

肺疾患患者喀痰より分離された非定型抗酸菌 (3 株) の 細菌学的性状ならびに動物に対する病原性

(第 1 篇：川村株について)

下出久雄・小川政敏

国立療養所東京病院

受付昭和37年4月21日

緒言

近時、肺疾患患者の喀痰等病的材料の細菌検査にさいして結核菌と非定型抗酸菌との鑑別が注目されてきた。それに伴って非定型抗酸菌によると思われる肺疾患の症例報告が次第に増加している^{1)~10)}。また一方いわゆる非定型抗酸菌の由来や病原性に關連して、これらと自然界抗酸菌の実験動物に対する病原性や生物学的性状、生化学的性状との比較検討が行なわれている^{11)~21)}。これら結核菌、非定型抗酸菌、自然界または雑菌性抗酸菌(非病原性抗酸菌)の鑑別は近來、抗酸菌の生化学的分類の進歩によつてその可能性が期待されるようになっていくが、人間に病原性ありと考えられる菌と病原性なしと考えられる菌との鑑別はまだ判然としていない。非定型抗酸菌症がいかんして発生するかについても種々の仮説、たとえば陳旧性結核病巣に雑菌性抗酸菌が増殖するとか、結核症の化学療法中、人型菌が消失するとともに非定型抗酸菌が増殖するとか、宿主の局所または全身の抵抗減弱によつて発症するとか、あるいは哺乳類結核菌の変異ではないかとの考えが述べられている^{22)~27)}。しかしいずれの仮説もいわゆる非定型抗酸菌症の発生を一元的に説明するには不十分であり、発病は宿主側、寄生体側の種々の要因によつて規定されるものと思われ、これらの要因の解明には人間に病原性ありと考えられる菌株の多数の臨床例による検討が必要であろう。われわれが本報告で述べる3菌株は病巣内より分離したものではないが、長期にわたり同一患者より頻りに同一性状を有する菌株を喀痰より分離し、かつ同時に定型的結核菌は証明しえなかつたもので、当該患者の肺疾患と病因的關係があると思われる。これら3株は、その分離前後の患者の臨床経過、治療経過、および分離菌株の生物学

的性状がかなり相違しており、いわゆる非定型抗酸菌の分類や病原性に關連して興味あるものと思われる。第1篇では3菌株のうち川村株について報告し、他の2例の臨床経過と分離株の細菌学的性状、ならびに動物(家兎、モルモット、マウス)実験成績は第2篇で報告する。

第1例：川村株

(i) 臨床経過

本菌株が分離された患者は1917年生れの男子で、職業は商業である。既往歴としては昭和8年結核性足関節炎、9年に肋膜炎に罹患し静養、13年に咯血あり、肺結核と診断され、26年2月より27年1月まで某療養所入院、安静療法を行なつたが、その間喀痰中抗酸菌はガフキー2~4号で培養はしなかつた。29年、30年にも咯血あり、30年11月よりSM、PASを1年間併用、続いてINH、PASを33年9月まで併用し、同月東京療養所に入所した。入所前31年11月より毎月喀痰中菌検査を行なつたが塗抹ではときどきガフキー8号くらいが認められたが、培養ではわずか2回陽性であり、他はすべて陰性であつて薬剤耐性はなかつたという。X線写真所見は33年5月には両側上肺野に気腫性の嚢胞がいくつかみられ、左中野に薄壁空洞が認められ、学研分類C₃Kx₂型であつた。このような状態で入所したのであるが、入所後喀痰中抗酸菌検査の結果は最近までほとんど毎日塗抹、培養ともに陽性となつた。しかるに直接法または間接法により薬剤耐性検査を行なつたところ、薬剤含有培地のみならず、対照培地にも毎回(10回)全く集落を認めえず、小川培地による耐性測定は不能であつた。入所後の治療は人工気胸が9カ月試みられ、34年5月よりSM・INH・PAS併

