

# 非定型抗酸菌に関する研究

## 第2報 金沢市周辺の結核患者から検出した非定型抗酸菌について

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39年11月30日

### 緒 言

非定型抗酸菌は1935年 Pinner<sup>(1)</sup>により発見されたが、一般の注目をひくようになったのは1952年の Tarshis<sup>(2)</sup>等の報告に始まり Timpe and Runyon, Buhler and Pollak<sup>(4)</sup>等により次々とその症例が報されてきた。本邦でも1952年染谷<sup>(5)</sup>等によって報告されて以来数十例の報告を見るに至った。

北陸地方では1942年園部<sup>(6)</sup>により chromogene säurefaste Bazillen の名称で44例報告されているが、Runyon<sup>(7)</sup><sup>(8)</sup>の分類が普及し、

Niacin test<sup>(9)</sup>等の生化学的反応が進歩し非定型抗酸菌の鑑別が可能となつて以来、当地方の非定型抗酸菌の報告を見ていない。そこで1962年4月以降、金沢市周辺より持ち寄せられた抗結核剤耐性検査材料から得られた抗酸菌について非定型抗酸菌に属するものが見出されるか否かを検した。

今回は1963年6月までの成績をまとめて報告する。

## I 非定型抗酸菌の分離同定について

### 方法および材料

抗結核剤耐性検査対照培地（小川培地使用）に発育した菌集落を材料とし、ナイアシンテスト<sup>9)</sup>を実施した。

集落数50個以下の発育の貧弱なるものは小川培地に再接種し増菌後に反応を実施した。

ナイアシンテストは今野氏法<sup>9)</sup>によつた。まず、菌の充分発育した培地に熱水 1.5ml を注ぎ振盪、5分間水平に静置し 0.2ml づつ 4本の試験管に分注し次に示すように試薬を加える。

1. 被検液 0.2ml + 4% アニリンエタノール液 0.1ml + 10% BrCN 0.1ml (陽性ならば黄変)
2. 被検液 0.2ml + 4% アニリンエタノール液 0.1ml (対照)
3. 被検液 0.2ml + 3% ベンチジンエタノール液 0.1ml + 10% BrCN 0.1ml (陽性ならばピンクに呈色)

4. 被検液 0.2ml + 3% ベンチジンエタノール液 0.1ml (対照)

ナイアシンテスト陰性の菌が得られたときは Ziehl-Neelsen 法により染色、鏡検し抗酸菌であることを確かめる一方、小川培地、キルヒナー液体培地で増菌しそれらの菌の生物学的性状および生化学的性状を以下の検査法により追求した。

1. 小川培地における発育の日数
2. 小川培地における集落の色
3. 光に対する発色性
4. 抗煮沸性試験
5. コード形成試験<sup>10)</sup>
6. 中性紅反応<sup>11)</sup>
7. niacin test<sup>9)</sup>
8. nicotinamidase test<sup>12)</sup>
9. urease test<sup>13)</sup>

- 10. formamidase test 14)
- 11. arylsulfatase test 15)
- 12. 薬剤感受性試験 (SM, PAS, INH, OM)
- 13. 動物実験

動物実験にはマウスおよびモルモットを用い菌は Dubos 液体培養 2~4 週の菌体を生食に浮遊しマウスには菌量 1 mg (0.2ml) ずつ尾静脈より接種, モルモットには菌量 5 mg (1.0ml) ずつ大腿部皮下に接種し

た. 各菌の浮遊液 0.1ml 当りの生菌数は H<sub>37</sub>R<sub>v</sub> 株: 24×10<sup>5</sup>, 齊藤株: 8.8×10<sup>5</sup>, 徳山株: 360×10<sup>5</sup>, 三林株: 12×10<sup>5</sup> であった.

接種した動物は 6 カ月間観察し, 途中で死亡したものは肺, 肝, 脾の重量および臓器中の菌の定量培養を行い, 生きのびたものは 6 カ月後と殺し同様の処置を行った.

結 果

1962年4月より1963年6月までの1年2カ月の抗結核剤耐性検査培養の件数は2,001例, そのうち抗酸菌培養陽性のものは574例であった.

それらのナイアシンテストを何回かに分けて実施したところナイアシンテスト陰性を示した菌は5株であった.

