

## 抗酸菌の分離培養法の改良

第6報 結核菌と非定型抗酸菌の混在している菌株  
よりの両菌の分離の経験

小 川 辰 次

北 里 研 究 所

西村セツ子・斉藤嘉鶴・尾谷ミナ子

北里研究所付属病院

受付 昭和44年1月27日

IMPROVEMENT OF CULTURE METHOD FOR PRIMARY  
ISOLATION OF MYCOBACTERIA\*

VI. Separation of Primary Cultures of Minowa Strain into  
Tubercle Bacilli and Atypical Mycobacteria

Tatsuji OGAWA, Setsuko NISHIMURA, Kazuru SAITO and Minako OTANI

(Received for publication January 27, 1969)

A certain Minowa, a 30-year-old company employee, was admitted to our hospital with diagnosis of the relapse of pulmonary tuberculosis in October 1965. Acid-fast organisms were isolated twice from his sputum; one rough colony was obtained in the above month which proved niacin-positive and smooth orange-colored fast-growing mycobacteria, 33 colonies per tube, were isolated in March of the next year.

Drug sensitivity test shown in the Table 1 revealed that some culture of the latter strain contained a few rough colonies among smooth ones. All of the six cultures, therefore, were submitted to examination for purity. On preliminary subcultivation (Table 2) it was found that out of six cultures at 37°C two (#5 and #6) contained rough colonies and four (#1, #4, #5 and #6) were niacin-positive. Further, the method described in the preceding paper was applied to these cultures: a 1mg/ml aqueous suspension was prepared from each of the growth of cultures. From these suspensions serial 10-fold dilutions were made up using distilled water, 4% NaOH solution, and 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution, respectively. Each aqueous dilution was inoculated into four 1% Ogawa egg slants two of which were incubated at 37°C and the other two at 22°C. The alkaline and acidic dilutions were inoculated into 3% Ogawa egg slants and 3% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> egg slants, respectively. They were incubated at 37°C. After one-month incubation the resulting growth was read on the assumptions that rough colony was tubercle bacilli and smooth orange-colored one as atypical mycobacteria. The number of colonies per tube of the two types organisms was recorded in Table 3. It will be seen that all substrains except #5 produced a few rough colonies in slants inoculated with the aqueous or alkaline dilution. On the other hand, smooth pigmented colonies were obtained on most of the slants at either temperature.

\* From Kitasato Institute and Kitasato Institute Hospital, Shiba Shirogane Sanko-cho, Minato-ku, Tokyo 108 Japan.

For identification colonial subcultures on Ogawa egg medium were made of these rough and smooth colonies differentiated as above. The growth characteristics and niacin test shown in Table 4 indicate that all subcultures of the rough colony except one are the pure culture of the tubercle bacilli and all of the smooth colony are the same atypical mycobacteria as read before. One subculture which was derived from the aqueous suspension of the rough colonies of strain Minowa #6 was found to be a mixed population of tubercle bacilli and atypical mycobacteria.

Drug sensitivity test was carried out on these purified cultures. Table 5 shows the result of the test being compared with that of the test on the tubercle bacilli which were isolated from the lung lesion of the patient. It will be concluded that the method applied above is useful for such cases.

1. 緒 言

我々は前報<sup>1)</sup>で結核菌と非定型抗酸菌の混入時の推定および分離方法の基礎実験を報告した。このたび、肺結核症患者の喀痰より分離した非定型抗酸菌の耐性検査を行なったところ、偶然にも結核菌の混在が推定されたので、前報の方法に準じて両菌の分離を行ない、結核菌と非定型抗酸菌を分離することができたので、報告する次第である。

2. 実験方法と実験成績

① 症例の臨床経過の概略

〔症例〕 █████ 8 30歳、会社員

昭和30年頃に肺結核症を発病、同40年4月、左肺にシェーブを発見、同年10月当院に入院した。

XPは結核病学会の分類では III<sub>2</sub> である。SM, PAS, INHの投与を受け、41年6月左肺 S<sub>1+2</sub> の区域切除を行なった。その後は順調に経過し、41年11月に退院した。

