

「Salicylate 培地」および「NH<sub>2</sub>OH 培地」による非定型  
抗酸菌の Screening (土壌抗酸菌による不全型感染  
が示唆された 2 例について)

東 村 道 雄

国立療養所中部病院 (院長勝沼六郎)

稲 垣 博 一

名古屋大学医学部日比野内科教室 (教授 日比野 進)

受付 昭和 42 年 7 月 13 日

SALICYLATE MEDIUM AND HYDROXYLAMINE MEDIUM AS AIDS FOR  
DETECTION OF ATYPICAL MYCOBACTERIA IN CLINICAL  
SPECIMENS (TWO CASES IN WHICH ABORTIVE INFECTION  
BY SOIL MYCOBACTERIA WAS SUGGESTED)\*

Michio TSUKAMURA and Hirokazu INAGAKI

(Received for publication July 13, 1967)

It is not difficult to detect scotochromogenic mycobacteria in clinical specimens by cultivations, but it is not easy to detect other atypical mycobacteria. It is desired to find a simple method for screening of the mycobacteria other than *M. tuberculosis* and *M. bovis*. The senior author presented previously the salicylate medium and the hydroxylamine (NH<sub>2</sub>OH · HCl) medium as useful aids for differentiation of *M. tuberculosis* and *M. bovis* (Tsukamura, M.: Amer. Rev. Resp. Dis., 86: 81, 1962; Tsukamura, M.: J. Bacteriol., 90: 556, 1965). In the present study, we used these media for the detection of atypical mycobacteria in clinical specimens and obtained good results.

The media were used incorporated in series of medium for the drug resistance tests. The mycobacteria other than tubercle bacilli (*M. tuberculosis* and *M. bovis*) were detected on these media as organisms showing growth similar to growth on control medium.

The results are shown in Table 1. We could find five cases excreting atypical mycobacteria in their sputum (Mori was found in January 1967). Patient Mori and patient Usui excreted only once, patient Miyaji and patient Tsutsui four times and patient Yoshida six times.

These strains isolated showed characters as shown in Table 2. Strains Miyaji, Usui and Mori were identified as *M. terrae*, strain Tsutsui as *M. novum*, and strain Yoshida as *M. fortuitum* subsp. *runyonii*. Since strain Yoshida was described previously (Tsukamura, M., Tsukamura, S. & Itasaka, Y.: Kekkaku, 42: 213, 1967), the present study deals with strains Miyaji and Tsutsui. Mode of excretion, form of disease and chemotherapy are shown in Table 3.

These cases, Miyaji and Tsutsui, were suggested to have abortive infection with *M. terrae* or *M. novum*. The reason for this suggestion is as follows: (1) Aoki et al. (Aoki, M., Ōsato,

\*From the National Sanatorium, Chubu Chest Hospital, Obu, Chita-gun, Aichi-ken, Japan.

T. & Kudo, S.: Jap. J. Chest Dis., 25 : 814, 1966) suggested from their statistical observations that excretion of more than three times of atypical mycobacteria from the same patient is probably due to something more than simple contamination. Patients Miyaji and Tsutsui excreted four times *M. terrae* and *M. novum*, respectively; (2) These cases excreted only *M. terrae* or *M. novum*, tubercle bacilli being not observed after January 1966; (3) The cases showed a stronger reaction to nonphotochromogen Gamoh- $\pi$  than did to H<sub>37</sub>Rv- $\pi$  (The result supports an infection with strain Miyaji, as *M. terrae* forms the *M. avium*-group with *M. intracellulare* (pathogenic nonphotochromogen); (4) These cases showed a good general condition and had old non-cavitary lesions with bronchiectasia.

Appendix. Among isolates obtained in 1962, we found a strain (Inoue) of *M. parafortuitum*. This organism is a soil Mycobacterium and has first been found in sputum. The characters of this strain are shown in Table 2.

An identification table which we use preliminarily for unknown mycobacteria is shown as an appendix table.

### Conclusion

The salicylate medium and the NH<sub>2</sub>OH medium are useful for screening of atypical mycobacteria from clinical specimens.