用 9 カ月, SM・INH・Sulfisoxazole 併用, INH・Sulfisoxazole 併用, INH, PAS 併用等が各 2~3 カ月行なわれたが排菌減少せず, 35 年 9 月 INHG・PZA 併用後排菌の減少がみられている。なお X 線所見では左中野の空洞が縮小した以外はほとんど不変であった。ツベルクリン反応歴は不明であるが人型菌ツによる反応は 36 年 7 月には $\frac{15 \times 13}{50 \times 30} \text{ mm}$ であった。(なお 36 年 6 月以後菌陰性化した)

(ii) 細菌学的所見 (表 1, 2)

(a) 培養性状

臨床経過で述べたごとく本患者は東京療養所入所前は塗抹ではときどき陽性であったが, 培養ではわずか 2 回陽性であったのみであり, 入所直後より毎月多数の集落が検出されるようになった。また耐性検査では対照培地にも全く集落の発生を認めなかった。このことから考えられたことであるが, 当所では通常の喀痰検査には 3% 小川培地に焦性ブドウ酸と可溶性澱粉を加えたもの(以下小川変法培地と記す)を使用しており, 耐性検査(直立拡散法)には普通の小川培地を使用しているので, この相違から上記のごとき結果が得られたのではないか

と考えられ, 小川変法培地上に生えた菌を小川培地に継代したが全く集落の発生がみられなかった。すなわち本菌株は小川変法培地には発育するが, 小川培地には発育しない特殊な性状を有するものと思われた。また本菌株は血清加 Kirchner, Dubos (Tween なし), Kirchner 寒天小川変法 III, 染谷・林寒天等の各培地にも全く発育せず, これら培地による患者喀痰培養では本菌株を分離しえなかった。しかし Löwenstein-Jensen 培地では多少の発育がみられ, 小川培地に半流動血清寒天を重層した培地には 図 1 に示すごとく特殊な発育を示した。すなわち薬剤を含有しない培地には発育せず INH を 0.1 γ /cc, 1 γ /cc, 5 γ /cc, SM を 1 γ /cc 含有した培地には液面より一定の深さに菌の発育を認めた。また染谷・林処方の半流動寒天培地でも液面より数 mm 以下の深さに輪状に発育した。これらに比し小川変法培地にはきわめて良好な発育を示すことは臨床経過で述べたとおりである。(以上の培養実験における菌接種量はすべて 0.1 mg である)

小川変法培地 37°C 培養における発育速度は 14 日後きわめて微小な集落を認める程度であるが, その後も 6 週後まで集落はあまり大きくならない場合もあり,

Table 1. Rate of Growth in Various Medium of Kawamura Strain

Medium	Ogawa Kirchner Kirchner agar Ogawa modified III Dubos without Tween 80 Someya-Hayashi agar	Löwenstein-Jensen	Two layer medium consisting of Ogawa's medium and semi-solid serum agar medium Semi-solid agar (Someya-Hayashi)	Ogawa's medium with pyruvate and soluble starch (modified Ogawa's medium)
Rate of growth	no	slight	peculiar *	good

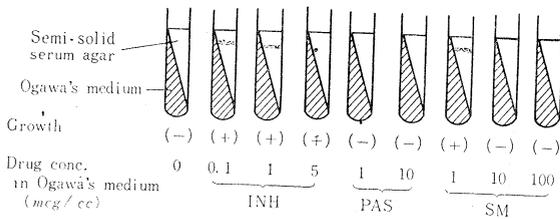
Kawamura strain grows rarely on Ogawa's medium.
* As indicated in Fig. 1.

