

非定型抗酸菌の性状 (I)

— 臨床細菌学の立場から —

京都大学結核胸部疾患研究所 内科学第一

久世 文幸, 前川 暢夫

(原稿受付 昭和49年10月21日)

はじめに

ヒト型結核菌 (*M. tuberculosis*) 及びウシ型結核菌 (*M. bovis*) 以外の抗酸菌が人体材料より時に分離されること、又、そのような菌が自然界にも分布していることはかなり古くより知られていた。1950年以前にも2, 3の菌種 (*M. fortuitum*, *M. ulcerans*, *M. marinum* etc.) がすでに記載されており、疾患との関連についても報告がある。しかしながらこれらの抗酸菌が肺疾患との関連において注目され出したのは、1950年代になってからの様である。Pollak と Buhler (1951)¹⁾ が Kansas city に於て致死例の2症例を報告したのをはじめとして、Crow 等の報告²⁾ があり、欧米諸国で多くの報告が相次いでいる。本邦では、染谷 (1952)³⁾、占部 (1957)⁴⁾、田坂 (1958)⁵⁾ の報告がみられている。因みに1957年版 (第7版) の *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*⁶⁾ をみると計14種の抗酸菌種* が掲げられているが、当時でもすでに、これらの菌種以外にも未だ分類されていない多くの抗酸菌が存在していることは確実だと見なされており、以来、抗酸菌の分類の努力が積み重ねられて来た。1959年 Runyon⁷⁾ は、当時未分類の抗酸菌を一括して、Anonymous Mycobacteria と総称し、コロニーの着色と発育速度から、Group I, Photochromogens (光発色性菌), Group II, Scotochromogens (暗発色性菌), Group III, Nonphotochromogens (光不発色性菌), Group IV, Rapid-

growers (迅速発育菌) の4群にわけ、臨床的に簡便な分類の基礎を作り、以来ごく最近にいたるまで、これを用いて臨床的な研究がなされて来た。一方、これと並行して、厳密な細菌学的分類の努力も重ねられ、多くの抗酸菌種が確立されつつあり、1972年4月、日本結核病学会総会に於て行なわれた Runyon の講演⁸⁾ では、26菌種**がほぼ確立されつつある様である。かように多くの抗酸菌種が確立されて来ると、臨床的な立場からも従来の Runyon の group 分けのみでは不充分であり、臨床細菌学的な意味での抗酸菌の鑑別、同定が要請されて来る。昭

* *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957, 第7版) pp. 696-697.

Saprophytes として

M. phlei; *M. smegmatis*; *M. fortuitum*;
M. marinum; *M. thamnopheos*;
M. platypoecilus

Parasites として

M. ulcerans; *M. tuberculosis*; *M. bovis*;
M. microti; *M. avium*; *M. paratuberculosis*;
M. leprae; *M. lepraemurium*

** "Mycobacteria and Mycobacterioses"

E. H. Runyon, VA Hospital, Salt Lake City, Utah

(For Japanese Tuberculosis Society)

M. avium; *M. bovis*; *M. chelonae*;
M. diernhoferi; *M. flavescens*; *M. fortuitum*;
M. gastri; *M. gordonae*; *M. intracellulare*;
M. kansasii; *M. leprae*; *M. lepraemurium*;
M. marinum; *M. microti*; *M. nonchromogenicum*;
M. paratuberculosis; *M. phlei*;
M. scrofulaceum; *M. smegmatis*; *M. terrae*;
M. thamnopheos; *M. triviale*; *M. tuberculosis*;
M. ulcerans; *M. vaccae*; *M. xenopi*

和47年4月に日本結核病学会抗酸菌分類委員会から出された、抗酸菌分類委員会試案⁹⁾も一つの試みである。

しかしながら本邦での現状をみても、特に専門的な施設を除けば、一般の医療施設では生化学的臨床検査に比して、ことに抗酸菌の臨床細菌学的検査はかなり遅れており、早急な普及が必要であることを痛感する。更に一般の検査施設へも普及するためには、出来るだけ簡便な同定検査が望ましく、東村の簡易同定検査法¹⁰⁾、Kubicaの方法¹¹⁾等もこの線にそった提唱であろう。現在の本邦の状況ではこれらとても完全に普及するためにはかなりの時間が必要と思われる。臨床家として現在の所私共の取り得る方法は、小川培地に発育した抗酸菌のより綿密な観察に加えて、数種の簡単な検査を併用し、菌種の推定を一応行ない、菌株の保存によって、以後のより詳細な細菌学的同定に待つしかないであろう。

私共の研究室で保存している、一応菌種の確定している菌株約40株と、最近2年間に主として喀痰より分離された約60株の菌株を取扱った経験から、臨床の立場で気付いた点を、諸家の報告を参照しながら以下に記したい。

I. 臨床材料より見出される
抗酸菌種について

Runyon の group 分けに対比して、一応臨床材料から分離される可能性の多い抗酸菌 (*M. tuberculosis* と *M. bovis* を除く) を示したのが表1である。Runyon の group 分けは、発育速度とコロニーの着色を指標にしたものであって、その簡易さからみて、現在に於ても同定、鑑別の基礎とすべきであると思われる。従って先づ大きく Runyon による group 分けを行なって、しかる後に各 group 内での菌種推定に進むのが順序であろう。次いで各 group に含まれる菌種について述べる。