Three cases who had been believed to be excreting tubercle bacilli proved to be excreting *M. fortuitum*, *M. terrae* or *M. novum* by use of these media.

It was suggested that *M. terrae* and *M. novum* might cause "abrotive infection" at respiratory tract.

### 緒 言

既報のわれわれの研究によれば、わが国で分離された pathogenic scotochromogens は *Mycobacterium scrofulaceum* (*M. aquae*) に属する<sup>1)~4)</sup>。すなわちわれわれは *M. scrofulaceum* (*M. aquae*) を a new species と認めたい。最近、同じ意見が Bel<sup>5)</sup> によつても発表された。

一方 pathogenic nonphotochromogens すなわち "Battey bacilli" に関しても、最近 Runyon<sup>6)</sup> がこれを *Mycobacterium intracellulare* なる species として認めることを提案している。われわれはこの命名にはなお問題があると思ふが<sup>7)8)</sup>、便宜的な意味でこの命名を用いることに反対はない。いま、かりにこの名称を便宜的に採用するとすれば、わが国分離の "Battey bacilli" と米国分離の "Battey bacilli" の間に差は認められないので<sup>7)8)</sup>、わが国の "Battey bacilli" も一応 *M. intracellulare* に含まれると思われる。

以上の所見からすると、いままでわが国で分離された slow-growing, pathogenic mycobacteria (ただし *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. kansasii* を除く) は、ことごとく *M. scrofulaceum* (*M. aquae*) または *M. intracellulare* であるといふことができる。

ところがわれわれが呼吸器疾病を有する患者の喀痰に見出される抗酸菌を精査する間に、上記の *M. scrofula-*

*ceum* (*M. aquae*) または *M. intracellulare* のいずれにも属さない菌株が発見された。これらの菌株が病原性を発揮したという確証はまだ得られないにしても、たんなる外界からの迷入菌とも考えられぬ点があるので、本報ではこれら菌株の出現状況を報告したい。またわれわれは先に東村が発表した「salicylate 培地」<sup>9)</sup> および「NH<sub>2</sub>OH 培地」<sup>10)</sup> を臨床材料に応用し、臨床材料から「非定型抗酸菌」を見出すのに有用な方法と考えるにいたつたのでこれについても報告する。

### 実験方法

*Mycobacterium tuberculosis* および *M. bovis* 以外の抗酸菌を識別するのに有用な方法として、東村が発表した salicylate 培地<sup>9)11)</sup> および NH<sub>2</sub>OH 培地<sup>10)</sup> を 1966 年 8 月 (一部の患者には 7 月) から routine works の一つとして使用した。すなわち salicylate (500 mcg/ml) 培地および NH<sub>2</sub>OH (125 mcg/ml) 培地を耐性検査用培地とともに一組として使用した。

もともと salicylate 培地は sodium salicylate 0.5 mg/ml および 1.0 mg/ml を含む 1% 小川培地で、control の 1% 小川培地とともに 3 本一組で使用するものであつたが、今回は 0.5 mg/ml salicylate 含有 1% 小川培地のみを用いた。control は耐性検査用の control 培地を共用した。salicylate 培地は *M. tuberculosis* お

Table 1.  $\text{NH}_2\text{OH}$  Medium and Salicylate Medium as Aids for Detection of Atypical Mycobacteria in Clinical Specimens

	Number of cultures that showed the positive growth on:	
	$\text{NH}_2\text{OH}$ medium (0.125 mg/ml)	Salicylate medium (0.5 mg/ml)
August 1966		0/44
September 1966		3/76 (*1)
October 1966	2/101 (*1)	4/101 (*5)
November 1966	2/78 (*2)	2/78 (*6)
December 1966	2/77 (*3)	2/77 (*7)

Sputum specimens were added with an equal volume of 5% KOH solution and dissolved by allowing to stand at 37°C for 30 minutes. The alkalinized sputum was inoculated to the  $\text{NH}_2\text{OH}$  medium and the salicylate medium with a spiral loop was (0.02 ml) and incubated at 37°C for 6 weeks. The same growth as seen on control medium without agent was regarded as the positive growth. Even if some growth occurred on the test media, it was not read as positive, when it was much less than the growth on control medium.