Table 2. Bacteriological Properties of Various Strains

Strain	Colonial morphology	Rungon's classification	Kf	Cord	NR-T	NC-T	C	P	Drug resistance (mcg/cc)			Growth on Ogawa's medium	
									SM	INH	PAS	at 37°C	at 20°C
Kawamura	rough greyish white	nonphoto-chromogen	5	+	++	-	+	±	5	2	1 >	no or slight in 21d.	no
Ravenel (bovine)	rough greyish white	nonphoto-chromogen		+	++	-	+	++				good in 14d.	no
KH ₁ (human)	rough greyish white	nonphoto-chromogen		+	+	+	+	+				good in 14d.	no
M. Smegmatis (saprophytic)	rough yellow	scoto-chromogen		-	-	-	++	-				good in 2d.	good in 10d.
Brownell (atypical)	rough yellow	photo-chromogen			-	-	++	±				good in 10d.	no

Kf: Kochfestigkeit (min.) NR-T: Neutral red test NC-T: Niacin test
C: Catalase test P: Peroxidase test

Fig. 1. Growth in Two Layer Medium Consisting of Ogawa's Medium and Semi-Solid Serum Agar Medium of Kawamura Strain



Organism grows about 5 mm below the surface of semi-solid serum agar medium.

また臨床経過で述べたごとく入所前、他施設において小川培地にもまれに発育したことがあるようであり、本菌株の培養性状はわずかな条件で左右されるようであり、この点については動物実験における臓器内抗酸菌培養成績に関連して後述する。小川変法培地に発育した集落の性状は R 型、灰白色で生理的食塩水にきわめて懸濁しがたい。菌の形態は長桿状で、Preis の煮沸試験で Kf 5 であつた。

(b) 光発色性 : Runyon の Nonphotochromogen に分類される。

(c) 生化学的性状 : Niacin test (BrCN-Aniline 法) (-) Neutral red 反応 (+) (人型結核菌 KH₁ 株より強い), Catalase 反応 (+), Peroxidase 反応 (±) (小川・漆崎の方法で, (+) 集落と (-) 集落が混在), Cord 形成は (+) (KH₁ 株よりやや弱い)。

(d) 薬剤感受性 : 小川変法培地による直立拡散法で見当をつけると SM 5 γ, INH 1~3 γ, PAS 1 γ 以下の耐性を示した。しかしマウス接種実験にて臓器より小川培地に分離しえたものがあり、この菌株で小川培地による耐性測定を行なつた結果では SM 100 γ, INH 約 1 γ, PAS 20 γ 以上, KM 1 γ, TB₁ 100 γ 以上, Sulfisoxazole 50 γ 以上の耐性を示した。

(iii) 動物実験成績

(a) マウスに対する毒力

小川変法培地 2 週間培養菌を用い、その 1 mg/cc, 10 mg/cc の蒸溜水浮游液を 0.1 cc ずつ、12 匹の dd 系マウスの尾静脈内に接種し、接種後 2, 4, 6, 10 週目に各 3 匹ずつ剖検し、肉眼的、組織学的検索を行ない、肺肝脾を 3 匹ずつまとめて各臓器内抗酸菌定量培養を 1% 小川培地ならびに 1% 小川変法培地の両者によつて行なつた。接種実験は第 2 篇の佐々木株、黒沢株、および対照として Brownell 株 (米国由来 Photochromogen の非定型抗酸菌、結核予防会結研より分与)、人型 KH₁ 株、H37Ra 株についても同時にほぼ同様な条件で行なわれた。

① 肉眼的剖検所見 (表 3)

肺には接種後 2 週目に 0.1 mg, 1 mg 接種の両群ともに灰白色半透明の微小な点状結節が数十コ認められ、4 週間には両群ともにきわめて多数のケシの実大結節が認められ、6 週間、10 週間にもほぼ同様な結節が認められた。10 週間までに 0.1 mg 接種群 1 匹、1 mg 接種群 2 匹が死亡したが、死因は本菌株によるものか明らかにしえなかつた。肝脾には肉眼的病変を認めえず、脾は軽度ないし高度の腫脹を示した。これらの病変は KH₁ 株接種マウスの病変より高度で、Brownell 株接種マウスの病変とほぼ同程度であつた。