表1 非定型抗酸菌の種類
(Runyon の分類と菌種)

| GROUP (Runyon) | 名称 及 定義 | 臨床的に重要な菌種 | その他 |
|----------------|--|---|---|
| I | Slowly Growing Photochromogens (光発色性菌) 光の影響下に於てのみ発色する。1時間露光後24時間以内に集落は、はっきり黄色を呈する。 | <i>M. kansasii</i> <i>M. marinum</i> | |
| II | Slowly Growing Scotochromogens (暗発色性菌) 暗所で発育しても明らかな橙黄色を呈する。露光によってしばしばより色は濃くなる。 | <i>M. scrofulaceum</i> | <i>M. gordonae</i> (Tap-water scotochromogens) |
| III | Slowly Growing Nonphotochromogens (光不発色性菌) 通常着色がないか、淡い着色のみ、古くなった培養菌、又は植えつぎをくり返したものは暗発色性のこともある。 | <i>M. intracellulare</i> (<i>M. avium</i>) (<i>M. xenopi</i>) | <i>M. gastri</i> <i>M. terrae</i> <i>M. triviale</i> <i>M. non-chromogenicum</i> etc. |
| IV | Rapidly Growing Mycobacteria (迅速発育菌) 通常3日以内に発育が認められる。 | <i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i> | <i>M. smegmatis</i> <i>M. phlei</i> <i>M. flavescens</i> etc. |

Wayn, L. G., Runyon, E. H., Kubica G. P.: Amer. Rev. Resp. Dis., 100: 732, 1969. より引用。一部改変。

Group I (Photochromogens) では, *M. kansasii* と *M. marinum* が問題になる。しかしこの中で, *M. marinum* は主として皮膚病変にのみ関連があつて, 肺疾患が問題となる時は余り考慮する必要はないであろう。次いで Group II (Scotochromogens) では, 病原性があると考えられている *M. scrofulaceum* と非病原性の *M. gordonae* (Tap-water scotochromogens) が代表的なもので, この2菌種の鑑別が必要になって来る。後者は casual isolate として喀痰からの検出頻度も多い。*M. xenopi* もコロニーの着色状態から言えば scotochromogenic で Group II に入れられるべきと思われるが, 現在では Group III に入れられることが多い。本邦ではこの菌種による肺疾患の報告がなく, 實際上問題となることは少ないと思われる。Group III (Nonphotochromogens) になると, この中には極めて多くの菌種が含まれている様である。病原性のあるものとして, *M. avium* と *M. intracellulare* があり, 他に非病原性のもので, *M. gastri*, *M. nonchromogenicum*, *M. terrae*, *M. novum*, *M. triviale* etc. 多くの菌種が提唱されている。後者の諸菌種を一括して *M. nonchromogenicum-terrae-novum-triviale complex* と呼ばれることもあり, これらの菌種は, 病原性のある *M. avium* と *M. intracellulare* から鑑別する時に問題となって来る。一方, *M. avium* と *M. intracellulare* とは多くの点で性状が共通しており, この両者の鑑別は臨床的な段階ではそれほど必要がないという意見もあり, 更に本邦に於ては *M. avium* が殆ど分離されないという実状から, 両者を一括して, *M. intracellulare-avium group* とし, 上記の *M. nonchromogenicum-terrae-novum-triviale complex* と鑑別すれば, 臨床的には或程度の目的が達せられるものと思われる。最後に Group IV に属する菌種であるが, 病原性のある *M. fortuitum* と *M. chelonae* の2菌種と他の非病原性の *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. flavescens* 等との鑑別が必要になって来るが, 臨床材料から後者が分離されることは比較的少ないと思われる。

以上総括すると, 臨床的な段階では, Group I の *M. kansasii*, Group II の *M. scrofulaceum*, Group III *M. intracellulare-avium group*, Group IV の *M. fortuitum* と *M. chelonae* の諸菌種を他の非病原性の抗酸菌から鑑別推定することが必要である。

なお, 「非定型抗酸菌」(以下 AM と略す) と言う名称であるが, 現状では, 「*M. tuberculosis* と *M. bovis* 以外の抗酸菌の総称」(Jenkins, 1959) と理解した方が良い様に思われる。「非定型」とは元来, ヒト型結核菌に対比して付けられた名称であると思われ, 他の抗酸菌種がそれぞれは一定の性状を持っていることを考えると, 少し不適當な名称とも考えられるが, 上記の如く広義に理解すれば誤りは少ないであろう。

II. 臨床の立場からの

抗酸菌種の鑑別と同定

(1) 小川培地発育菌(分離時)の鑑別

臨床的に肺 AM 症を対象とする時, 本症発見の端緒は, 小川培地上の発育菌の性状であろう。subculture を行なう前の, 分離時の性状で AM 鑑別に資するものを以下に記した。

i) コロニーの着色

普通の incubator (37°C) で培養し, 4週間内外で判定する場合, 明らかに全てのコロニーが橙黄色もしくは橙赤色を示している場合, Runyon の Group II に属する可能性が極めて大きい。ただ *Nocardia* 属でレンガ色の着色を示しているのを2, 3経験しているので, 一応の注意が必要であろう。Group I の *M. kansasii* が, 集落数の少ない時は全コロニーが, 又, 集落数の多い時は発育周辺部の孤立性コロニーが, 頻回の取り出し検査により, すでに incubator 内で光発色性を示すことがある。又, 注意すべきことの1つに *M. intracellulare* をはじめ Group III に属する菌種も培養日数が長くなると黄色気味に着色して来ることもある。又, これらは白色に近い無色のコロニーのこともあるが, 多くのものは淡黄色がかつた色調を持つ