Identification by further investigations: T=*M. tuberculosis*; N=Nonphotochromogen; F=*M. fortuitum*.

(\*1) Yoshida (F) and Usui (N). (\*2) Yoshida (F) and Tsutsui (N). (\*3) Yoshida (F) and Tsutsui (N). (\*4) Yoshida (F), Teranishi (T) and Kojima (T). (\*5) Yoshida (F), Usui (N), Miyaji (N) and Fukaya (T). (\*6) Yoshida (F) and Tsutsui (N). (\*7) Yoshida (F) and Tsutsui (N).

よび *M. bovis* の発育を許さないが、他の抗酸菌は発育する。0.5 mg/ml salicylate 培地には *M. tuberculosis* および *M. bovis* の一部が発育することがあるが、対照より著明に発育量が少ないので区別できる。

$\text{NH}_2\text{OH}$  培地は  $\text{NH}_2\text{OH-HCl}$  62.5 mcg/ml, 125mcg/ml, 250 mcg/ml および 500 mcg/ml を含む4種であるが、本報の研究では 125 mcg/ml  $\text{NH}_2\text{OH}$  培地のみを使用した。この培地では *M. kansasii* の一部およびごく少数のその他の抗酸菌株が発育を阻止されることがあるが、*M. tuberculosis* および *M. bovis* 以外の抗酸菌は発育し、*M. tuberculosis* および *M. bovis* は発育しない。したがってこの培地に発育する菌は確実に *M. tuberculosis* および *M. bovis* 以外の抗酸菌である。

以上の salicylate 培地または  $\text{NH}_2\text{OH}$  培地に発育した菌株は、分離保存して既報<sup>12)</sup>の方法によつて検査した。このほかに“*M. avium*-group”内の区別に有用な「glutamate-N 源存在下での炭水化物(glucose, fructose, sucrose, acetate, succinate, malate, pyruvate, malonate, fumarate)の利用<sup>13)</sup>をも検査した。

### 実験成績

#### Salicylate 培地および $\text{NH}_2\text{OH}$ 培地による非定型抗酸菌の screening

国立療養所中部病院検査室では、これまで nonphotochromogens を発見したことはなかつたが、salicylate 培地および  $\text{NH}_2\text{OH}$  培地に control とほぼ同等に発育する菌株を pick up することにより、次の5例の患者から非定型抗酸菌の咯出を認めることができた。screening の状況は表1のとおりで、こうして screening された菌株はわれわれの研究室の「同定スケジュール」によつて同定した。われわれの使用する primary grouping 用の table を参考に添付する (Appendix Table)。

非定型抗酸菌の排泄を認めた症例。(1) 吉田(女) (group IV), (2) 白井(女) (group III), (3) 宮地(男) (group III), (4) 筒井(男) (group III), (5) 森(女) (group III) (ただし森株は1967年1月に発見)。

以上の中で吉田株については既報<sup>14)</sup>したので、本報では他の4株について記載する。このほかに過去に sporadic isolates として分離された stotochromogens (検査室技術者の判定) を精査する間に発見された *M. parafortuitum* (井上株) についても記載する。*M. parafortuitum* が sporadic isolate として咯痰中に見出された報告はないからである。

すなわち「salicylate 培地」および「 $\text{NH}_2\text{OH}$  培地」の使用により、従来困難であつた nonphotochromogens の発見が容易となつたことを強調したい。

#### Sporadic isolate-nonphotochromogens の細菌学的性状

「salicylate 培地」および「 $\text{NH}_2\text{OH}$  培地」によつて発見された筒井株、宮地株、森株、白井株はいずれも sporadic isolates に属するもので、排泄回数は、筒井株と宮地株が4回、森株と白井株とが1回である。これら4例の患者は1966年には1回も結核菌を排出していない。排出コロニー数は1~20コロニーである(森株1回1コロニー、白井株1回3コロニー、筒井株および宮地株は表3参照)。

井上株は1962年5月1回の排出で、排泄コロニー数は、25コロニーであつた。

以上の菌株の細菌学的性状は表2に示すとおりで、筒井株は *M. novum*<sup>15)</sup>、宮地、森、白井株は *M. terrae*<sup>16)~19)</sup> と同定された。いずれも pathogenic nonphotochromogens として今までに報告された *M. intracellulare* の範疇には入らないものである。

