表参照)

この成績は発育阻止力試験の成績と反対の結果となつた。その理由に関しては今後更に研究を遂行する考えである。

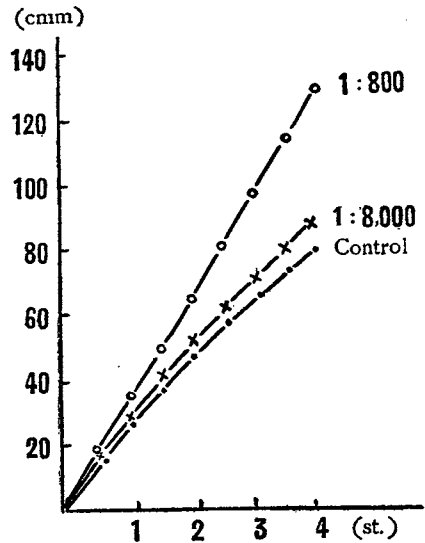
第 6 表

PAS の影響  
(人型結核菌の呼吸)

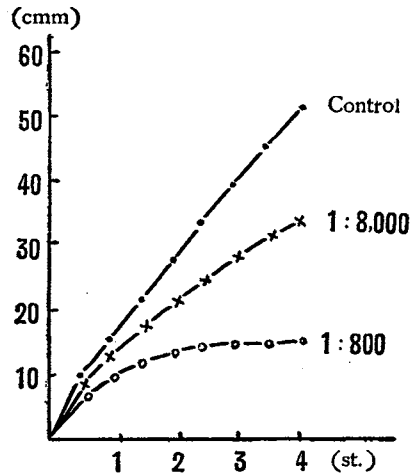
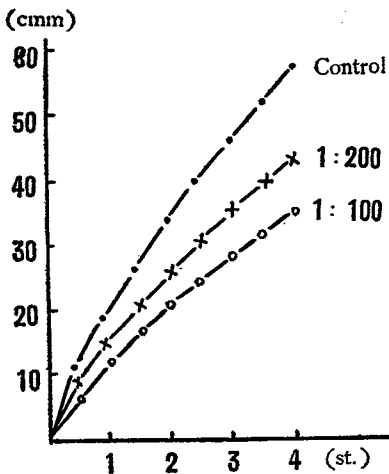


(B. O. K の呼吸)

OM の影響  
(人型結核菌の呼吸)



(B. O. K の呼吸)



第6項 カタラーゼ反応及びウレアーゼ反応に就いて

(1) カタラーゼ反応

結核菌のカタラーゼ反応に就いては既に1897年 Hahn<sup>13)</sup> 及び Long<sup>14)</sup> が証明している。我が國に於いては、戸田<sup>15)</sup>、占部<sup>16)</sup>等は結核菌及び非病原性抗酸性菌に就いて検した結果、人型

菌、牛型菌は弱く、鳥型菌は之より強く非病原性抗酸性菌は最も強いと述べている。

さて本菌に就いて之を検するに、先ず定性法では第7表の如く、B. O. K. の菌体を過酸化水素液中に浸せば瞬時にして旺盛なる泡沫の発生

第7表 カタラーゼ試験 (定性)

| 菌種                      | 泡沫発生状態 | 泡沫発生所要時間 |
|-------------------------|--------|----------|
| 人型結核菌(H <sub>3</sub> 株) | (+)    | 約4秒      |
| 〃 (河上)                  | (+)    | 約4秒      |
| B. O. K.                | (+++)  | 直後       |
| スメグマ I                  | (+++)  | 〃        |
| スメグマ II                 | (+++)  | 〃        |
| チモテー株                   | (+++)  | 〃        |

第8表 カタラーゼ試験 (定量)

| 稀釋倍數<br>菌種         | 1     | 2     | 4    | 8    | 16  | 32  | 64  | 128 | 256 | K <sub>1</sub> | K <sub>2</sub> |
|--------------------|-------|-------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|----------------|
| B. O. K.           | (+++) | (+++) | (++) | (++) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| 人型河上株              | (-)   | (-)   | (-)  | (-)  | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| 牛型10型              | (±)   | (-)   | (-)  | (-)  | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| 鳥型 A <sub>62</sub> | (+)   | (±)   | (-)  | (-)  | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| BCG                | (+)   | (-)   | (-)  | (-)  | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| スメグマ I             | (+++) | (++)  | (+)  | (±)  | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| スメグマ II            | (+++) | (+++) | (++) | (++) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |
| チモテー株              | (+++) | (+++) | (+)  | (+)  | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+++)          | (-)            |