ており、Nonphotochromogens は無色であるという意味ではない。これらのことは、着色の平等性とか色調を考慮すれば、鑑別はそれほど困難ではない。Group I の *M. kansasii* の光発色は鮮かなレモン色を呈するのが普通であるし、Group II の諸菌種は普通濃い橙黄色を呈する。又、機会は余り多くないと思われるが、以上の菌種の他に、Group III の *M. xenopi*、Group IV の *M. flavescens* 等も念頭に置く必要があるであろう。

ii) コロニーの性状 (S型とR型)

AM の中で病原性を有する菌種は、一般に S 型 (smooth) のものが大部分であり、表面が平滑で湿潤したコロニーを確認すれば、R 型 (rough)、即ち表面が粗で乾燥しているヒト型結核菌とは区別は容易と思われるが、ことに市販の培地で通気性の少ないものでは、R 型を S 型と誤ることがあり、かなりの例で *M. tuberculosis* を AM と推定されて送付された例が多かった。又、*M. intracellulare* でことに発育不良 (dysgonic) な菌株では、ごく小さいコロニーが培地全面に発育していることがあり、一見雑菌による培地変色と誤ることがある。

R 型で乾燥したコロニーをみた場合、殆んどは、*M. tuberculosis* と推定して誤らないが、光発色性をみる迄は、*M. kansasii* の R 型、又、Group III に含まれる *M. nonchromogenicum* をはじめとする非病原性の諸菌種、更に Group IV に属する *M. fortuitum* と *M. chelonae* の R 型との判別は出来難い。

iii) 塗抹性状

小川培地に発育した菌の抗酸性染色は、抗酸菌であることを確認する上で必須の検査であるが、S 型のコロニー性状を持つ、*M. intracellulare*、*M. scrofulaceum* 等は、白金耳でスライド上へ塗抹する操作が極めて容易であり、*M. tuberculosis* の塗抹とは趣を異にする。これでコロニー観察時 (S 型か R 型かの区別) の誤りをかなり訂正し得る。又、これに加えて、水中への菌の分散状態 (菌液作成の難易) をみれば、R 型を S 型と誤ることは殆どないであろう。スライド上へ平等に塗抹し難い菌をみた時、

ヒト型結核菌である可能性がかなり大きいとみて差し支えない様である。

染色した個々の菌の形態もしくは排列状態に関しては、スライド培養法を用いて観察された報告¹²⁾ があり、*M. tuberculosis* の緊密なコード形成、Photochromogens (*M. kansasii*) の緩いコード形成、Scotochromogens の方向性のない “snow drift” pattern、Nonphotochromogens のこれも又、方向性のない菌の集積状態等が認められている。又、個々の菌の染色形態に関しても種々特徴と思われるものはある様で、著者の 1 人が勤務したことのある、*M. kansasii* 症の高頻度に発見される米国イリノイ州の Suburban Cook County Sanitarium District の検査技師は、喀痰塗抹で発見される菌の形態から、*M. kansasii* であることの推定が約 80% 位は可能であると主張しているし、*M. intracellulare* 症の多い Battey State Hospital でも塗抹標本でかなりの点まで菌種が見当づけられる様である¹³⁾。

Runyon の報告⁷⁾ でもすでにこれらの菌の形態の特徴は記載されている。しかしながらヒト型結核菌に於ても菌形は多様であって、菌形 (それも 1 度の塗抹によって) の特徴によっての鑑別に余り重点を置くことは許されるべきではないと思われるが、明らかに特徴のある菌形を認めた場合、鑑別の一助にすることは可能であると思われる。AM の菌形の特徴で特記すべきものは、*M. kansasii* の長くて太い、直線的で大きな顆粒、(又は band-like な構造を認めることもある) を持った特異な菌形であろう。(図 1) ややこれとは趣を異にするが、Group II の *M. gordonae* によく似た形態が認められることがある。(図 2) *M. intracellulare* では、種々の形態があると言われるが、現在迄の私共の経験では、球菌状 (coccioid) のものが多かった。(図 3)

最後に casual isolate であるが、Scotochromogen かと最初思われたレンガ色の着色を持った *Nocardia* 属の分離を経験したので述べておきたい。これらは抗酸性の度合によって、又、牛乳培地を用いた時の抗酸性の増加によって比