なお *M. terrae* については、Wayne<sup>20)</sup> もわれわれと

Table 2. Properties of Sporadic

	Colonial morphology (*1)	Colonial pigmentation	Photochromogenicity	Growth rate (*2)	Nitrate reduction	3-day arylsulfatase	2-week arylsulfatase	Salicylate degradation	PAS degradation	Growth on PAS medium (0.2%)	Growth on NH <sub>4</sub> OH medium				Growth on 0.1% picric acid		Growth on 0.2% picric acid		Amidases (*9)	
											62.5 µg/ml	125 µg/ml	250 µg/ml	500 µg/ml	Growth at 28°C	Growth at 37°C	Growth at 45°C	Growth at 52°C		
<i>M. novum</i> Tsutsui-1	S	-	-	s	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. novum</i> Tsutsui-2	S	-	-	s	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>M. terrae</i> Mori	S	-	-	s	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	N P
<i>M. terrae</i> Miyaji-1	S	-	-	s	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>M. terrae</i> Miyaji-2	S	-	-	s	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>M. terrae</i> Usui (#)	S	-	-	s	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	U
<i>M. parafortuitum</i> Inoue	S	-	-	r	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	±	-	U N P

(#) *M. terrae* var. *ureolyticum*

@ Acid formed from glucose, mannose, xylose, rhamnose, mannitol and sorbitol.

(\*1) Colonial morphology. S=Smooth R=Rough

(\*2) Growth rate. s=slow r=rapid

(\*3) Amidases according to the method of Bönicke. Incubation time (37°C): 16 hours. A=acetamidase B=benzamidase U=urease I=isonicotinamidase N=nicotinamidase P=pyrazinamidase S=salicylamidase All=allantoinase S=succinamidase M=malonamidase

(\*4) Utilization of organic acids as sole carbon source for growth. A=acetate C=citrate S=succinate M=malate P=pyruvate B=benzoate Mo=malonate F=fumarate

(\*5) Utilization of carbohydrates (other than organic acids) as sole carbon source for growth. G=glucose F=fructose S=sucrose M=mannose G=galactose A=arabinose X=xylose Rh=rhamnose T=trehalose I=

ほとんど同時に *M. terrae* を新菌種として報告している。Wayne の *M. terrae* とわれわれの *M. terrae* とが同一種かどうかはまだ決定できないが、われわれの考えでは同一であるごとく思われる。なおこの命名の優先権については現在問題がある。はじめ東村<sup>16)</sup>はこの菌を *M. nonchromogenicum* と呼んだが、後にこれを *M. terrae* と変更した<sup>17)</sup>。この変更が認められないものであれば、この菌は *M. nonchromogenicum* と呼ぶべきであろうが、いまのところ *M. terrae* と呼んでおく。

東村<sup>16)</sup>~<sup>19)</sup>は先に *M. terrae* の amidase pattern とし、Bönicke<sup>21)</sup> の 10 種の amidases がすべて陰性と記載したが、菌量を増加したり、培養時間を延長すると、一部の菌株は nicotinamidase および pyrazinamidase が陽性となった。ここにあげた菌株は比較的この 2 つの amidases が強く、既述の方法でも陽性となった。

白井株は urease 陽性であるが、他の性状は *M. terrae* と一致するので、一応 *M. terrae* と判定した。*M. terrae* var. *ureolyticum* という命名が適当と思われる。

宮地株は *M. terrae* として問題ないと思われる。Group III nonphotochromogens の中で、*M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare* などすべて硝酸還元

陰性であるが、*M. terrae* の中には陽性のものがある。宮地株も硝酸還元陽性の点で特徴がある。

井上株は *M. parafortuitum* と同定されたが、この菌種が人の喀痰の中に発見されたのは、はじめてであるのでここに記載する。われわれは 1962 年から喀痰中に sporadically に出現する scotochromogens を集めてきたが、今まで得られたものは約 80 株で、これらはすべて *M. scrofulaceum* と同定された<sup>4)</sup>。この中に 1 例だけ rapid grower があり、これが井上株で今回 *M. parafortuitum* と同定した (表 2 の成績と文献 22 の *M. parafortuitum* の記載参照)。井上株は 1962 年 5 月に 25 集落として喀痰から分離された。