② 非定型抗酸菌の中に結核菌混在を推定した根拠

4% NaOH 液処理の喀痰均等液を3%小川培地に0.1

Table 1. Drug Sensitivity of Acid-Fast Organisms Isolated from Sputum at the Time of and Five Months after Admission

| Drug & conc. (mcg/ml) | First isolate (October 1965) | Second isolate (March 1966)                 |
|-----------------------|------------------------------|---|
| INH                   | 5                            | Referred to as:<br>###.....Strain Minowa #6 |
|                       | 1                            | ###.....Strain Minowa #5                    |
|                       | 0.1                          | ###.....Strain Minowa #4                    |
| SM                    | 100                          | —   |
|                       | 10                           | 82.....Strain Minowa #3                     |
| PAS                   | 10                           | —   |
|                       | 1                            | —   |
| Control               | 0                            | ###.....Strain Minowa #2                    |
|                       |                              | ###.....Strain Minowa #1                    |

Note: 1) Number of colonies is expressed in the following scale;

- ###.....Innumerable and completely confluent.
- ###.....innumerable but separated.
- +.....uncountable, and
- +.....countable, with actual number.
- .....No visible growth.

Table 2. Growth on Egg Medium and Niacin Test of Six Cultures of Minowa Strain

| Culture strain<br>Name & source <sup>1)</sup> | Incubation temperature |                           |        |             |
|---|------------------------|---------------------------|--------|-------------|
|   | 37°C                   |                           | 22°C   |             |
|   | Growth                 | Niacin test <sup>2)</sup> | Growth | Niacin test |
| Minowa #1.....Control II                      | ###                    | (+)                       | ###    | (-)         |
| Minowa #2.....Control I                       | ###                    | (-)                       | ###    | (-)         |
| Minowa #3.....SM 10 mcg                       | ###                    | (-)                       | ###    | (-)         |
| Minowa #4.....INH 0.1 mcg                     | ###                    | (+)                       | ###    | (-)         |
| Minowa #5.....INH 1 mcg                       | ###                    | (+)                       | 73     | (-)         |
| Minowa #6.....INH 5 mcg                       | ###                    | (+)                       | ###    | (-)         |

Note: 1) Table 1 to be referred.

2) Niacin test according to BrCN-benzidine method is expressed as follows:

(###).....strongly positive, (+).....moderately positive, (+).....weakly positive, and (-).....negative.

ml 宛接種し、37°C に培養した入院中の毎月の検痰では、40年10月に無着色のR型の集落1コと、41年3月に橙色、S型の集落32.5コを認めただけである。前者はナイアシンテスト陽性であり、後者は非定型抗酸菌と推定し、ナイアシンテストは行なわなかつた。結核菌検査指針に準じて行なつた薬剤耐性検査の成績は、表1のようであつたが、ここに問題となつたのは、41年3月に検出された橙色S型集落の耐性検査成績で、この場合にみる集落は橙色で大部分はS型であつたが、その中にR型らしいものがINH 5mcg、および1mcg添加の耐性検査培地にみられた。すなわち結核菌の混在が推定された。これらの菌株を表1で示すように、それぞれ箕輪-1株、箕輪-2株……箕輪-6株と呼ぶことにする。

そこで、これらの菌株を2本の1%小川培地にうすく塗抹接種し、コルクの栓をして37°Cと22°Cに培養し、その性状を見るとともに、1カ月培養後に、臭化シアン

-ベンジジン法によりナイアシンテストを行なつた。

成績は表2のように、37°Cでも22°Cでもよく発見したが、22°Cでは多少発育が悪い。性状を見ると、37°C培養では、箕輪-5株がR型で無着色、箕輪-6株がR型とS型の中間を示し、橙色に着色していた。また22°C培養では全部S型で橙色を示した。ナイアシンテストは37°C培養では、6株中の4株が中等度陽性を示し、他の2株は陰性を示した。

以上の成績から箕輪株の中には、非定型抗酸菌と結核菌が混在しているものがあることが、いよいよはつきりしてきた。

③ 分離の実験

箕輪-1株～箕輪-6株の6株を用いて結核菌と非定型抗酸菌の分離を行なつた。すなわち、まず1%小川培地の斜面に発育している菌苔をかきとり、摩砕コルペンを用いて、蒸留水で1mg/mlの菌浮遊液を作り、蒸留