- 註 1. (+)……過マンガン酸加里液の褪色の度を示す。  
 2. K<sub>1</sub>……菌液のみ。  
 3. K<sub>2</sub>……過マンガン酸加里液のみ。

を見た。又戸田<sup>17)</sup>の法に依り定量するに第8表に表示する如く、16倍迄陽性で、結核菌の何れよりも強く、非病原性抗酸性菌と大体同程度であつた。

(2) ウレアーゼ反応

結核菌及び非病原性抗酸性菌のウレアーゼ反応に就いては、戸田<sup>15)</sup>、占部<sup>16)</sup>、広木<sup>18)</sup>等は人型及び牛型結核菌には菌株により陽性のものと及び陰性のものを認めたが、鳥型結核菌では総べて陰性であると述べて居る。本菌に就いても同様の方法(比色法)にて検した。

即ち先ず10mg/ccの割に蒸溜水に浮游した菌液と0.2%尿素液の各2.5ccを混合し、これに0.02% P. R. 又は0.04% B. T. B. 0.25ccを加え、37°C浮卵器に納め、直後、30分、60分、120分

及び15時間後に比色法に依つて色調の変化を測定した。

その成績は第9表に示す如く、鳥型結核菌は陰性であるがB. O. K. は著明な反応を呈し、カタラーゼ同様強陽性であつた。又 BCG は鳥型同様陰性であつた。

第9表 ウレアーゼ試験

| 菌種                   | 時間 | 直後  | 30分 | 60分 | 120分 | 15時後 |
|----------------------|----|-----|-----|-----|------|------|
| B. O. K.             |    | 6.6 | 6.6 | 7.0 | 7.8  | 8.5  |
| 鳥型(A <sub>62</sub> ) |    | 6.1 | 6.1 | 6.2 | 6.1  | 6.2  |
| BCG                  |    | 6.0 | 6.1 | 6.2 | 6.3  | 6.3  |

第7項 糖類分解試験

Sauton培地を用い、B. T. B. を表示薬として糖類の分解能を検した。被検糖類はアラビノーゼ、グルコーゼ、ラクトーゼ、ラムノーゼ、キシローゼ、マンニット、ガラクトーゼ、イヌリン、サツカローゼ、アドニット、ソルビット、マルトーゼ、マンノーゼ、レブローゼ及びデキストリンの15種類である。このうちB. O. K. はグルコーゼ、キシローゼ、マンニット、ガラクトーゼ、サツカローゼ、マルトーゼ、レブローゼを分解し、アラビノーゼ、及びマンノーゼは

不定で、ラクトーゼ、ラムノーゼ、イヌリン、アドニット、ソルビット及びデキストリンは分解しなかつた。

第10表は上述の結果を結核菌変異菌の一種たる竹内菌<sup>19)</sup>及び永井氏菌<sup>20)</sup>(人型結核菌をロデアリンで処理して得られた非抗酸性菌)に就いて発表された成績と比較したものであるが、表で見る如く三者は大体に一致している。然し竹内氏菌とはラクトーゼ、イヌリン、レブローゼ、デキストリンに就て、又永井氏菌とはラク

トーゼに於てのみ分解能を異にしている。

第10表 糖分解能試験

| 糖名     | 菌種       |      |      | 糖名     | 菌種       |      |      |
|--------|----------|------|------|--------|----------|------|------|
|        | B. O. K. | 竹内菌* | 永井菌* |        | B. O. K. | 竹内菌* | 永井菌* |
| アラビノーゼ | (±)      | (-)  | (±)  | サツカローゼ | (+)      | (+)  | (+)  |
| グルコーゼ  | (+)      | (+)  | (+)  | アドニツト  | (-)      | (+)  | (-)  |
| ラクトーゼ  | (-)      | (+)  | (+)  | ソルビツト  | (-)      | (-)  | (-)  |
| ラムノーゼ  | (-)      | (-)  | (±)  | マルトーゼ  | (+)      | (+)  | (±)  |
| キシローゼ  | (+)      | (+)  | (±)  | マンノーゼ  | (±)      | (+)  | (±)  |
| マンニツト  | (+)      | (+)  | (+)  | レブローゼ  | (+)      | (-)  | (±)  |
| ガラクトーゼ | (+)      | (+)  | (+)  | デキストリン | (-)      | (+)  | (-)  |
| イヌリン   | (-)      | (+)  | (-)  |        |          |      |      |