**Mycobacterium terrae (*M. nonchromogenicum*) および *Mycobacterium novum* による不全型感染の可能性**

本報で示した sporadic isolates の中で、白井株と森株は 1 回の排泄のみなので、いまのところ問題にならない。しかし筒井株と宮地株とは少数集落ずつではあるが、4 回の排泄が認められた。この両例の排菌状態と病歴の概要を表 3 に示した。

この 2 例は日比野<sup>23)</sup>、山本など<sup>24)</sup>のいわゆる非定型抗

Isolate-nonphotochromogenic Mycobacteria

Utilization of organic acids as sole carbon source (*1)	Utilization of carbohydrates as sole carbon source for growth (*5)	Acid from carbohydrates (*6)	Utilization of N-compounds as simultaneous N and C source (*7)	Utilization of N-compounds as sole nitrogen source for growth (*8)	Niacin	Growth on TCH medium		Growth on salicylate medium		Utilization of carbohydrates in the presence of glutamate nitrogen (*9)
						0.05%	0.1%	0.05%	0.1%	
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
A P	-	-	-	GSMA U NSuNO <sub>3</sub>	-	+	+	-	-	-
A P	Pol	-	-	GS A U	-	+	+	+	-	-
A	Pol	-	-	G A	-	+	+	+	4	8
A	Pol	-	-	G A I SuNO <sub>3</sub>	-	+	+	+	4	8
ACSMFP	GFMXRhMtSoEPolProp 14 23 @	GtGcT	GSMABUPINSuNO <sub>3</sub>	-	+	+	+	+	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

inositol Mt=mannitol So=sorbitol E=ethanol Pol=propanol prop=propylene glycol 13=1, 3-butylene glycol 14=1,4-butylene glycol 23=2,3-butylene glycol

(\*6) Acid formation from carbohydrates. G=glucose M=mannose G=galactose A=arabinose X=xylose Rh=rhamnose T=trehalose I=inositol Mt=mannitol So=sorbitol

(\*7) Utilization of nitrogen compounds as simultaneous nitrogen and carbon source for growth. Gt=glutamate S=serine Gc=glucosamine A=acetamide B=benzamide M=monoethanolamine T=trimethylene diamine

(\*8) Utilization of nitrogen compounds as sole nitrogen source for growth. G=glutamate S=serine M=methionine A=acetamide B=benzamide U=urea P=pyrazinamide I=isonicotinamide N=nicotinamide Su=succinamide NO<sub>3</sub>: nitrate NO<sub>2</sub>: nitrite

(\*9) Utilization of carbohydrates in the presence of glutamate nitrogen. 1=glucose 2=fructose 3=sucrose 4=acetate 5=citrate 6=succinate 7=malate 8=pyruvate 9=malonate 10=fumarate

酸菌感染の範疇には入らないが、かといつてたんなる迷入とも考えられない。その理由として次の点があげられる。

(1) 先に青木など<sup>25)</sup>は非定型抗酸菌の出現状況を統計的に考察した結果、同一患者から3回以上(同一菌と考えられる)非定型抗酸菌が排泄された場合は、たんなる環境よりの迷入以上のものがあることを示唆している。われわれの筒井例および宮地例では4回の排泄が認められている。

(2) 両例とも病歴が長く、萎縮病巣と気管支拡張症を有している。長い病歴の前半または大部分はおそらくは結核菌に由来した病変であつたろう。しかしわれわれが系統的に観察を始めた1966年7月以降は、抗酸菌の排泄がみられたのは4回で(1967年4月まで)、これら抗酸菌は *M. novum* または *M. terrae* と考えるべきものであつた。すなわち結核菌の排出は証明されない。