Table 3. Separation Test of Six Cultures of Minowa Strain into Tubercle Bacilli and Atypical Mycobacteria

| Strain    | Diluent for bact. suspension | Incubation temperature                        | Number of colonies developed per tube* |                  |                  |                  |
|-----------|------------------------------|---|--|------------------|------------------|------------------|
|           |                              |   | Inoculum size (mg)                     |                  |                  |                  |
|           |                              |   | 10 <sup>-4</sup>                       | 10 <sup>-5</sup> | 10 <sup>-6</sup> | 10 <sup>-7</sup> |
| Minowa #1 | a) Distilled water           | 37°C  | -/卅                                    | 1?/卅             | -/26.5           | -/ 2.0           |
|           |                              | 22°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/31.5           | -/ 2.5           |
|           | b) 4% NaOH solution          | 37°C  | 2.0/-                                  | -/-              | -/-              | -/-              |
|           |                              | c) 4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution | 37°C                                   | -/23             | -/ 3             | -/ 1.0           |
| Minowa #2 | a) Distilled water           | 37°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/36.5           | -/ 6.5           |
|           |                              | 22°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/41.5           | -/ 2.5           |
|           | b) 4% NaOH solution          | 37°C  | 1.0/ 3.5                               | -/-              | -/-              | -/-              |
|           |                              | c) 4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution | 37°C                                   | -/74.5           | -/ 3.5           | -/-              |
| Minowa #3 | a) Distilled water           | 37°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/32.0           | -/ 2.0           |
|           |                              | 22°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/52.0           | -/ 2.5           |
|           | b) 4% NaOH solution          | 37°C  | 3.0/-                                  | -/-              | -/-              | -/-              |
|           |                              | c) 4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution | 37°C                                   | -/78.0           | -/ 7.5           | -/ 0.5           |
| Minowa #4 | a) Distilled water           | 37°C  | -/卅                                    | 1.0?/卅           | 1.5/22.0         | -/ 2.5           |
|           |                              | 22°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/41.5           | -/ 3.5           |
|           | b) 4% NaOH solution          | 37°C  | 4.0/ 1.0                               | -/-              | -/-              | -/-              |
|           |                              | c) 4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution | 37°C                                   | -/25.0           | -/ 2.5           | -/-              |
| Minowa #5 | a) Distilled water           | 37°C  | -/37.0                                 | -/ 3.0           | -/ 0.5           | -/-              |
|           |                              | 22°C  | -/30.5                                 | -/ 4.5           | -/-              | -/-              |
|           | b) 4% NaOH solution          | 37°C  | -/39.0                                 | -/-              | -/-              | -/-              |
|           |                              | c) 4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution | 37°C                                   | -/ 2.5           | -/-              | -/ 0.5           |
| Minowa #6 | a) Distilled water           | 37°C  | 4.0?/卅                                 | 1.0?/卅           | 2.0/22.0         | -/ 2.5           |
|           |                              | 22°C  | -/卅                                    | -/卅              | -/20.5           | -/ 2.5           |
|           | b) 4% NaOH solution          | 37°C  | -/13.0                                 | -/ 2.0           | -/-              | -/-              |
|           |                              | c) 4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution | 37°C                                   | -/ 2.0           | -/-              | -/-              |

Note: 1) \*Rough, tubercle bacilli-like colonies/Smooth, orange-colored colonies similar in appearance to atypical mycobacteria.

2) ? indicates uncertain recognition.

水で 10 倍宛に希釈しながら  $10^{-4}$ ~ $10^{-8}$  mg の 4 段階を 4 本の 1% 小川培地に接種し、2 本は 37°C に、2 本は 22°C に培養した。更に同じ菌浮遊液を、4% NaOH 液、4%  $H_2SO_4$  液で処理して、その直後にそれぞれ 3% 小川培地と 3%  $Na_2HPO_4$  培地に、 $10^{-4}$ ~ $10^{-7}$  mg の 4 段階を 2 本宛接種して 37°C に培養した。毎週観察して 1 カ月後に判定し、R 型の無色の集落は結核菌、S 型橙色の集落は非定型抗酸菌と仮定して記載した。成績は表 3 に示すごとくで、結核菌と思われる菌株の分離ができたのは、箕輪-5 株を除いた他の 5 株であつて、集落数は少なく、いずれも 10 コ以下であつた。接種菌量別に分離できた回数を見ると、 $10^{-4}$  mg では 5 回、 $10^{-5}$  mg では 3 回、 $10^{-6}$  mg では 2 回、 $10^{-7}$  mg では 0 回であつた。