Table 3. Macroscopic Findings of Organs of Mice

Strain	Time of sacrifice (weeks)	Inf. dose	Organ				Liver and spleen
			Lung				
Kawamura	0.1 mg	1	+	+++	+++	+++	no lesion
			-	+++	+++	+++	
	+	-	+++	+++			
	+	+++	+++	+++			
Brownell	0.1	1	-	+++	+++	+++	no lesion
			-	+++	+++	+++	
	+	+++	+++	+++			
	+	+++	+++	+++			
H37Ra	0.1	1	-	-	-	-	no lesion
			-	-	-	-	
	-	-	-	-			
	-	-	-	+			
KH ₁	0.1	1	+	+	++	+	no lesion
			-	+	++	+	
	-	+	++	+			
	+	++	+++	+++			

② 組織学的所見 (表 4)

肺には接種 2 週間後、単核細胞、小円形細胞からなる小結節と胞隔の肥厚が認められ、結節中には数十コ以上の抗酸菌が認められた。4 週間には結節はさらに大きくなり、きわめて多数となり、互いに融合し、結節内にはきわめて多数、とくに 1 mg 接種群では塊状の無数の抗酸菌が認められた。6 週、10 週と時を経るに従つて Foam cell が多数認められ、抗酸菌はやや減少の傾向を示した。肝脾でも多数の類上皮細胞結節様の結節が認められ、時を経るに従い結節は萎縮し小円形細胞を主とするようになった。結節内には 10 週間まで抗酸菌を認め

Table 4. Microscopic Findings of Acid-fast Bacilli in the Tissues of Mice

Strain	Inf. Organ dosis	Time of sacrifice (weeks)				2				4				6				10			
		P	L	S	K	P	L	S	K	P	L	S	K	P	L	S	K				
Kawamura	0.1mg	++	+	++	+	++	++	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	+	+	++	+
	1	++	+	++	-	+++	+	++	+	+++	++	++	+	+++	+	+++					
Brownell	0.1	-	+	-	-	++	+	+	-	++	+	++	-	++	+	++	-	+	+	+	-
	1	+	+	+		+	+	+	-	+	+	++	±	++	+	++	+	++	+	++	+
H37Ra	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
KH ₁	0.1	-	+	-		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	++	+	-	-
	1	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	±	+++	+	+	+

P: Lung L: Liver S: Spleen K: Kidney
 Number of bacilli in the focus which contains maximum number of bacilli.
 -: 0 ±: few +: less than 20 ++: 20~50 +++: 50~100 #: approximately 100
 ##: approximately 200 ###: countless

えた。これらの所見も KH₁ 株による病変より高度であった。またほとんどの例の腎にも微小な結節と抗酸菌が認められたが、Brownell 株接種マウスの腎に認められたような比較的大きな膿瘍状の変化はみられなかつた。しかし肺病巣内の抗酸菌は Brownell 株の場合と同等ないしそれ以上に認められた。

③ 臓器内抗酸菌定量培養成績 (表 5)

上述のごとく組織学的にはきわめて多数の抗酸菌が各臓器に認められたにもかかわらず、肺肝脾の定量培養では培養 5 週までには小川変法培地上に比較的小数の微小集落が認められたにすぎないものが多かつた。しかし中にはきわめて多数 (培地全面) の集落が発生した培地もあり、同一条件で接種された 2 本の培地に発生した集落数の間にも大きな差が認められ、また接種臓器の稀積程度と集落数も平行しないものが多く、まれには小川培地にも無数の集落が発生したのもあり、臓器内生菌数の測定は不可能であつた。このような培養所見は分離菌株の菌液を培養した場合にも認められ、また同時に同一条件で行なつた他の 5 菌株の臓器培養では全く認められず、また接種後 2 週目から 10 週目まで 4 回の培養において常に認められた所見であるから、単に偶然