(3) 消極的な材料ではあるが、ツ反応の結果は人型結核菌よりも *M. intracellulare* に近縁の菌株に感染していることを示唆している。Old tuberculin 2,000 倍液 0.1 ml に相当のπ(π 0.15 mcg/0.1 ml を 0.1 ml) を皮内注射して 48 時間後に判定した結果では、2 例とも

「nonphoto 菌生 π」に対する反応のほうが「H<sub>37</sub>Rv π」に対する反応より強い。すなわち「nonphoto 菌生 π」に対して、筒井は硬結 (15×12 mm)、発赤 (35×30 mm)、宮地は硬結 (15×15 mm)、発赤 (30×30 mm) を示したが、「H<sub>37</sub>Rv π」に対しては、筒井は硬結なし、発赤 (15×23 mm)、宮地は硬結なし、発赤 (5×5 mm) の反応を示した。(1967年6月施行)

(4) 両例の特徴として、上述のごとく拡張気管支を有する陳旧性病変を示し、一般状態は良好である。両例とも1964~66年には年2~3回の微量排菌を示している(この排菌が人型結核菌であつたか、非定型抗酸菌であつたかは現在知る由がない)。注目されるのは、表3に示すごとく両例とも ethambutol 以外の抗結核剤に耐性を示すにもかかわらず、経過は良好である。赤沈1時間値も最近3年来、宮地は平均6mm、筒井は5mmである。

以上の所見から、宮地、筒井の2例は、たんなる土壌菌の迷入ではなく、おそらくは結核によつて惹起された気管支拡張性の陳旧病巣に、*M. terrae* または *M. novum* が不顕性感染を惹起したものと考へたい。

Table 3. Two Cases Excreting Sporadically Nonphotochromogenic Mycobacteria

Case	Tsutsui	Miyaji
Sex and years (in 1966)	Male ; 52 years old	Male ; 38 years old
Onset of pulmonary disease	1949	1948
Form of pulmonary disease	Nodular-indurative process of left upper lobe	Resection of right upper lobe in 1957 ; bronchorrhoe
Chemotherapy (from July 1966 to March 1967)	Isoniazid-sulfisoxazole	Isoniazid-ethionamide-sulfisoxazole (until January 1967) ; ethambutol-ethionamide(February 1967); isoniazid-ethionamide(March 1967)
Excretion of tubercle bacilli (from January 1966 to March 1967)	Negative	Negative
Isolation of mycobacteria other than tubercle bacilli (number of colonies per medium)	October 1966 (1) November 1966 (6) December 1966 (4) March 1967 (1)	July 1966 (4) September 1966 (12) September 1966 (bis) (2) February 1967 (20)
Identification	<i>Mycobacterium novum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>
Resistance to antituberculous drugs (Löwenstein-Jensen medium) : (*)	SM (5 µg/ml) + INH (0.1 µg/ml) + PAS (1 µg/ml) + KM (25 µg/ml) + TH (25 µg/ml) + CS (25 µg/ml) + EB (2 µg/ml) -	SM (5 µg/ml) + INH (0.1 µg/ml) + PAS (1 µg/ml) + KM (25 µg/ml) + TH (25 µg/ml) + CS (25 µg/ml) + EB (2 µg/ml) -

(\*) SM=dihydrostreptomycin sulfate, INH=isoniazid, PAS=sodium p-aminosalicylate, KM=kanamycin sulfate, TH=ethionamide, CS=cycloserine, EB=ethambutol

Table (Supplement). Preliminary differentiation Table for Mycobacteria

	Growth at				0.2% PAS	NH <sub>2</sub> OH (µg/ml)			Sauton agar	0.1% salicylate Sauton agar	Picric acid Sauton agar		Arylsulphatase		Niacin	Nitrate reduction	TCH medium	Amidases
	28°	37°	45°	52°		125	250	500			0.1%	0.2%	3-day	2-week				
<i>M. tuberculosis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	U (N)	
<i>M. bovis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	U	
<i>M. microti</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	U	
<i>M. novum</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
<i>M. kansasii</i>	+	+	-	-	-	±	-	+	±	-	-	-	+	-	+	+	U N	
<i>M. marinum</i>	+	±	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	U All	
<i>M. avium</i>	+	+	±	-	±	+	±	+	±	-	-	-	-	-	-	+	(N P)	
<i>M. terrae</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	±	-	-	-	+	-	-	+	-	
<i>M. intracellulare</i>	+	+	±	-	±	+	±	+	±	-	-	-	±	-	-	+	(N P)	
<i>M. scrofulaceum (aquae)</i>	+	+	-	-	±	+	±	+	±	-	-	-	+	-	-	+	(U)	
<i>M. fortuitum</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	A U (N P) All	
<i>M. smegmatis</i>	+	+	+	-	+	±	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	A B U I N P Su	
<i>M. phlei</i>	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	U N P	