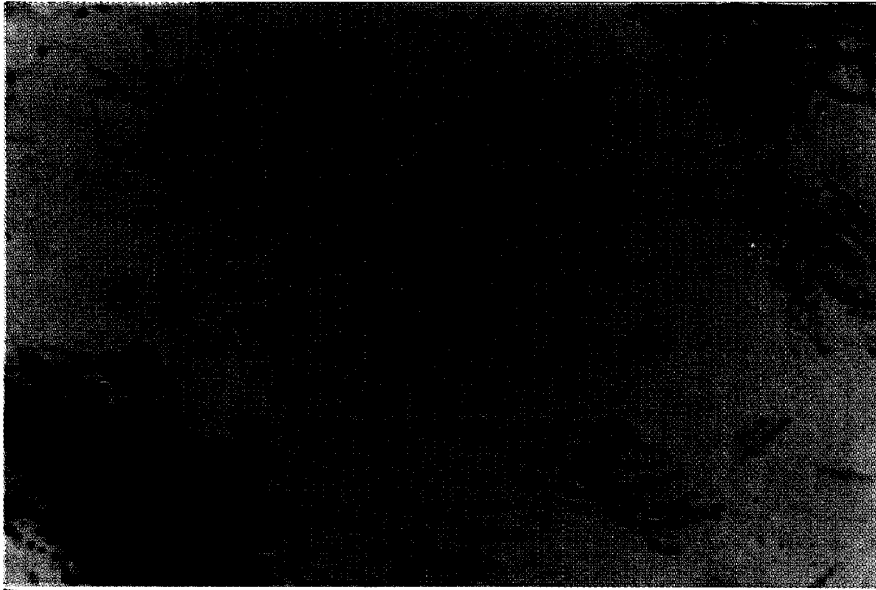


図1
M. kansasii (ATCC 12478) の
塗抹形態 (Ziehl-Neelsen 染色,
10×100)



図2
M. gordonae の塗抹形態 (Ziehl-
Neelsen 染色, 10×100)

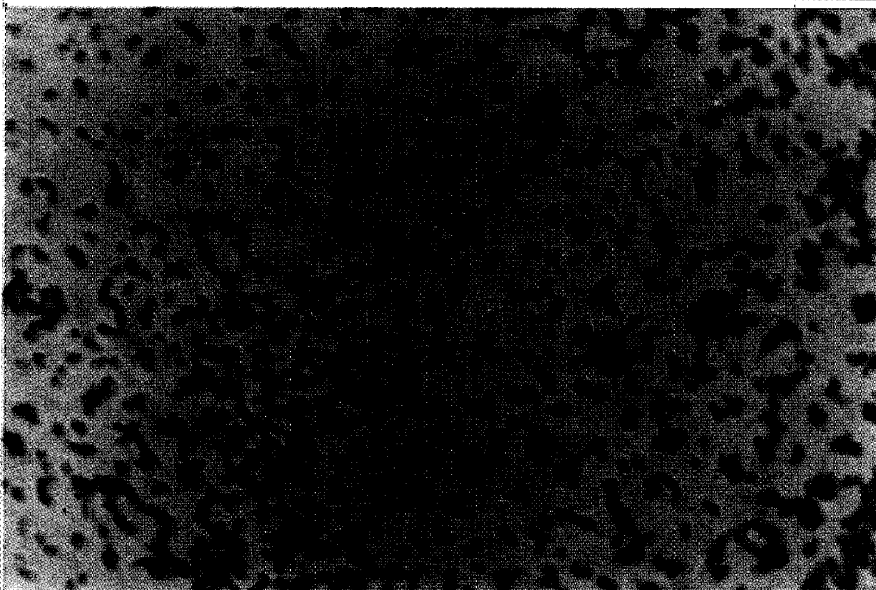


図3
M. intracellulare (ATCC
15985) の塗抹形態 (Ziehl-
Neelsen 染色, 10×100)

較的容易に鑑別出来た。

<小 括>

塗抹抗酸性染色で、抗酸菌であることを確認し、暗所培養ですでに橙黄色のコロニー着色があれば Group II に属する可能性が極めて大きい。即ち *M. scrofulaceum* か *M. gordonae* の推定が出来る。又、コロニーがS型であることを確認し、更に菌形観察で球菌状であることを認めれば、*M. intracellulare* の可能性が大きくなって来る。同様に菌形態の特徴から *M. kansasii* の可能性を印象づけられることもあるであろう。

(2) subculture を用いた鑑別

最初に分離した株の性状（発育コロニー数の正確な記載も必須）を綿密に観察した後は subculture によってより正確にその性状の検討が必要である。

i) コロニーの光発色性

私共は1%小川培地へ少くとも3本の subculture を行ない、その2本はアルミホィールで包み露光をかなり厳密に防ぎ、培養3及4週目の比較的早い時期に1本を取り出し光発色性試験⁹⁾を実施することにしてしている。初めに分離培地上で光発色性の疑をもたれた株も、この検査で再確認出来る。光発色性 (photochromogenicity) が認められればまづ *M. kansasii* と推定し得る。

ii) Kirchner 寒天平板培地上でのコロニー形態の観察

7 H 10 agar 培地もしくは corn meal agar 培地を用いたコロニー形態の観察は、本邦では余り実施されていないが、米国ではかなり多くの報告^{14~16)}があり、抗酸菌種の同定に利用出来るとの意見が多い。私共は本邦では7 H 10 agar より多く使用されていると思われる血清加 Kirchner 寒天培地を用いて、試みにコロニー形態を観察した。詳細は他の機会にゆずるが、一般細菌検査用の平板を用いて、発育10日前後のコロニーを10×10倍の弱拡大で直接透過光で鏡検する方法である。図4は発育13日目の