の実験の誤りとは考えられず、本菌株の特殊な培養性状によるものと思われる。小川培地では 4 本の培地に集落を認めたが、大部分の培地には集落を認めえず培養性状の項に述べたごとくであつたが、全く發育しえないものではないようであつた。なお小川培地に發育しえた菌株の細菌学的諸性状は前述の本菌株の性状と同様であつた。小川変法培地においても一部の培地では速やかに集落が発生したが、多くの培地では培養 5 週後から 10 週まで次第に集落数が増加し發育が遅かつた。小川培地では長期培養でも集落数の増加はみられなかつた。

(b) 家兎およびモルモットに対する毒力

家兎に対しては小川変法培地 2 週間培養菌の蒸溜水 1 cc 中 10 mg の菌液 1 cc を右側腹部皮下に接種し、同時に後述の佐々木株、黒沢株、牛型 Ravenel 株、人型 KH₁ 株、Brownell 株 (前述) を各 10 mg 宛 2 羽の家兎に皮下接種した。剖検は接種後 8 週目に行ない、各菌株ごとに 2 羽の臓器をまとめて抗酸菌の定量培養を 1% 小川変法培地で行なつた。

モルモットに対しては家兎接種に用いた同一菌液より 1mg/cc, 5mg/cc の菌液をつくり、2 匹に 1 mg, 1 匹に 5 mg を右大腿内側に皮下接種した。同時に佐々木

Table 5. Results of Quantitative Cultures of Bacilli from the Tissues of Mice Infected Intravenously with Kawamura Strain

Time of sacrifice (weeks)	Weight of cultured tissue (mg)	Inf. dosis: 1mg (dry weight)						Inf. dosis: 0.1mg (dry weight)																			
		Modified Ogawa's medium			Ogawa's medium			Modified Ogawa's medium			Ogawa's medium																
		P	L	S	P	L	S	P	L	S	P	L	S														
2	10 a	21	140	0	0	0	0	0	0	0	96	18	0	78	104	0	0	0	0	0	0						
	b	76	卅	36	4	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	166	35	114	31	200	卅	0	0	0	0	0	
	1 a	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	93	卅	0	2	0	40	0	0	0	0	0	8	0	0	12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.1 a	0	69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	b	0	卅	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	10 a	0	0	81	0	0	卅	卅	0	0	0	卅	37	0	13	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	0	0	0	80	0	卅	卅	0	0	1	卅	卅	0	57	卅	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1 a	0	0	8	5	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	0	4	12	26	卅	11	0	0	0	0	0	7	0	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.1 a	0	0	0	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	0	0	0	74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6	10 a	卅	+	0	0	6	卅	0	0	46	0	0	45	52	0	0	240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	卅	卅	0	0	卅	卅	0	0	卅	0	0	卅	卅	0	0	卅	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1 a	0	8	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	19	12	21	4	4	1	0	0	0	0	0	0	1	4	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0.1 a	+	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b	卅	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	10 a												卅	+	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b												卅	42	6	6	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1 a												0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	b												0	卅	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

P: Lung L: Liver S: spleen
 a: Results of 5 weeks culture
 b: Results of 10 to 12 weeks culture

株, 黒沢株, Brownell 株, KH₁ 株, Ravenel 株, Myc. Smegmatis の接種実験を行なったが, KH₁ 株は 2 匹に 1 mg, 1 匹には 0.1 mg を接種し, Ravenel 株, Myc. Smegmatis は各 2 匹に 1 mg 接種した。剖検, 臓器培養は家兎と同様に行なった。またモルモットの実験では接種後 4, 6, 8 週目に 100 倍旧ツベルクリンによるツ反応を行ない, 同時に体重測定を行なった。(ツ液はすべて人型菌ツベルクリンを使用)

① モルモットのツ反応, 体重の推移 (表 6)

感染 4 週後に 3 匹ともに 20 mm (長短径平均)

以上の発赤硬結を示し, 6 週以後もさらに強い反応を示した。このような反応は同時に行なった KH₁ 株, Ravenel 株接種動物にみられた反応と同程度であり, 後述する佐々木株, 黒沢株, Brownell 株接種動物の反応よりはるかに強度であった。体重は次第に増加し, Ravenel