註： (+)は糖分解。  
\* は文献上の成績を引用。

(第2週目判定)

第8項 ペニシリン分解酵素に就いて

1940年 Abraham and Chain<sup>21)</sup>はペニシリンを破壊する酵素を発見し、之をペニシリナーゼと命名した。その後 Woodruff and Foster及びその他の研究者によつてこの酵素の研究が進められている。現在迄に本酵素の証明せられた菌は枯草菌、脾脱疽菌、結核菌、大腸菌、変形菌 OX 13、緑膿菌等である。最近北大の永井<sup>20)</sup>は結核菌のペニシリナーゼに就て、結核菌をロデアリンで処理して非抗酸性化するとペニシリナーゼ産生能を失うと述べている。

私は本菌、結核菌（河上株使用）及び大腸菌についてペニシリナーゼの産生を検した。

先ず上記の各菌の Sauton 培養濾液をザイツ濾過器で濾過し、予めブイヨン液をもつて漸減的に稀積分注せるペニシリンの試験管列に之と同量宛の濾液を加注し、更にブイヨン培養24時間の黄色葡萄状球菌（寺島株）を1白金耳宛移

植し37°C に培養して、24, 48, 72時間後発育状態を検した。その結果は第11表に示す如く結核菌と同様強力なペニシリナーゼを産生する事を知つた。

第11表 ペニシリン分解能試験

| ペニシリン<br>稀積分数 | 濾液の種類 |       |     |        |
|---------------|-------|-------|-----|--------|
|               | B・O・K | 人型河上株 | 大腸菌 | ブイヨン対照 |
| 1: 100        | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1: 200        | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1: 400        | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1: 800        | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1: 1,600      | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1: 3,200      | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1: 6,400      | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |
| 1:12,800      | (+)   | (+)   | (+) | (-)    |

註： (+) は葡萄菌寺島株の発育を示す。

第9項 総 括

(1) 本菌は一般にアニリン色素に好染し、グラム陽性で、抗酸性の極めて微弱な桿菌である。尚本菌は莢膜並びに鞭毛なく、又固有運動を有しない。然し菌体内には多数の顆粒を認める。

(2) B. O. K. は普通寒天培地にも僅かに発育するが、結核菌培地では2~3日にて極めて盛んに発育し、且著明な橙紅色の色素を形成する。

(3) 液体培地では表面に発育し、培地を濁濁



しない。

(4) B. O. K. の各種抗結核剤に対する態度は My. No.~607並びに My. Phleiと等しく, S.M. では有毒菌と同様にその発育は阻止されるが, PAS では 1,000 倍稀釈濃度でも発育する。又 INAH, Tbl, OM に対しても亦有毒菌に比し抵抗性を持っている。Warburg 検圧法による

PAS 及び OM の B. O. K. 並びに人型結核菌の呼吸に及ぼす影響は全く反対である。

(5) 本菌はカタラーゼ, ウレアーゼ及びペニシリナーゼを産生する。

(6) 糖分解能はロデアリン変異菌と類似している。

(結論及び文献は最後篇に譲る)

### Summary

A non acid-fast and morphologically myc. tbc.-like strain, named B. O. K., was isolated incidentally at our institute in 1949 from a test-tube of 1.5 $\gamma$ /ml PAS containing Kirchner's culture fluid inoculated with a virulent laboratory human type strain of myc. tbc. "Kawakami". Following are the data obtained in the study concerned with biological characteristics of the B. O. K..

(1) B. O. K. is morphologically quite similar to myc. tbc.. B.O.K. is gram positive, non motile, no sporogenous and has no capsules. However the bacilli are differed from myc. tbc. in that they are of nature of only freely or not acid-fast, and readily stainable with ordinary dye stuffs, methylenblue, gentiana-violet and fuchsin.

(2) B. O. K. grows very luxuriantly on

ordinary culture media for myc. tbc. at the temperature ranges of 25°C to 45°C. B. O. K. grows on the surface of glycerin containing media developing slightly orange colored membrane which covered the entire surface of the culture fluid within one or two days.