次に非定型抗酸菌の分離は、蒸留水希釈では、37°C、22°C とともにほとんどすべての接種菌量において分離された。また 4% NaOH 液処理では 5 回、4%  $H_2SO_4$  液処理では 13 回分離された。

④ 分離した結核菌および非定型抗酸菌と仮定した菌株の吟味と薬剤耐性

蒸留水、4% NaOH 液で分離した結核菌仮定の 5 株、蒸留水、4% NaOH 液、4%  $H_2SO_4$  液で分離した非定型抗酸菌仮定の 15 株を 1% 小川培地に 2 本宛塗抹接種し、コルク栓をして 37°C と 22°C に培養し、毎週観察して 1 カ月後に判定した。そして 37°C に発育したものはナイアシントテストを行なつた。成績は表 4 でみるように、結核菌と仮定した 5 株の中の 4 株は、37°C でのみ良い発育を示し、22°C では発育しなかつた。集落は R 型で無着色

であつた。ナイアシントテストはいずれも強陽性を示した。この成績は、入院当初、喀痰より分離された結核菌および 41 年 6 月に切除肺結核病巣より分離した結核菌と同じであつた。

22°C に発育したものは、箕輪-6 株より蒸留水で希釈した菌浮遊液を培養することによつて分離したもので、発育は不良であつたし、集落は S 型で橙色に着色し、ナイアシントテストは陰性であつた。なお 37°C に発育したものは発育が良く、ナイアシントテストは陽性であつた。次に非定型抗酸菌と仮定した 15 株は、37°C でも 22°C でも良く発育した。22°C では 37°C に比して発育が多少遅れているが、培養 1 週目における集落は盛り上つているので、Runyon の分類では迅速発育菌であろう。なおこれらの集落はいずれも S 型で、橙色を帯びていた。37°C、1 カ月培養した菌株を用いたナイアシントテストは、いずれも陰性であつた。更に同一菌株より分離した結核菌と非定型抗酸菌および昭和 41 年 6 月に切除肺結核病巣より分離した結核菌の薬剤耐性の成績は表 5 に示したごとくで、結核菌と仮定したものと非定型抗酸菌と仮定したものの薬剤耐性の成績は全く異なる。また各菌株より分離されて結核菌と仮定した菌の耐性は、箕輪-6 株より分離した菌の VM に対する耐性が異なるだけで、その他はほとんど同様の成績を示している。これを切除肺結核病巣より分離した結核菌の耐性と比較すると、VM 耐性が箕輪-6 株より分離したものと同じであることが、その他の菌株と異なるだけであつて、その他の耐性の成績は全く同じである。次に分離した非定型抗酸菌の耐性

Table 4. Growth Characteristics of the Differentiated Colonies as Tubercle Bacilli and Atypical Mycobacteria (Identification test)