M. tuberculosis (H 37 Rv) のコロニーであるが、緊密なコード形成がみられ、極めて特徴的で、現在迄検討した多くのヒト型結核菌 (wild strains) も同様の特徴を持ち、コロニーの形態は安定している。*M. tuberculosis* では、これ以外のコロニー形態は認められない様である。図5は同様条件で観察した *M. kansasii* (R型) のコロニーであるが、*M. tuberculosis* のコロニーに極めて類似している。ただ周辺部のコード形成がやや緩いと思われるが、両者の鑑別には余り有用ではない様である。一方 Group II の *M. scrofulaceum* と Group III の *M. intracellulare* をみると、上記の2菌種とはかなりコロニー形態がことなり、(図6及7) いずれも所謂コード形成が認められず、smooth で、ドーム形の円形コロニーを示している。*M. tuberculosis* のコロニーとは明らかに区別可能と思われた。

なお、corn meal glycerol agar (CMG) を用いたコロニー形態を観察中であるが、次の機会に報告したい。ただ CMG 培地上では *M. tuberculosis* と *M. kansasii* は殆ど発育せず、他の菌種は発育する様であり、鑑別にかなり有用である可能性があることを指摘したい。

iii) 発育日数と発育至適温度

AM. は大体に於て *M. tuberculosis* より発育の速いものが多い。本邦では症例の報告がないが、Group III の *M. xenopi* は例外的で発育に普通4週又はそれ以上を必要とするが、他のAMは、ことに頻回 subculture をくり返したものでは、1週間位で充分発育がみられる。従って subculture で Group IV (Rapid-grower) と判定するには、2~3日程度で充分な発育を確証することが必要であろう。発育至適温度差も鑑別に有用なことがあるが、各温度に一定した incubator が必要で、検査室によっては困難な場合もあると思われる。

iv) ナイアシンテスト及びその他の生化学的性状

以上の観察で AM であることの推定、時に菌種の推定、(*M. kansasii*, *M. tuberculosis* etc.) も可能であるが、臨床的な段階でも、ナイアシン

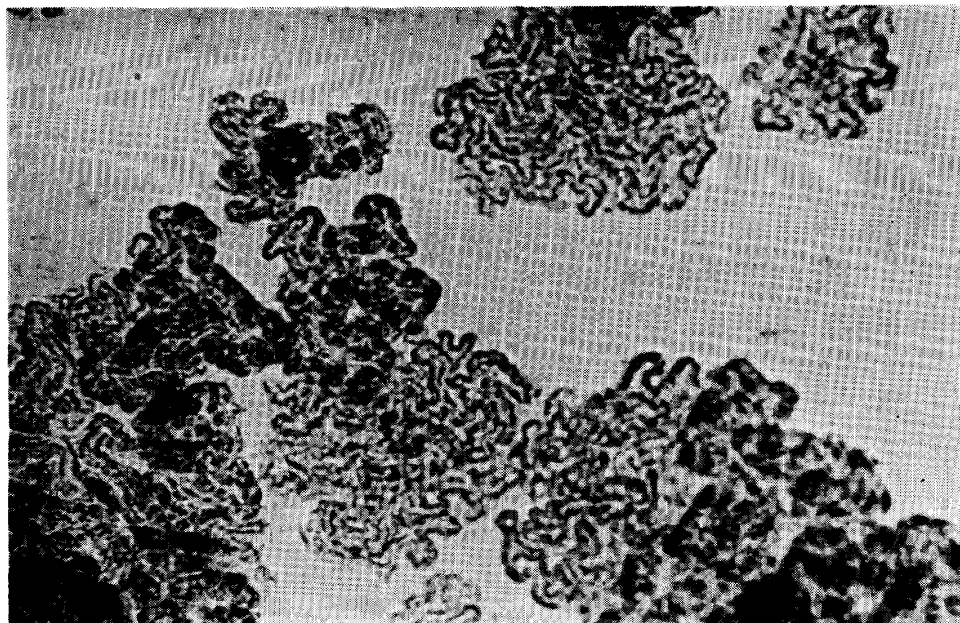


図4 *M. tuberculosis* (H 37 Rv) のコロニー (Kirchner 寒天培地上, 13日目10×10)

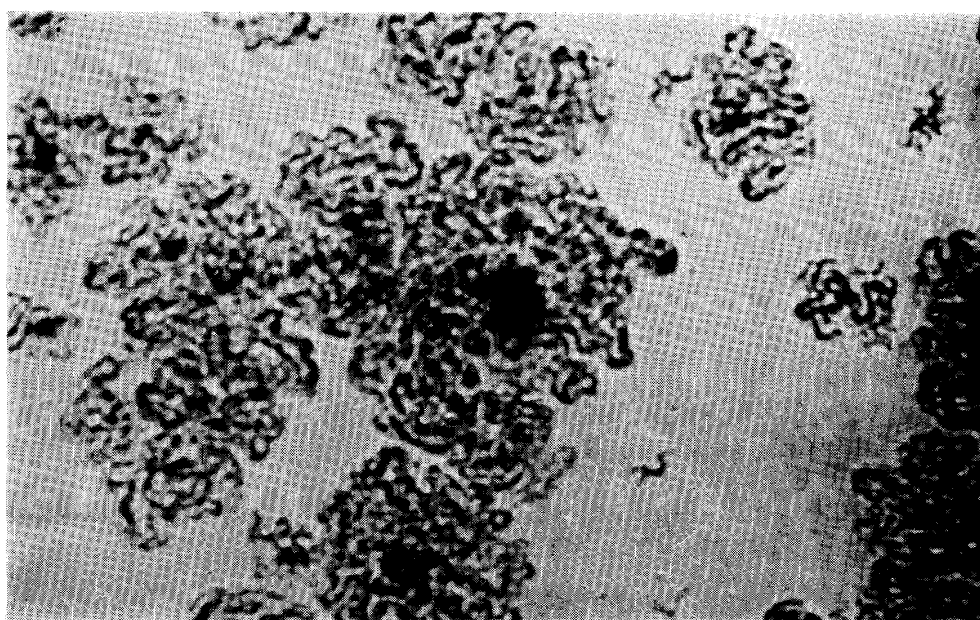


図5 *M. kansasii* のコロニー (Kirchner 寒天培地上, 9日目, 10×10)