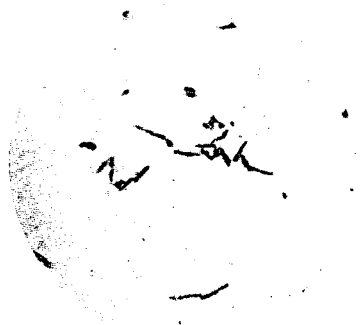
B. O. K. do grows only slowly on the usual type of media, such as agar slant and meat-infusion broth.

(3) B. O. K. has the property to produce pigment; Colonies on the solid media and membranes of the fluid media become finally brick-colored.

(4) Of graet interest is the fact that B. O. K. was found to be as sensitive to S. M. as the laboratory strain of myc. tbc., but not sensitive to other antituberculosis agents, such as PAS, INAH, TBI and o-Aminophenol.

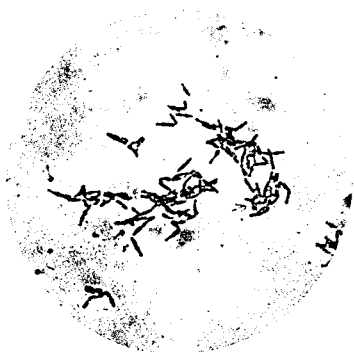
栗津論文附圖 (1)

〔図 1〕



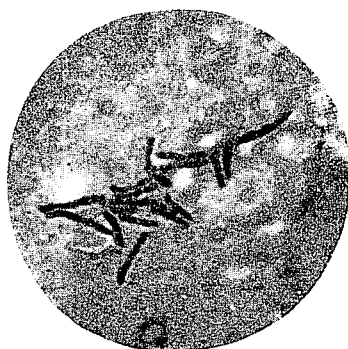
グラム染色  
( $\times 1,200$ )

〔図 3〕



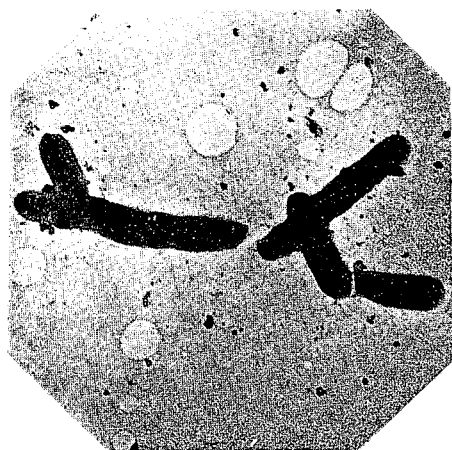
フィルム培地に於ける発育状況  
( $\times 900$ )  
矢印は分岐を示す

〔図 2〕



顆粒染色  
( $\times 1,500$ )

〔図 4〕



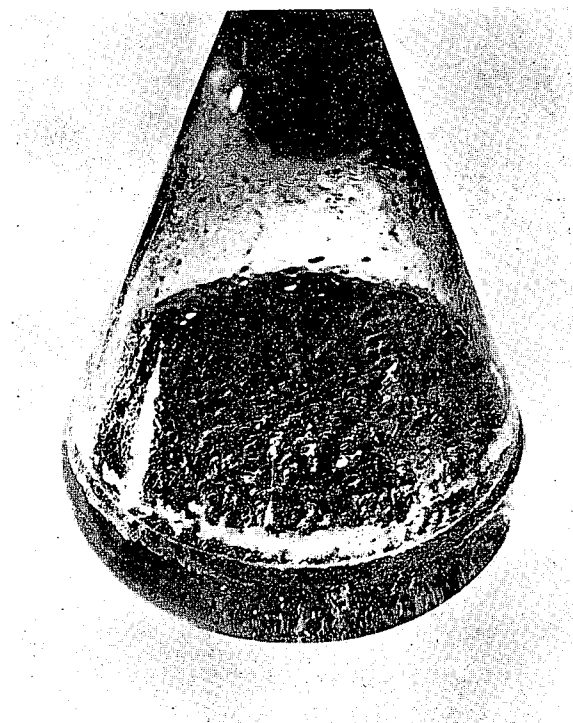
電子顕微鏡写真  
( $\times 10,000$ )

〔圖 5〕



岡・片倉培地 3 週培養

〔圖 6〕



グ・ブイオン 2 週培養