| Original mixed culture | Growth temperature | Smooth, atypical mycobacteria-like colonies isolated from: |                       |  |                       |                             |             |  |
|------------------------|--------------------|--|-----------------------|--|-----------------------|-----------------------------|-------------|--|
|                        |                    | Rough, tubercle bacilli-like colonies isolated from:       |                       | Smooth, atypical mycobacteria-like colonies isolated from: |                       |                             |             |  |
|                        |                    | a) Aqueous suspension                                      | b) 4% NaOH-suspension | a) Aqueous suspension                                      | b) 4% NaOH-suspension | c) 4% $H_2SO_4$ -suspension |             |  |
| (A)                    | (B)                | (A)  | (B)                   | (A)  | (B)                   | (A)                         | (B)         |  |
| Minowa # 1             | 37°C               |  | ### a R (##)          | ### a S (-)  | ### a S (-)           |                             |             |  |
|                        | 22°C               |  | -                     | ### a S (-)  | ### a S               |                             |             |  |
| Minowa # 2             | 37°C               |  | ### a R (##)          | ### a S (-)  | ### a S (-)           | ### a S (-)                 |             |  |
|                        | 22°C               |  | -                     | ### a S (-)  | ### a S (-)           | ### a S (-)                 | ### a S (-) |  |
| Minowa # 3             | 37°C               |  | ### a R (##)          | ### a S (-)  | ### a S (-)           |                             |             |  |
|                        | 22°C               |  | -                     | ### a S  | ### a S               |                             |             |  |
| Minowa # 4             | 37°C               |  | ### a R (##)          | ### a S (-)  | ### a S (-)           |                             |             |  |
|                        | 22°C               |  | -                     | ### a S  |                       |                             |             |  |
| Minowa # 5             | 37°C               |  |                       | ### a S (-)  | ### a S (-)           | ### a S (-)                 |             |  |
|                        | 22°C               |  |                       | ### a S  | ### a S               | ### a S                     |             |  |
| Minowa # 6             | 37°C               | ### a R (##)   |                       | ### a S (-)  | ### a S (-)           | ### a S (-)                 |             |  |
|                        | 22°C               | ## c S   |                       | ### a S  | ### a S               | ## b S                      |             |  |

Note: (A) i) Number of colonies as expressed in Table 1; ii) amount of growth: a...markedly raised (eugonic), b...moderately raised, and c...not raised (dysgonic); iii) R...rough colony, S...smooth colony.  
(B) Niacin test as noted in Table 2.

Table 5. Comparative Drug Sensitivity Test on Acid-Fast Organisms Separated from the Mixed Cultures and the Lesion of Resected Lung

| Antituberculous drug | Drug conc. (mcg/ml) | Strain Minowa #1 |             | Strain Minowa #2 |             | Strain Minowa #4 |             | Strain Minowa #6 |             | Tubercle bacilli from lung |
|----------------------|---------------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|-------------|----------------------------|
|                      |                     | T. B.            | Atyp. Myco. | T. B.            | Atyp. Myco. | T. B.            | Atyp. Myco. | T. B.            | Atyp. Myco. |                            |
| INH                  | 5                   | 86               | —           | 61               | —           | 90               | —           | 44               | —           | 17                         |
|                      | 1                   | 81               | 1           | 74               | —           | 88               | —           | 37               | —           | 32                         |
|                      | 0.1                 | 91               | ##          | 81               | ##          | 86               | ##          | 47               | ##          | 22                         |
| SM                   | 100                 | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 10                  | —                | ##          | —                | ##          | —                | ##          | —                | ##          | —                          |
| PAS                  | 10                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 1                   | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                          |
| KM                   | 100                 | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 10                  | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                          |
| CS                   | 40                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 20                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 10                  | 22               | +           | 8                | 6           | 18               | 2           | 11               | +           | 8                          |
| TH                   | 50                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 25                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 12.5                | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
| VM                   | 100                 | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                          |
|                      | 10                  | 8                | ##          | +                | ##          | 24               | ##          | —                | ##          | —                          |
| EB                   | 10                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 5                   | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 2.5                 | 7                | +           | —                | +           | —                | +           | —                | +           | —                          |
|                      | 1                   | 28               | ##          | 20               | ##          | 54               | ##          | 13               | ##          | 18                         |
| SF                   | 50                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 25                  | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 12.5                | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
| PZA                  | 5,000               | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                | —           | —                          |
|                      | 1,000               | —                | ##          | —                | ##          | —                | +           | —                | +           | —                          |
|                      | 100                 | —                | ##          | —                | ##          | —                | ##          | —                | ##          | —                          |
|                      | 0                   | —                | ##          | —                | ##          | —                | ##          | —                | ##          | —                          |
| Control              | 0                   | 95               | ##          | 77               | ##          | 79.5             | ##          | 52               | ##          | 21                         |

Note: T. B. = Tubercle Bacilli; Atyp. Myco. = Atypical Mycobacteria; the figures and symbols for the growth of culture are the same as those in Table 1.