Table 6. Changes in Tuberculin Reaction and Body Weight of Guinea Pigs

Strain	Tuberculin reaction (mm)				Body weight (g)			
	0	4	6	8	0	4	6	8
Kawamura	2.5	23	29.8	25	380	471	550	578
Brownell	3	9.6	11.3	16.5	499	620	666	653
M. Smegmatis	3	4.5	10	6.5	365	530	573	590
Ravenel	4.5	22.3	18.3	28.5	362	457	495	
KH ₁	0.7	28.8	28	28.6	541	590	643	645

株のごとき衰弱は認められず, その他の菌株の場合と差は認められなかった。

② 肉眼的剖検所見 (表 7, 8)

家兎では接種局所および腹膜に壊死を伴った結節がかなり認められたが, 肺肝脾には全く病変を認めえなかつ

た。これらの病変は Ravenel 株を除く他の菌株の接種家兎の病変とほぼ同程度であった。Ravenel 株のみ全身に広範な病変を起し、感染後 33 日目、41 日目に各 1 羽が死亡した。

モルモットでも接種局所の小指頭大の膿瘍および所属リンパ節に比較的軽度の病変が認められたのみで、肺肝脾には全く病変を認めなかった。これに対し Ravenel 株では広範な病変を起し、KH₁ 株では 1 mg 接種で肺肝脾にかなりの病変が認められた。他の菌株では接種局所にも全く病変を認めないものが大部分であった。

③ 臓器内菌定量培養成績

家兎、モルモットともに各菌株ごとに、肺肝脾の定量培養を 1% 小川変法培地で行なった。家兎では各臓器 10 mg 中生菌数は肺肝脾ともにすべて 0 で、接種局所は培養しなかつたが、膿中には塗抹標本で多数の抗酸菌が認められた。

Table 7. Macroscopic Findings of Organs in Rabbits

Strain		Kawamura		Brownell		Ravenel		KH ₁	
		1	2	7	8	9	10	11	12
No. of rabbit									
Organ									
Inocul. site		⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-
Lymph nodes	r. Kneefold	-	-	-	-	-	-	-	-
	r. Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-
	l. Kneefold	-	-	-	-	-	-	-	-
	l. Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mesenterial	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	Portal	+	-	-	-	-	-	-	-
	Tracheal	-	-	-	-	-	-	-	-
Viscera	Spleen	-	-	-	-	+	⊕	-	-
	Liver	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kidney	-	-	-	-	⊕	+	-	-
	Lung	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-
Weight of spleen (g)		1.5	2.2	1.3	1.1	3.5	4.8	2.0	1.0
Weight of lung (g)		10.6	9.9	11.8	10.4	/	43.3	14.0	11.8

Table 8. Macroscopic Findings of Organs in Guinea Pigs

Strain		Kawamura			Brownell			M. Smegmatis		Ravenel		KH ₁		
		1	2	3	12	19	20	13	14	10	11	16	17	18
No. of guinea pig														
Inf. dosis (mg)														
Organ		1	1	5	1	1	5	1	1	1	1	0.1	1	1
Inocul. site		⊕	⊕	⊕	-	-	-	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Lymph nodes	r. Kneefold	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-	-
	r. Inguinal	⊕	⊕	⊕	-	-	-	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	l. Kneefold	-	-	-	-	-	-	-	-	+	⊕	-	-	-
	l. Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	r. Axillary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	l. Axillary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	r. Cervical	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-	-
	l. Cervical	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-	-
	Mesenterial	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-	-
	r. Iliacal	⊕	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	⊕	-	⊕
	l. Iliacal	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-	-
	Portal	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	-	+
	Retrosternal	-	-	-	-	-	-	-	-	+	⊕	-	-	-
Tracheal	-	-	+	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	+	+	
Viscera	Spleen	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	+	⊕
	Liver	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	⊕	⊕
	Kidney	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Lung	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕	⊕	-	⊕	+
Weight of spleen (g)		1.3	0.9	0.9	0.8	1.1	0.8	0.8	0.9	5.5	4.8	0.9	1.0	3.6
Weight of lung (g)		5.5	4.9	4.0	3.2	6.2	3.4	4.2	3.8	5.8	10.8	5.6	5.0	4.9