第1表 抗酸菌の分離成績

年 度	培養総数	菌陽性	ナイアシンテスト陰性
1962年4月~6月	272	97	0(0)*
1962年7月~12月	860	203	2(1)
1963年1月~6月	869	274	3(2)
計	2,001	574	5(3)

これらのナイアシンテスト陰性の菌株について抗酸菌染色を施して鏡検したところ, 抗酸性は4株に認められ, 他の1株はCandidaと判定された.

ナイアシンテスト陰性の抗酸菌4株について生物学的性状, 生化学的性状, 薬剤感受性を調べた成績は第2表に示す.

\*( )内は非定型抗酸菌と判定された菌株数である.

第2表 分離抗酸菌の諸性状

検査項目	株				
	小 崎	徳 山	三 林	齊 藤	
発 育 日 数	4 日	14 日	3 日	17 日	
集 落 の 色	黄 白	橙 黄	灰 白	黄 白	
光 発 色 性	-	暗発色性	-	-	
抗 煮 沸 性	4 分	8 分	1 分	15 分	
コ ー ド 形 成	-	-	-	+	
中 性 紅 反 応	-	-	-	+	
ナ イ ア シ ン テ ス ト	-	-	-	-	
ニ コ チ ン ア ミ ダ ー ゼ テ ス ト	n	+	-	+	
ウ レ ア ー ゼ テ ス ト	n	+	+	+	
フ ォ ー ル ム ア ミ ダ ー ゼ テ ス ト	n	-	-	-	
ア リ ル サ ル フ ァ タ ー ゼ テ ス ト	n	+(14日)	+(3日)	-	
薬 剤 感 受 性 (r/ml)	S M	100	10	100	100
	P A S	100	1,000	1,000	0.1
	I N H	10	100	100	0.1
	O M	n	10	100	n

n : 検査せず

分離された抗酸菌のうち小崎株と三林株は速やかに発育し Runyon の IV 群 rapid grower と思われるが、小崎株は小川培地で継代中に絶滅し生化学的性状について詳細に調べることは出来なかった。徳山株は橙黄色の集落を作り暗発色性を有し明らかに Runyon の II 群 scotochromogen に属するものであろう。

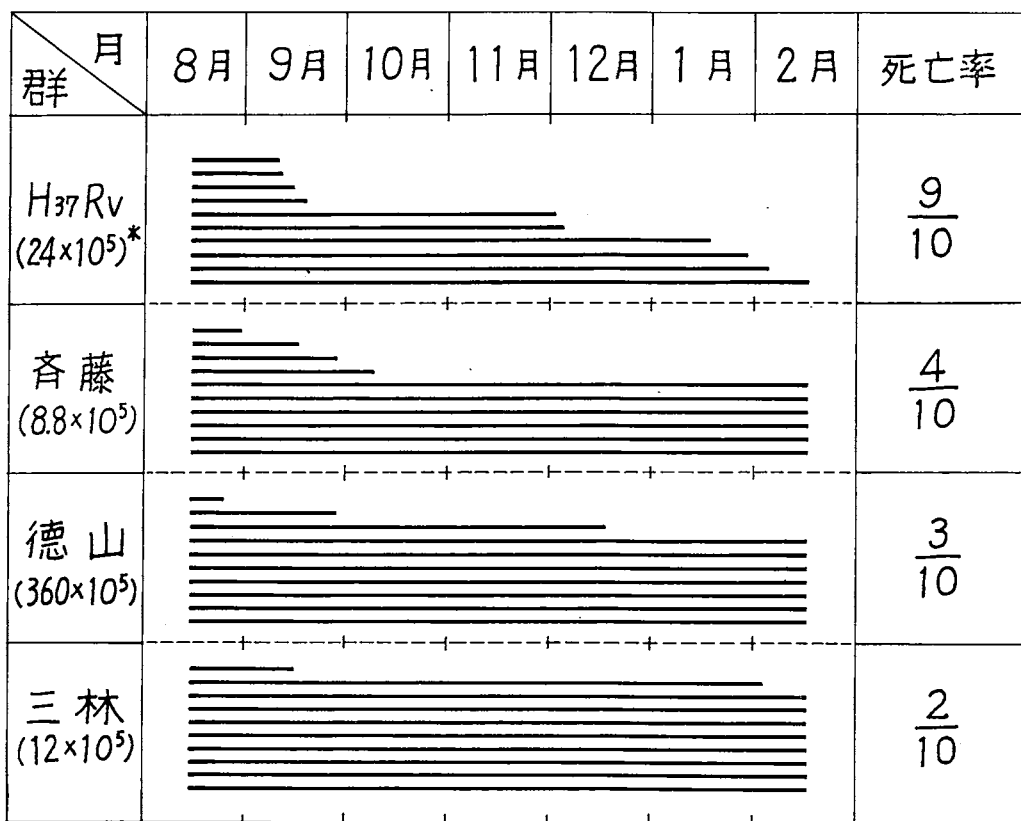
斉藤株はナイアシンテストは繰り返し陰性であるにかかわらず、コード形成、中性紅反応は陽性であり、生化学的反応からみても、ヒト型