もほとんど差がない。

以上のような成績から、結核菌と仮定したものはやはり結核菌であり、非定型抗酸菌と仮定したものはやはり非定型抗酸菌であることが分かったし、耐性検査に用いた4種の結核菌および4種の非定型抗酸菌は、それぞれ同じものであることが推定された。

### 3. 考 察

本例では、非定型抗酸菌を思わせる集落を認めたのは、10カ月の入院期間中、すなわち10回の検痰の中で1回だけであつたから、非定型抗酸菌はおそらく呼吸を

通しての迷入であろう。分離当時集落の性状は非定型抗酸菌単独の姿をとつていたが、耐性検査によつてはじめて、耐性検査培地のあるものだけに結核菌の混在を推定させる集落の発育が認められた。このように結核菌混在をうきぼりにしたものは、結核化学療法薬の結核菌と非定型抗酸菌に対する阻止力の違いである。更に耐性検査培地に発育した集落を継代して37°Cに培養した6株中の2株にR型、R型とS型の混在したものが見られたこと、また6株中の4株がナイアシンテスト陽性を示したことは、我々の推定を更に裏づけた。

両菌の分離の方法は、既報の基礎実験で述べたもの

で、本例ではその方法を実際に当てはめたにすぎない。予期したように、この方法により、結核菌と非定型抗酸菌を分離することができた。分離した結核菌の集落が少なかつたのは、大量の非定型抗酸菌の中に少量の結核菌が混在していたことによるであろう。したがって蒸留水による希釈菌浮遊液の培養では、結核菌の集落は認めても、たくさんの非定型抗酸菌の中に混じっているために、結核菌を分離することは不可能であつた。このようにたくさんの非定型抗酸菌の中に少量の結核菌の混在の時に役立つのは前処理であつた。しかし4% NaOH液だけに結核菌が分離されて、4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液処理では1回も分離できなかつた。これは混在していた非定型抗酸菌に対して4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液よりも4% NaOH液の方が障害の程度が強かつたことによるであろう。しかし詳細に見ると、箕輪-5株、箕輪-6株では、4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液の方が4% NaOH液よりも高度であることを認めるが、これは技術的な誤差であつたのかもしれない。なお箕輪-5株では、そのいずれの場合においても結核菌を分離できなかつたが、これは実験に用いた菌浮遊液の中の結核菌が少なかつたことによるであろう。

我々の方法によつて分離した結核菌および非定型抗酸菌と仮定した菌株は、吟味<sup>2)</sup>によつて、その大部分は結核菌あるいは非定型抗酸菌であることを認めたが、蒸留水で希釈した菌浮遊液の培養によつて分離し、結核菌と仮定した菌株は、22°Cにも発育した。このことは結核菌の中に非定型抗酸菌が混じっていたことを示すと共に、この分離の方法にはまだ問題のあることを示すもの

である。したがつて分離した菌株については必ず吟味することが必要である。この方法は不完全ではあるが、前述のように日常検査として吟味を行ないながら実施することは許されてもよいものと思われる。

#### 4. 総 括

肺結核症として入院中の症例の喀痰より分離された抗酸菌はS型橙色で、一見非定型抗酸菌の姿を示していたが、薬剤耐性検査により、非定型抗酸菌の中にR型無色の結核菌らしい菌株の混在を認めたので、耐性検査培地に発育した6株の菌株より両菌の分離を行なつた。すなわち菌浮遊液を蒸留水で希釈し、更に4% NaOH液、4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液で処理して、それぞれ10<sup>-4</sup>~10<sup>-7</sup>mgを培地に接種し、前者は37°C、22°Cに、処理したものは37°Cに培養し、1カ月後に発育した無色R型の集落を結核菌、橙色S型の集落を非定型抗酸菌と仮定した。結核菌は蒸留水希釈、4% NaOH液処理のものから分離されたが、4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液処理のものからは分離できなかつた。また非定型抗酸菌はいずれの場合にも分離された。分離された菌株を吟味し、結核菌と仮定した1株だけに非定型抗酸菌の混在を認めたが、その他の菌株は、それぞれ結核菌と非定型抗酸菌であることを確かめた。

#### 文 献

- 1) 小川辰次・西村セツ子：結核，44：161，昭44.
- 2) 厚生省監修：衛生検査指針（結核菌検査指針），日本公衆衛生協会発行，昭39.