

原 著

国立療養所中部病院で分離された非定型抗酸菌の菌種
および分離頻度 (1972~1976年の5年間の観察)

東 村 道 雄・水 野 松 司・村 田 浩

国立療養所中部病院
国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班

受付 昭和 52 年 9 月 6 日

FREQUENCY OF ISOLATION AND KIND OF SPECIES OF ACID-FAST
ORGANISMS ISOLATED FROM PATIENTS HOSPITALIZED IN
NATIONAL CHUBU HOSPITAL IN 1972 TO 1976(FIVE YEARS)

Michio TSUKAMURA*, Shoji MIZUNO and Hiroshi MURATA

(Received for publication September 6, 1977)

Monthly sputum examinations were carried out on patients hospitalized in the National Chubu Hospital during the period of 5 years (January 1972 to December 1976), and all acid-fast organisms isolated were identified.

1. The prevalence rate of acid-fast organisms other than tubercle bacilli, including *Gordona* (*Rhodochrous* complex) and *Nocardia*, among all acid-fast organisms ranged from 5.6 to 14.8% and differed from year to year (Table 1). Background-prevalence rate (prevalence rate of acid-fast organisms other than tubercle bacilli, after subtracting those which have caused disease in patients, among all acid-fast organisms) ranged from 2.5 to 9.5% (Table 2). Accordingly, annual changes in the background-prevalence rate seems to exist. These changes might be explained most probably by changes of ecology of acid-fast organisms in environment.

2. Background-prevalence rate (casual isolation-rate) in various months of five years was shown in Table 3. The rate was high from January to March and low from April to October. Increase of the rate in winter season was probably due to changes in clearance of respiratory tract of patients.

3. The kind of species was shown in Table 4. The distribution of the species was similar to the results obtained by the National Chest Hospital Group. Comparison between the results in this hospital and those in the National Tokyo Chest Hospital, which were confirmed by us, was shown in Table 5. A marked difference was present in the rate of *M. kansasii*.

4. The kind of species of casual isolates was shown in Table 6. The background-prevalence rate of *M. avium-intracellulare* complex was 0.4%. This rate will be served as a standard for considering whether or not an isolation frequency from a patient belongs to a normal range.

A total of 539 strains of acid-fast organisms other than tubercle bacilli were isolated. Out of these, 235 strains were isolated from 26 patients who were considered to have lung disease due to these organisms, and other 304 strains were isolated from 255 patients as casual isolates. The mode of excretion of these casual isolates was shown in Table 7.

* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

国立療養所中部病院研究部では、1968年における国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班の結成以来、参加施設の分離抗酸菌の同定に従事してきた。これらの成績は、研究班報告として発表してきたが、一方、中部病院自体の月例検痰で分離された抗酸菌についても、全株同定を行なってきた。このように、分離抗酸菌を長期にわたって同定してきた例は、世界的にもまれであるので、非定型抗酸菌排菌の実態を示すために、最近5年間の成績を報告することとした。

研究材料および研究方法

対象：1972年1月から1976年12月に至る5年間に国療中部病院に入院していた患者を研究の対象とした。外来患者は今回の研究対象としなかつた。

抗酸菌の分離：喀痰1個に等量の4% NaOH液を加えて室温で15~20分間振盪して喀痰を液化し、その0.02 mlを渦巻白金耳で、中試験管(17×170 mm)に8 ml分注した1%小川培地斜面に接種した。試験管に穴あきゴム栓を施して37°Cに8週まで培養した。本法は、0.1 mlピペット接種法に優るとも劣らぬ検出率を示す¹⁾。

結核菌と結核菌以外の抗酸菌との区別：上記の方法で分離した集落を、(a)1%小川培地(対照)および(b)PNB培地(p-nitrobenzoic acidを0.5 mg/mlの割合に含む1%小川培地)²⁾に1白金耳ずつ接種し、37°Cに3週間培養した。3週後にPNB培地に発育する菌株を同定の対象とした。結核菌はPNB培地に発育せず、結核菌以外の抗酸菌はPNB培地に発育する。なお念のために、被検株全株を発育観察後に室内光に2日間さらして光発色性を検査し、光発色株の見逃しがないように努めた。われわれの経験では、日本分離の*M. kansasii*はすべてPNB培地に発育するので、screeningにはPNB培地だけで実際的には十分である。

結核菌以外の抗酸菌の同定：同定の方法は Tsukamu-

ra³⁾によつた。アルカリ処理に耐えて分離される菌は、抗酸菌(*Mycobacterium*)だけではなく、弱抗酸性菌の*Gordona* (*Rhodochrous* complex; *Rhodococcus*)および部分抗酸性菌である*Nocardia*を含むので、これらの広義の抗酸性菌(acid-fast organisms)も可及的同定した。