総 括

本菌株の第一の特長は小川培地には発育がきわめて不良であるが、小川変法培地（小川培地に焦性ブドウ酸と可溶性澱粉を加えたもの）にはよく発育するという点である。この性質によつて本菌株は定形的結核菌ではないのではないかと疑われ、その後の諸種の検査が行なわれた。もし小川変法培地が日常検査に使用されていなければ本菌株は単に塗抹陽性、培養陰性菌と考えられたかもしれない。この点から、塗抹陽性、培養陰性が持続する場合には小川培地以外の諸種の培地による菌の分離を試みらるべきであるとする。本菌株は集落の性状は定型的結核菌と区別しえず、モルモットに人型結核菌と同程度のツベルクリンアレルギーを生ぜしめ、Neutral red 反応(+)、Cord 形成(+)であつたが、Niacin test (-)、モルモット、家兎に対する毒力はきわめて弱く (INH 耐性化による弱毒化とは考えにくい)、マウスに対する毒力は強いので、結核菌のいずれの菌型とも一致せず、非定型抗酸菌の一種ではないかと考えられる。Runyon の分類の III 型 (Nonphotochromogen)^{28)~32)} に近似しているが、培養上、種々な特異な性状を有しており、特殊な菌型と考えられる。なお本菌株の諸性状は発病当初からあつたものかどうかは不明であり、このような性状の菌による感染、発病か、発病後に変異によつて特殊な性状が形成されたものかは不明である。

(3 菌株の比較検討のうへ、詳細な討論と結語は第 2 篇に述べる。)

文 献

- 1) 染谷四郎・林治：日本細菌学雑誌，7：605，昭27。
- 2) 河合恭幸 他：胸部疾患，1：361，昭32。
- 3) 占部薫：医学と生物学，44：196，昭32。
- 4) 占部薫 他：医学と生物学，42：33，昭32。
- 5) 田坂定孝 他：日本臨牀結核，17：272，昭33。
- 6) 宮本泰 他：結核，34：498，昭34。
- 7) 中村善紀 他：日本胸部臨床，19：134，昭35。

- 8) 中村善紀 他：日本胸部臨床，20：188，昭36。
- 9) Wolinsky, E., et al.: Amer. Rev. Tuberc., 75: 180, 1957.
- 10) Engbaek, H. C., et al.: Acta Tuberc. Scand., 34: 3, 1957.
- 11) 工藤禎 他：結核研究の進歩，26：181，昭34。
- 12) 長倉勇四郎 他：結核研究の進歩，26：181，昭34。
- 13) 牛尾耕一 他：日本胸部臨床，20：274，昭36。
- 14) 占部薫：福岡医大雑誌，29(12)：324，昭12。
- 15) 占部薫：日新医学，33：68，昭19。
- 16) 上坂 他：第31回日本細菌学会総会。
- 17) 植田三郎：日本臨牀結核，18：6，昭34。
- 18) 中村加代子：結核，36：132，昭36。
- 19) 中村加代子：結核，36：201，昭36。
- 20) 中村加代子：結核，36：263，昭36。
- 21) 中村加代子：結核，36：323，昭36。
- 22) Wolinsky, E., et al.: Amer. Rev. Tuberc., 75: 180, 1957.
- 23) Pollak, A., & Buhler, V. B.,: Amer. Rev. Tuberc., 71: 74, 1955.
- 24) Tarshis, M. S.: Amer. Rev. Tuberc., 78: 921, 1958.
- 25) Burrows, B.: Amer. Rev. Tuberc., 79: 543, 1959.
- 26) Keltz, H., et al.: Dis. Chest, 34: 368, 1958.
- 27) Atwell, R. J., et al.: Amer. Rev. Tuberc., 81: 888, 1960.
- 28) Timpe, A., et al.: J. Lab. & Clin. Med., 44: 202, 1954.
- 29) Tarshis, M. S., et al.: Amer. Rev. Tuberc., 65: 289, 1952.
- 30) Runyon, E. H.: Amer. Rev. Tuberc., 72: 868, 1955.
- 31) Cohn, M. L.: Amer. Rev. Tuberc., 72: 693, 1955.
- 32) 岡捨己 他：結核，36：543，昭36。