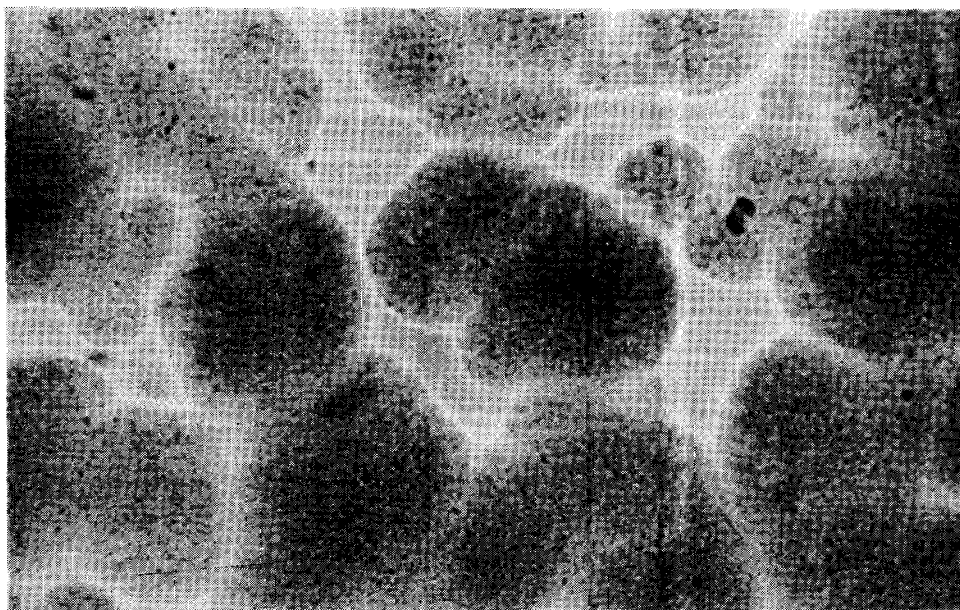


図6 *M. scrofulaceum* のコロニー (Kirchner 寒天培地上, 9日目, 10×10)

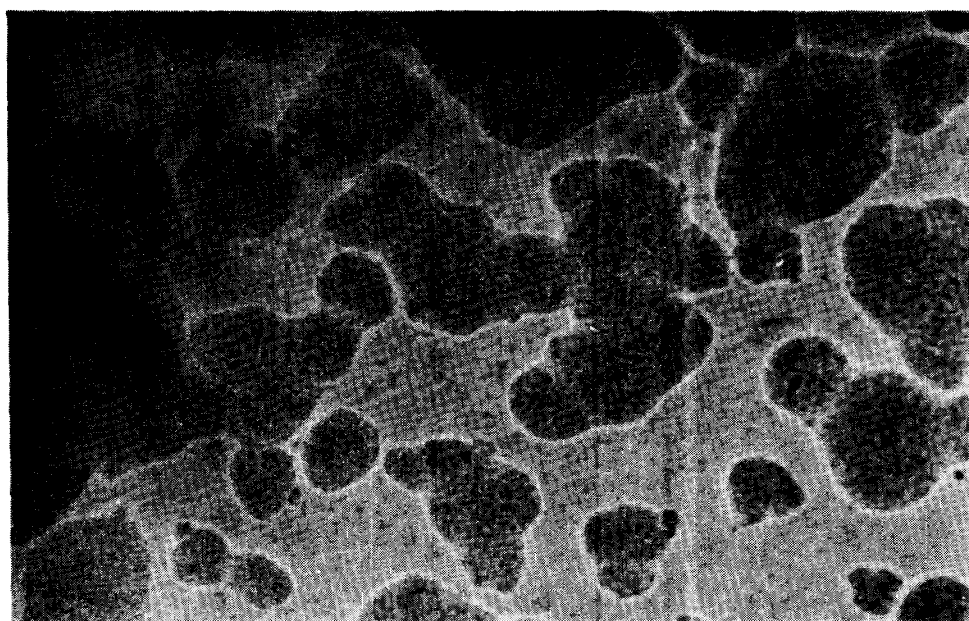


図7 *M. intracellulare* のコロニー (Kirchner 寒天培地上, 9日目, 10×10)

ンテストを中心とした数種の生化学的検査は一応の菌種の推定にも不可欠である。私共は簡便さと有用性から、(1) ナイアシンテスト^{9,11,17)}, (2) カタラーゼ半定量法^{9,11)}, (3) Tween 80 水解反応^{9,11,18)}, (4) 硝酸塩還元酵素反応^{9,11)}, (5) アリルスルファターゼ反応^{9,11,19)}, (6) PAS 培地の黒変の有無^{9,20)}を必須のテストとし、それにアミラーゼ反応^{9,21)}を参考に行っている。検査法の詳細は文献にゆずるが、表2は私共の保存菌株の成績である。