検査の実施：対象入院患者については、月1回の検査を全員に毎月行なつて5年間続けた。研究成績はこの検査の結果を示す。この月例検痰の他に、入院時の連日検痰が行なわれたが、この結果は本報に入れなかつた。また特定の患者特に感染症の患者については頻回の検査を実施した例があるが、この成績も入れなかつた。要するに、入院患者における結核菌以外の抗酸菌の排菌の実態を示すのが目的であるので、特別な検査の結果を混入することを避けた。

研究成績および考察

1. 結核菌以外の抗酸菌の分離頻度

1972~1976年における結核菌以外の抗酸菌の分離頻度を、全抗酸菌対比で示すと、5.7~14.8%、5年間の平均値9.6%となつた。ここに注目されるのは、1972~1974年の頻度5.7~8.8%に対して、1975、1976年度の頻度は13.1~14.8%で、両者の間には統計学的有意差(χ^2 -test, $p < 0.05$)がある(表1)。

以上の値には、結核菌以外の抗酸菌による感染症患者の排菌を含むので、明らかに感染症と考えられる患者からの排菌を除いた「背景分離頻度」(結核菌以外の抗酸菌の sporadic isolation の頻度)を計算してみた。その結果もやはり、年次によつてかなりの差がある(表2)。1973年は低く、1975年は高い。このような差は何に基づくものであろうか。結核菌以外の抗酸菌の「貯蔵庫」は、今日、環境であると考えられる⁴⁾。したがつて環境中の抗酸菌の生態の年次的な差異が、背景分離頻度に反映し

Table 1. Prevalence Rate of Acid-fast Organisms Other than Tubercle Bacilli Occurring in Sputa of Patients with Lung Disease Including Tuberculosis

Year	No. of sputum specimens examined monthly*	No. of strains of all acid-fast organisms: X**	No. of strains of acid-fast organisms other than tubercle bacilli: Y	Ratio: (Y/X) × 100%
1972	8,084	1,654	144	8.7
1973	7,896	1,327	74	5.6
1974	7,357	861	76	8.8
1975	6,710	845	125	14.8
1976	6,196	913	120	13.1
Total	36,243	5,600	539	9.6

* The number of sputum specimens equals to the number of hospitalized patients in every month.

** All completely or partially acid-fast organisms including tubercle bacilli, *Gordona*(*Rhodochrous* complex) and *Nocardia*.

Table 2. Background-Prevalence Rate of Acid-fast Organisms Other than Tubercle Bacilli Occurring in Patients with Lung Disease

Year	No. of sputum specimens examined monthly	No. of strains of all acid-fast organisms: X*	No. of strains of acid-fast organisms other than tubercle bacilli: Y*	Ratio: (Y/X) × 100%
1972	8,084	1,603	93	5.8
1973	7,896	1,285	32	2.5
1974	7,357	831	46	5.5
1975	6,710	796	76	9.5
1976	6,196	850	57	6.7
Total	36,243	5,365	304	5.7

* These numbers do not contain the number of strains of mycobacteria which have caused disease in patients.

Table 3. Comparison of Background-Prevalence Rate (Casual Isolation Rate) of Acid-fast Organisms Other than Tubercle Bacilli Occurring in Sputa of Patients with Lung Disease in Various Months

Month	No. of sputum specimens examined*	No. of positive cultures of all acid-fast organisms: X*	No. of strains of acid-fast organisms other than tubercle bacilli: Y*	Ratio: (Y/X) × 100%
January	3,084	477	28	5.9
February	3,132	435	40	9.2
March	3,046	433	31	7.2
April	2,955	434	17	3.9
May	2,929	449	22	4.9
June	3,014	433	17	3.9
July	3,003	453	18	4.0
August	2,966	424	24	5.7
September	3,057	430	25	5.8
October	2,952	499	25	5.0
November	2,896	429	32	7.5
December	2,974	469	25	5.3
Total	36,008	5,365	304	5.7#

* These numbers do not contain the number of acid-fast organisms other than tubercle bacilli which have been considered to have caused lung disease in patients.