0.2% PAS=Ogawa egg medium containing 0.2% sodium p-aminosalicylate (Tsukamura, M., 1961).

NH<sub>2</sub>OH=Ogawa egg medium containing hydroxylamine hydrochloride (Tsukamura, M., 1965 a).

0.1% salicylate Sauton agar=Sauton agar containing 0.1% sodium salicylate (Tsukamura, M., 1965 b)

\* Blackening of medium.

Picric acid Sauton agar=Sauton agar containing picric acid (Tsukamura, M., 1965 c).

Arylsulphatase=(Kubica & Vestal, 1961).

Niacin=(Konno, 1956 ; Konno, 1963).

Nitrate reduction=(Virtanen, 1960).

TCH medium=Ogawa egg medium containing 10 µg/ml thiophene-2-carbonyl acid hydrazide (Bönicke, 1958).

Amidases=(Bönicke, 1962). A=acetamidase B=benzamidase U=urease I=isonicotinamidase N=nicotinamidase P=pyrazinamidase Sa=salicylamidase All=allantoinase Su=succinamidase Mo=malonamidase

## 考 察

非定型抗酸菌を臨床材料から発見する方法として、まず考えられるのは分離される全菌株について、今野の niacin test を施行することである。しかしこの方法は、むしろやすすぐ行なうは困難で、おそらく大部分の臨床検査室では実施されず、集落の肉眼的所見や耐性検査の成績から、非定型抗酸菌が疑われる菌株に対してのみ実施されるのが実状ではあるまいか。したがつてもつと簡単な方法で、非定型抗酸菌を臨床材料から screening する方法が望ましい。本報で示した「salicylate 培地」および「NH<sub>2</sub>OH 培地」は、この目的に適うものと思われる。これらの培地に control とほぼ同等に発育を示す菌株を pick up して、精密な検査にまわせばよい。われわれの研究室で「salicylate 培地」および「NH<sub>2</sub>OH 培地」発育陽性菌に適用する「第一次同定表」を参考までに「Appendix Table」として掲げる。

これまで喀痰中に sporadically に見出される non-photochromogens としては、“Radish bacilli”<sup>26)</sup>、“J” group<sup>27)</sup> および “V” group<sup>28), 29)</sup> が報告されているが、最近 Wayne<sup>20)</sup> によつて “R” に *M. terrae*、“J” に *M. gastri* なる名が与えられた。Wayne の *M. terrae* は、先に東村<sup>16)~19)</sup> が土壌抗酸菌の一種に命名した *M. terrae* と偶然にも一致した。これらの sporadic isolates は従来病原性をもたぬものと考えられていたが、今回われわれは喀痰中から4回排泄された nonphotochromogens を土壌抗酸菌 *M. terrae* および *M. novum* と同定するとともに、これらがたんなる迷入ではなく、不全型感染あるいは不顕性感染であることを示唆した。これらの症例では抗結核剤に耐性の微量排菌があつても一般状態は良好である。しかし患者自身は微量排菌という事実を悩んでいる。とくにこれまで医師も患者もこの微量排菌を人型結核菌と考えていただけに問題は深刻であつた。しかしながら微量排菌が他への感染の危険性の少ない土壌抗酸菌と分かれば問題は違つてくる。これらの患者では一般状態が良いので作業療法施設に転出することも考えられるであろう。これとともに微量排菌を止める方法を考えねばならぬが、その方法としては表3の耐性検査の結果から、まず ethambutol の使用が考えられるであろう。これらの問題は将来にまつとして、われわれは従来結核菌の微量排菌と考えられていた症例の一部に非定型抗酸菌が存在することを指摘したい。われわれはこれらの症例を「salicylate 培地」および「NH<sub>2</sub>OH 培地」の臨床検査への適用により発見できた。*M. fortuitum* による吉田例<sup>14)</sup>、*M. terrae* の宮地例、*M. novum* の筒井例がそれである。