ナイアシンテストはヒト型結核菌か AM かの鑑別にぜひ必要であるが、初めの分離株で直接このテストを実施することは、検査の厳密さを欠くことが多く、又、かなりの菌量が必要なこともあって、subculture 後に実施することが多く、その期間を利用して、これ迄に記した諸性状の観察をすませ、又、ナイアシンテストと平行して上記の検査を行なうことは、検査時間の節約にもなる。なお少ない菌量で実施可能なナイアシンテストの方法も提唱されているが私共はまだ未検討である。ナイアシンテスト陰

性の結核菌もごく少数ながら存在する様で注意が必要である。又、ナイアシンテストに関しては、他の抗酸菌種である *M. ulcerans*, *M. microti* 等に陽性を示すことが知られているが、実際的には、これらの菌種の鑑別が必要になる機会は殆どない様に思われ、ナイアシンテストが陽性であれば、ほぼ間違いなく *M. tuberculosis* を考えて良いと思われる。

カタラーゼ半定量法（直立1%小川培地の表面に充分発育した菌に、カタラーゼ反応試薬を1.0 ml 加え、生じる泡の高さを5分後に判定する。）で45 mm 以上とそれ以下の2群に分けると、*M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* では45 mm 以上を示すものが殆んどで、*M. intracellulare-avium group* では45 mm 以下を示す。なお *M. scrofulaceum*, *M. gordonae* はいずれも45 mm 以上という報告があるが、私共の保存株では *M. scrofulaceum* は45 mm 以下を示した。なお Group III で *M. intracellulare-avium group* 以外の非病原性の菌種の多くは45 mm 以上を示す様である。なお機

表2 非定型抗酸菌の性状(保存株)

| Group (Runyon) | 菌種 | 株数 | ナイアシン | | カタラーゼ (半定量) | | Tween 80 水解 5日陽性 | 硝 酸 塩 還 元 陽 性 | アリルスル ファターゼ | | PAS 培 地 黒 変 陽 性 |
|----------------|--------------------------|----|-------|----|-------------|-------|---------------------|------------------|----------------|-----------|-----------------------|
| | | | + | - | >45mm | <45mm | | | 3日 陽性 | 2週間 陽性 | |
| I | <i>M. kansasii</i> | 7 | 0 | 7 | 7 | 0 | 7 | 7 | 0 | 7 | 0 |
| | <i>M. marinum</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| II | <i>M. scrofulaceum</i> | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | <i>M. gordonae</i> | 6 | 0 | 6 | 6 | 0 | 5 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| III | <i>M. intracellulare</i> | 27 | 0 | 27 | 1 | 26 | 0 | 0 | 0 | 21 | 0 |
| | <i>M. avium</i> | 4 | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| IV | <i>M. fortuitum</i> | 3 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | <i>M. chelonae</i> | 4 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 4 |
| | <i>M. phlei</i> | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>M. smegmatis</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>M. tuberculosis</i> | 6 | 6 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>M. bovis</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

会は多くはないであろうが、Group I の *M. kansasii* と *M. marinum* の2菌種の相互鑑別に、後者が45 mm 以下であることは有用であろう。

Tween 80 水解反応 (5日法) の意義は、Group II 及び Group III の菌種の中で、非病原性といわれる *M. gordoane* (= Tap-water scotochromogen) 及び *M. nonchromogenicum-terrae-novum-triviale complex* が陽性で、病原性のある *M. scrofulaceum* 及び *M. intracellulare-avium group* では陰性を示すということである。なお *M. kansasii* は陽性で、*M. fortuitum*, *M. chelonei* は共に陰性のことが多い。同様な意義を有する検査として、東村²²⁾ の ethambutol 含有培地 (5 µg/ml) を用いた鑑別方法がある。併用すれば良いと思われる。

硝酸塩還元酵素反応は、*M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* に陽性である。Group IV の *M. fortuitum* と *M. chelonei* の一応の鑑別に使用し得るであろう。

アリルスルファターゼ (3日法) 及び PAS

培地黒変は、*M. fortuitum* 及び *M. chelonei* 両者に陽性で、Group IV であることの確認に役立つ。

<小 括>

ナイアシントテスト陰性で、AM の確認をすませ、光発色陽性の Group I に属する *M. kansasii* と *M. marinum* 相互間は、カタラーゼ半定量法と硝酸塩還元酵素反応で一応の鑑別が出来る。Group II の *M. scrofulaceum* と *M. gordonae* は Tween 80 水解反応で、又、Group III の *M. intracellulare-avium group* と *M. nonchromogenicum-terrae-novum-triviale complex* との鑑別は、同じく、Tween 80 水解反応が有用で、それに加えて、硝酸塩還元酵素反応も参考になろう。Group IV に属する菌種である *M. fortuitum* と *M. chelonei* は、PAS 培地黒変と、アリルスルファターゼで推定出来、*M. fortuitum* と *M. chelonei* 相互間の鑑別推定は、硝酸塩還元酵素反応が有用である。