The Bacteriological Properties and Animal Pathogenicity of Three Strains of Unclassified Acid-Fast Bacilli Isolated from the Sputum of Patients with Pulmonary Disease (Report I: Kawamura Strain)

Introduction

In recent years in Japan there has also been an increase in the number of reports of the isolation from sputum and resected materials of

unclassified acid-fast bacilli. In the past three years three strains of unclassified acid-fast bacilli were isolated from the sputum of patients with pulmonary disease in Tokyo National Chest Hospital.

Such organisms are often difficult to be distinguished from tubercle bacilli and other acid-fast bacteria. For the identification of these organisms, various biological and biochemical

tests and animal experiments were used in this study. In this report, the bacteriological properties and animal pathogenicity of Kawamura strain are described.

Materials and Methods

The following strains were tested: 1) Strain Kawamura—isolated 29 times in the past three years from the sputum of a patient with pulmonary disease and treated for pulmonary tuberculosis before admitted to this hospital. 2) Strain Brownell—unclassified mycobacteria isolated in U. S. A. 3) Strain KH₁ virulent human tubercle bacilli 4) Strain H37Ra—avirulent human tubercle bacilli 5) Strain Ravenel—bovine tubercle bacilli 6) *M. Smegmatis*.

The following tests were performed: 1) Cord formation, 2) Preis test (Kochfestigkeit), 3) neutral red test, 4) niacin test, 5) catalase and peroxidase test, 6) drug resistance test, 7) and cultures in various medium.

Animal experiments: Mice (dd strain) were inoculated intravenously with 0.1 and 1 mg of 2 weeks cultures in Ogawa's medium or modified Ogawa's medium, and sacrificed 2, 4, 6 and 10 weeks after infection. Guinea pigs were inoculated subcutaneously with 1 and 5 mg of 2 weeks cultures in modified Ogawa's medium, and rabbits were inoculated with 10 mg of the same cultures. All guinea pigs and rabbits were sacrificed 8 weeks after infection. On the guinea pigs, skin-sensitivity tests were performed with 0.1 cc of 1:100 dilution of old tuberculin.

Results

Growth of Kawamura strain was very poor in Ogawa's medium and other various media, but

very good in modified Ogawa's medium with pyruvate and soluble starch (see Table 1). Growth of this strain in a two layer medium consisting of Ogawa's medium and semi-solid serum agar medium was characteristic (see Fig. 1). Bacteriological properties of Kawamura strain is shown in Table 2. Colonies of this strain was consistently rough and greyish white. This strain was resistant to SM of 5 mcg per cc., INH of 2 mcg per cc, and PAS of 1 mcg per cc., and this strain gave positive results with neutral red, cord formation, catalase and peroxidase tests. It did not disperse in saline solution, and appears very much like human tubercle bacilli in these respects. However, on the other hand, this strain gave negative result with niacin test. Its pathogenicity was strong for mice, but very weak for guinea pigs and rabbits (see Table 3, 4, 7 and 8). On the lung of mice infected with Kawamura strain, multiple gross lesions were observed but in the guinea pigs and rabbits only a local abscess was found. Tuberculin reaction on the guinea pigs was strongly positive 4 weeks after infection. (see Table 5)

Conclusion

From the results mentioned above, it can be supposed that Kawamura strain is an unclassified acid-fast bacillus. According to Ruvyon's classification, this strain is similar to the strain of Group III (nonphotochromogen), but is different from the strains previously reported by many investigators in respect of growth rate in various media.