結核菌に属するものと思われる。

それらの菌の動物に対する病原性はマウスおよびモルモットに接種し動物の生存率および動物の臓器中の菌培養によって観察された。

マウスを用いての実験では H<sub>37</sub>Rv 株感染群および斉藤株感染群では 2 カ月以内に倒れる数が多く、特に H<sub>37</sub>Rv 群ではほとんどが 6 カ月以内に倒れたが、徳山群、三林群では多くが 6 カ月以上生きのびた。

第1図 感染マウスの生存期間



これらの感染動物の臓器中の菌の培養の結果は第3表に示す。

第3表 感染動物の臓器中の菌培養成績

動物	No.	株				H <sub>37</sub> Rv 株				齊 藤 株				徳 山 株				三 林 株			
		臓器				肺 肝 脾 死*				肺 肝 脾 死				肺 肝 脾 死				肺 肝 脾 死			
		肺	肝	脾	死*	肺	肝	脾	死	肺	肝	脾	死	肺	肝	脾	死				
マ	1	+++	+++	+++	26	-	+	-	14	++	++	-	10	10	-	2	30				
	2	+++	+++	+++	27	-	-	-	31	-	-	-	43	-	-	2	165				
	3	+	++	-	30	+++	++	++	43	+++	+++	+	122	-	-	-	殺				
	4	++	-	+	34	-	-	-	54	+	-	-	殺	-	-	-	〃				
ウ	5	+	+++	++	108	+	+	-	殺	-	-	-	〃	-	-	-	〃				
	6	+++	+++	+++	110	+++	++	-	〃	+++	6	+	〃	-	-	-	〃				
	7	+++	+++	++	153	-	-	-	〃	5	-	-	〃	-	-	-	〃				
ス	8	+++	+++	-	165	++	++	-	〃	++	1	+	〃	+++	+	+++	〃				
	9	+++	++	-	170	+	1	-	〃	+	-	-	〃	-	-	-	〃				
	10	-	6	-	殺	+	+	6	〃	8	3	2	〃	-	-	-	〃				
モルモット	1	+++	-	++	殺	+++	-	++	131	-	-	-	殺	-	-	-	殺				
	2	+++	+	+++	〃	+++	1	+++	殺	-	-	-	〃	-	-	-	〃				

死\* : 菌接種後死亡までの期間 (日) を示し [殺] は183日目にと殺したことを示す。

臓器中の菌培養では齊藤株および徳山株感染群にかなり多くの菌が認められ、臓器の肉眼的所見でも病変が見られるものが多かったが、三林株感染群ではわずかに3動物から菌が証明されたにすぎなかった。

モルモットに対する病原性は H<sub>37</sub>Rv 株およ

び齊藤株感染群では認められたが、徳山株および三林株感染群ではいかなる病変も見られなかった。

以上の成績より小崎、徳山、三林の3菌株は明らかに非定型抗酸菌であり、齊藤株はヒト型結核菌であると思われる。

## II 非定型抗酸菌排出患者の臨床所見について

これら3種の非定型抗酸菌の排出患者の臨床所見を第4表に示しおのおの病歴を略述する。

小崎株：13才の少女の胸腔穿刺液より続けて2回分離された。患者は弛張熱を伴う右胸痛で始まり胸部レ線写真により右湿性胸膜炎と診断された。赤血球沈降速度は1時間88を示した。1952年5月金沢市立病院小児科に入院。EM, CM, TC, albicin T, metazonon 等を使用し、38年2月治癒退院した。(16)

徳山株：46才の男子、某農協職員より保健所の検診の精密検査の際分離された。患者の症状は軽度の咳嗽と喀痰があるほか特別な訴えはないが胸部レ線写真では左鎖骨下に比較的硬い陰影が認められたが空洞はなかった。現在抗結核剤により治療中である。