表3 臨床材料 (喀痰) より分離された抗酸菌の同定成績
(非定型抗酸菌を疑われた菌株)

| Group (Runyon) | 菌株数 | 菌 種 (推 定) | 菌株数 | 臨床的に非定型抗酸菌症が疑われる症例 |
|--|-----|--------------------------|-----|--------------------|
| I | 0 | <i>M. kansasii</i> | 0 | 0 |
| II | 7 | <i>M. scrofulaceum</i> | 4 | 0 |
| | | <i>M. gordonae</i> | 3 | 0 |
| III | 27 | <i>M. intracellulare</i> | 24 | 12 |
| | | Other Nonphotochromogens | 3 | 0 |
| IV | 4 | <i>M. fortuitum</i> | 3 | 0 |
| | | <i>M. chelonei</i> | 1 | 1 |
| <i>M. tuberculosis</i> (分離時非定型抗酸菌を疑われたが、同定の結果結核菌と判明したもの) | | | 14 | いずれも肺結核症 |
| Nocardia | | | 3 | 0 |
| 不明 (極めて発育不良で subculture 不能) | | | 2 | 0 |

ま と め

以上, 臨床細菌学の立場から, 一般の細菌検査室で実施し得る抗酸菌の簡易同定検査を主体として述べた。検査の詳細な紹介は意とせず, 実際に分離された菌株からいかにすれば, 時間的にも出来るだけ早く, 又, 効率良く, 同定に資する情報を得られるかを考えてみた。勿論以上の諸検査から, 確実な細菌学的な鑑別が出来るとは思わない。早急に抗酸菌同定を専門とした検査センターの設置が必要であることは論を待たないが, すべての臨床細菌検査室が或程度の予備検査を実施出来る様になることは必要なことであろう。

なお, 最後に最近2年間に私共の研究室にAMの疑いで送付された菌株の簡易同定結果を表3に示した。

文 献

- 1) Pollak, A. and Buhler, V. B.: Fatal atypical acid-fast infection. *Amer. J. Path.*, 27: 735, 1951.
- 2) Crow, H. E. et al.: A limited clinical, pathologic, and epidemiologic study of patients with pulmonary lesions associated with atypical acid-fast bacilli in the sputum. *Amer. Rev. Tuberc.*, 75: 199~222, 1957.
- 3) 染谷四郎他: 患者喀痰より長期間に亘って排出された一抗酸性菌について, *日本細菌学雑誌*, 7: 605~612, 1952.
- 4) 占部 薫他: 結核をうたがわれた患者の喀痰よりつけて分離された非定型抗酸菌の第2例, *Medicine and biology*, 44: 196~198, 1957.
- 5) 田坂定孝他: Atypical mycobacteria によると思われる肺結核の一例, *日結*, 17: 272~276, 1958.
- 6) Breed, R. S. et al.: *Bergey's manual of determinative bacteriology*, The Williams Wilkins Company, 7th ed. p. 696~697, 1957.
- 7) Runyon, E. H.: Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. N. Amer.*, 43: 273~290, 1959.
- 8) Runyon, E. H.: *Mycobacteria and Mycobacterioses*, 第47回日本結核病学会総会特別講演, 1972年4月。
- 9) 日本結核病学会抗酸菌分類委員会, 臨床材料に見出されるミコバクテリアの分離とその鑑別, 同定—抗酸菌分類委員会試案一, 結核および呼吸器疾患文献の抄録速報, 23: 225~233, 1972.
- 10) Tsukamura, M.: A simple identifications system for atypical mycobacteria. *J. Tubercul. Chest Dis.*, 17: 8~17, 1971.
- 11) Kubica, G. P.: Differential identification of mycobacteria. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 107: 9~21, 1973.
- 12) Chapman, J. S.: *The Anonymous Mycobacteria in Human Disease*. Charles C. Thomas Publisher, p 21~30, 1960.
- 13) 山本正彦: 非定型抗酸菌症, 金原出版株式会社, p. 6, 1970.
- 14) Jones, W. D. Jr. and Kubica, G. P.: Differential colonial characteristics of mycobacteria on oleic acid-albumin and modified corn meal agars. I. Investigation of slowly growing mycobacteria, *Zbl. Bakt.*, 196: 53~67, 1965.
- 15) Jones, W. D. Jr. and Kubica, G. P.: Differential colonial characteristics of mycobacteria on oleic acid-albumin and modified corn meal agars. II. Investigation of rapidly growing mycobacteria, *Zbl. Bakt.*, 196: 68~81, 1965.
- 16) Vestal, A. L. and Kubica, G. P.: Differential colonial characteristics of mycobacteria on Middlebrook and Cohn 7H10 agar-base medium. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 94: 247~252, 1966.
- 17) 今野 淳他: ナイアシンテストの検討. *日胸*. 20: 867~873, 1961.
- 18) Wayne, L. G. et al.: Classification and identification of mycobacteria. I. Tests employing Tween 80 as substrate. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 90: 588~597, 1964.
- 19) Wayne, L. G. et al.: Aryl sulfatase activity of aerobic actinomycetales. *J. Bact.*, 75: 367~368, 1958.
- 20) Tsukamura, M.: Formation of a red color product from PAS by certain mycobacteria. *Jap. J. Tuberc.*, 9: 70~79, 1961.
- 21) Bönicke, R.: Ueber das Vorkommen von Acylamidasen in Mycobacterien. *Zbl. Bakt., Abt. Orig.*, 179: 209~230, 1960.
- 22) 東村道雄: Ethambutol 耐性による病原性抗酸菌 (Group II および Group III) の区別, *結核*, 45: 237~240, 1970.