われわれの環境とくに土壌には多数の抗酸菌が常在している。*M. fortuitum*、*M. terrae*、*M. novum*、*M.*

*scrofulaceum*、*M. parafortuitum* (出現頻度の順)がそれである。これらの中で *M. fortuitum* と *M. scrofulaceum* は人体への感染の可能性がすでに確認されているが、*M. terrae* および *M. novum* も不顕性感染を起こす可能性があると思われる(ただしその意義は前二者より少ないであろう)。しかし“Battey bacilli”として知られる *M. intracellulare* に一致する抗酸菌をわれわれは土壌に発見したことがない。*M. intracellulare* の起原は今後の大きい課題であろう。

## 結 論

(1) 「Salicylate 培地」および「NH<sub>2</sub>OH 培地」は、臨床材料から結核菌 (*M. tuberculosis* および *M. bovis*) 以外の抗酸菌を見出す手段として有用である。

(2) 患者喀痰から *M. terrae*、*M. novum* および *M. parafortuitum* を検出した。宮地例および筒井例はおのおの *M. terrae* または *M. novum* を4回排泄し、不全型感染または不顕性感染である可能性が示唆された。

## 文 献

- 1) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，41：401，昭41。
- 2) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，42：15，昭42。
- 3) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，42：219，昭42。
- 4) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，43：1，昭43。
- 5) Bel, F.: Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne, 1967.
- 6) Runyon, E. H.: Amer. Rev. Resp. Dis., 95：861, 1967.
- 7) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，42：49，昭42。
- 8) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，42：105，昭42。
- 9) Tsukamura, M.: Amer. Rev. Resp. Dis., 86：81, 1962.
- 10) Tsukamura, M.: J. Bacteriol., 90：556, 1965.
- 11) Tomasovic, A. A.: Amer. Rev. Resp. Dis., 89：592, 1964.
- 12) 東村道雄・東村純雄・水野松司・外山春雄：結核，41：395，昭41。
- 13) 東村道雄：医学と生物学，72：342，昭41。
- 14) 東村道雄・東村純雄・坂坂安修：結核，42：213，昭42。
- 15) 東村道雄：医学と生物学，73：244，昭41。
- 16) 東村道雄：医学と生物学，71：110，昭40。
- 17) 東村道雄：医学と生物学，72：75，昭41。
- 18) 東村道雄：医学と生物学，72：292，昭41。
- 19) Tsukamura, M.: J. gen. Microbiol., 45：253, 1966.
- 20) Wayne, L. G.: Amer. Rev. Resp. Dis., 93：919, 1966.

- 21) Bönicke, R.: Bull. Union Internat. Tuberc., 32:13, 1962.
- 22) Tsukamura, M.: J. gen. Microbiol., 42:7, 1966.
- 23) 日比野進: 日本医事新報, No. 2086:29, 昭 39.
- 24) 山本正彦・小倉幸夫・須藤憲三・永坂三夫・松本光雄・神間博・山藤光彦・古沢久喜: 日本胸部臨床, 21:539, 昭 37.
- 25) 青木正和・大里敏雄・工藤祐是: 日本胸部臨床, 25:814, 昭 41.
- 26) Richmond, L. & Cummings, M.M.: Amer. Rev. Tuberc., 62:632, 1950.
- 27) Wayne, L.G., Doubek, J.R. & Russel, R.I.: Amer. Rev. Resp. Dis., 90:588, 1964.
- 28) Kubica, G.P., Jones, W.D., Jr., Abbott, V.D., Beam, R.E., Kilburn, J.O. & Cater, J.C., Jr.: Amer. Rev. Resp. Dis., 94:400, 1966.
- 29) Jones, W.D., Jr., Abott, V.D., Vestal, A.L. & Kubica, G.P.: Amer. Rev. Resp. Dis., 94:790, 1966.