三林株：22才の男子、学生で尿より分離された。患者は1953年2月大学の定期健康診断の際、蛋白尿を指摘され腎盂腎炎の診断のもとに

金沢通信病院に入院，尿培養により抗酸菌が検出されたものである。当時まで時々血尿と腰部

鈍痛があったが1953年4月症状は寛解し退院した。

第4表 抗酸菌排出患者の臨床所見

株	小 崎	徳 山	三 林
性 別	女	男	男
年 齢	13才	46才	22才
分 離 源	胸腔穿刺液	喀 痰	尿
分 離 回 数	2 回	2 回	1 回
臨 床 症 状	弛 張 熱 右 胸 痛	時々咳嗽，喀痰	腰部鈍痛 間欠性血尿
胸 部 レ 線 所 見	右湿性胸膜炎像	左鎖骨下硬化像	異 状 な し
赤 沈 1時間/2時間	88/129	14/40	
使 用 薬 剤	EM, CM, TC, albiocinT, metazon	SM, PAS	SM
治 療 期 間	1962,5~1963,2	1962,9~	1963,2~1963,4
臨 床 経 過	略 治	著 変 な し	軽 快

## 考 察

非定型抗酸菌の定義は学者により区々で一定していない。人間に或る病変をおこし，しかも同一菌がくり返し分離され，その菌が今まで知られている結核菌と異なるものを非定型抗酸とする学者もあり，<sup>(17)</sup>また人体材料から分離される結核菌以外の抗酸菌をすべて非定型抗酸菌と称する学者もいる。<sup>(18)</sup>ここでは後者の立場をとり，分離された菌がその患者の疾患の真の原因菌でなくとも，一応非定型抗酸菌として扱い，それらの菌が前者の狭義の非定型抗酸菌として分離された菌と本質的に異なるものか，あるいはまったく同一のものがあるかどうかを追求していこうとするのが狙いである。その観点で著者は前報<sup>(19)</sup>でPAS黒化現象を中心に

RunyonのIV群に相当する8株の菌を検討し，三林株は雑菌性抗酸菌ではなく，RunyonのIV群に属すべき株であろうと報告した。更にこれらの8株の旧ツベルクリンの皮内反応を試みて，山本S死菌体感作動物に強く反応する“旧ツ”産生群と三林株死菌体感作動物に強く反応する“旧ツ”産生群にわかれることを明らかにしている。<sup>(20)</sup>

此の度，分離した非定型抗酸菌は分離回数1~2回であり，非定型抗酸菌症と断言することは出来ないが，これらの非定型抗酸菌が北陸地方においても検出できるということに意義がある。諸外国の報告によれば非定型抗酸菌の検出率は1%ないし6%であるが日本では日比野等

(21)の報告では0.5%に検出されている。著者の成績も0.52%となり大体北陸地方でもこれ位

の比率で非定型抗酸菌が検出されるであろうと推察される。

第5表 非定型抗酸菌の検出率

調査機関	調査年度	排菌例	非定型抗酸菌	
			例数	比率(%)
Batley State Hospital 22)	1950~1955		65	1.0
Cook Country Sanatorium <sup>9)</sup>	1955~1957	929	55	5.8
Cambridge Sanatorium 23)	1957	663	7	1.0
Turku University 24)	1956~1959	1501	90	6.0
名古屋大学 21)	1962	7752	43	0.5
金沢大学結研	1962~1963	574	3	0.5

今回分離されたナイアシン陰性株中1株は中性紅反応陽性、コード形成試験陽性でありモルモットに対する病原性があることからヒト型結核菌と判定されたがナイアシン陰性の結核菌は極めて稀に存在するがそれについていくつかの報告がある。(25)

小崎株が小川培地継代中絶滅したことは、同じ系統の菌と思われる三林株がマラヒット緑またはゲンチアナ紫等のメチルパラローズアニリン系の色素に比較的弱いことから、小川培地中のマラヒット緑のために発育が阻止されたものと推察される。

## 結 論

1962年より1963年にかけて金沢市周辺の結核患者から得られた抗酸菌574株から4株のナイアシンテスト陰性株を分離した。

そのうち3株は非定型抗酸菌であり、他の1株はヒト型結核菌であった。3株の非定型抗酸

菌のうち1株は *scotochromogen* であり他の2株は *rapid grower* に属するものと思われる。

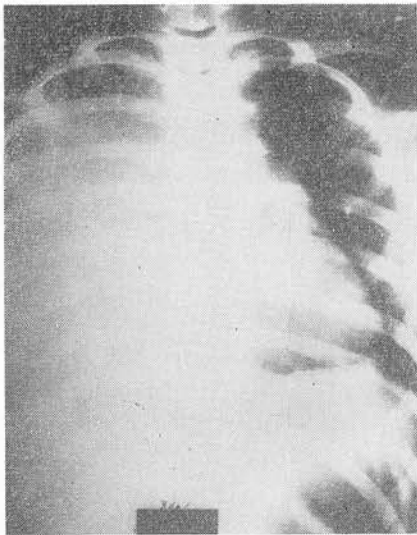
これらの非定型抗酸菌はマウスにはかなりの病原性が認められたがモルモットにはいかなる病原性も示さなかった。

## 文 献

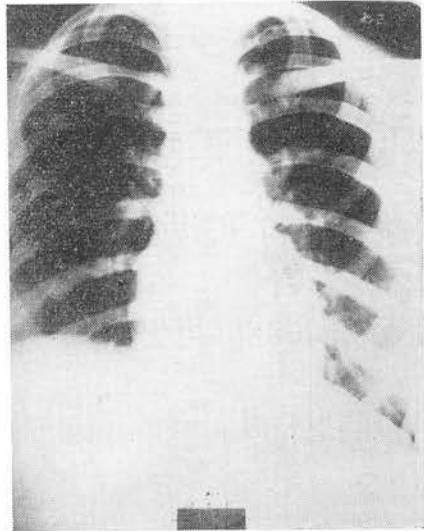
- 1) Pinner, M. : Am. Rev. Tuberc., 32, 424, 1935.
- 2) Tarshis, M. S., and Frisch, A. W. : Am. Rev. Tuberc., 65, 278; 289; 302, 1952.
- 3) Timpe, A., and Runyon, E. H. : J. Lab. Clin. Med., 2, 202, 1954.
- 4) Buhler, V. B., and Pollak, A. : Am. J. Clin. Path., 23, 363, 1953.
- 5) 染谷四郎, 林 治 : 日本細菌学雑誌, 7, 605, 1952.
- 6) 園部昌俊 : 金沢医大結研年報, 1, 21, 1942.
- 7) Runyon, E. H. : Bull. Inter. Union against Tuberc., 29, 69, 1959.
- 8) Runyon, E. H. : Med. Clin. of N. Amer., 43, 273, 1959.
- 9) Konno, K., Kurzmann, R., Bird, K. T. & Sbarra, A. : Am. Rev. Tuberc., 77, 669 ; 675, 1958.
- 10) Middlebrook, G., Dubos, R. J., & Pierce, C. : J. Exper. Med., 86, 175, 1947.
- 11) Dubos, R. J., & Middlebrook, G. : Am. Rev. Tuberc., 58, 698, 1948.
- 12) Konno, K., Nagayama, H. & Oka, S. : Am. Rev. Resp. Dis., 81, 550, 1960.

- 13) Toda, T., Hagihara, Y. & Takeya, K. :  
Am. Rev. Resp. Dis., 83, 757, 1961.
- 14) Nagayama, H., Konno, K. & Oka, S. :  
Nature, 190, 1219, 1961.
- 15) Kubica, G. P. & Vestal, A. L. : Am.  
Rev. Resp. Dis., 83, 728; 733; 737, 1961.
- 16) 福山裕三, 田川修次 : 結核, 39 187, 1964.
- 17) 戸田忠雄 : 日本胸部臨床, 19, 607, 1960
- 18) 占部薫 : 胸部疾患, 3, 305, 1959.
- 19) 福山裕三 : 金大結研年報, 22, 1, 1963.
- 20) 福山裕三 : 第16回結核談話会にて発表(札幌,  
1964)
- 21) 日比野進 : 結核, 37, 307, 1962.
- 22) Crow, H. E., King, C. T., Smith, C. E.,  
Corpe, R. F. & Stergus, I. : Am. Rev.  
Tuberc, 75, 199, 1957.
- 23) Lester, W. Jr., Botkin, J. & Colton, R.  
: Veterans Administrations, Armed Forces,  
p. 285, 1958 (cf. 臨床検査の進歩第1集(上)  
p. 97, 1963)
- 24) Virtanen, S. : Acta Tuberc. Scand, 40,  
171, 1961.
- 25) Meissner, G. : Tuberkulosearzt, 15, 151,  
1961.

小崎：治療前



小崎：治療後



徳山：菌排出当時