Average

ているものと考えれば、この成績を理解することができ
る。

2. 結核菌以外の抗酸菌の月別分離頻度

結核菌以外の抗酸菌の排菌頻度に季節的変動があるの
ではないかということがいわれたが、観察例数があまり
に少なく、結論はでていない。換言すれば、既報の文献
には、季節的変動の存在を証明した文献はない。もちろ
ん変動があると報告したものはあるが、統計学的に有意
の成績といえるものはない。

そこで、この可能性を検討するために、5年間の月別
分離頻度を表3に作製した。季節的変動をみるため
には、当然背景分離頻度でみるべきであるので、表3には
感染症患者からの排菌を引き去った分離頻度が計算して

ある。その結果は、春から夏にかけて分離頻度が低く、
冬に高い成績が得られた。平均分離頻度5.7%と2月の
分離頻度9.2%の間には、 χ^2 -testで有意差($p < 0.005$)
がみられる。

このように、冬に分離頻度が高いことは、やや意外の
成績であつた。環境中の抗酸菌の増殖は夏に盛んであ
らうと期待したからである。しかし次のように考えて説明
することができる。前に Tsukamura⁵⁾が報告したよう
に、背景分離頻度(sporadic isolation頻度)には、むしろ
宿主側の条件の方が重要と考えられる。空洞、気管支
拡張など、気道浄化の障害のある宿主に排菌がみられた
ように、冬期にはこれら宿主の気道浄化が更に停滞して
いるものと考えて説明できる。

Table 4. Kind of Species of Acid-fast Organisms Other than Tubercle Bacilli Isolated in Five Years (1972 to 1976)

Year	No. of strains												Total
	Species												
	KAN	SCR	SZU	GOR	INTRA	NON	PHL	FOR	ABS	PAR	RHOD	NOCA	
1972		5		6	112	3		1		1	16		144
1973			1	6	61	1					5		74
1974	1	3	1	15	43	2			1		10		76
1975		1	1	12	78	2		4			25	2	125
1976				4	82	3	1	8			21		120
Total	1	9	3	43	376	11	1	13	1	2	77	2	539
Percentage	0.2	1.7	0.6	8.0	69.8	2.0	0.2	2.4	0.2	0.4	14.3	0.4	100.0

Abbreviations. KAN : *M. kansasii*, SCR : *M. scrofulaceum*, SZU : *M. szulgai*, GOR : *M. gordonae*, INTRA : *M. avium-intracellulare* complex, NON : *M. nonchromogenicum* complex, PHL : *M. phlei*, FOR : *M. fortuitum*, ABS : *M. abscessus* (*M. chelonae* subsp. *abscessus*), PAR : *M. parafortuitum* complex, RHOD : *Gordona* (*Rhodochrous* complex), NOCA : *Nocardia*.

Table 5. Comparison of the Species Isolated between National Chubu Hospital and National Tokyo Hospital

Species	No. of strains	
	Chubu Hospital*	Tokyo Hospital**
<i>M. kansasii</i>	1 (0.2)	16 (4.2)
<i>M. scrofulaceum</i>	9 (2.0)	2 (0.5)
<i>M. szulgai</i>	3 (0.7)	0 (0.0)
<i>M. gordonae</i>	43 (9.3)	39 (10.3)
<i>M. avium-intracellulare</i>	376 (81.7)	306 (81.0)
<i>M. nonchromogenicum</i> complex	11 (2.4)	7 (1.9)
<i>M. fortuitum</i>	13 (2.8)	8 (2.1)
<i>M. abscessus</i>	1 (0.2)	0 (0.0)
<i>M. parafortuitum</i> complex	2 (0.4)	0 (0.0)
<i>M. phlei</i>	1 (0.2)	0 (0.0)
Total	460 (100.0)	378 (100.0)

* Isolated by monthly examinations in 1972 to 1976.

** Isolated by trimonthly examinations in 1971 to 1975. These strains were supplied by Dr. H. Shimoide and identified in the author's laboratory.

3. 分離された結核菌以外の抗酸菌の菌種

表4に成績を示す。この成績は、これまで発表された国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班(国療共研)⁶⁾⁷⁾⁹⁾の全国平均成績と大差がない。表4に示すごとく、われわれの成績では *Gordona* 菌(*Rhodochrous* 菌)⁹⁾の分離頻度がかなり高い。*Nocardia* もまれに分離できる。

菌種の比率についての地域差の存在は、国療共研⁶⁾⁷⁾⁹⁾が指摘した重要な所見の一つであるが、国療東京病院の菌種の比率と国療中部病院のそれを表5に比較してみる。この比較は狭義の抗酸菌に限った。国療東京病院の株は、下出久雄博士から国療共研のために、われわれの手許に送られ、同じ方法で同定したものである。両者の成績は、*M. kansasii* 以外では大差がないが、*M. kansasii* の分離頻度に関しては著明な差がある。

感染症の菌株を含まない菌種分布がどのようになっているかについての報告はないので、表6に成績を掲げる。ここに示す菌種は、いわゆる sporadic isolates として分離される結核菌以外の抗酸菌の菌種である。*M. avium-intracellulare* complex は感染症患者からの排菌がかなり含まれていたため、それを除いた表6では、この菌の比率は約50%に低下している。そして、他の菌種の頻度は相対的に多くなっている。

表6には各菌種の検査回数当りの分離率を示してある。例えば *M. avium-intracellulare* の分離頻度は約0.4%である。すなわち感染症でない患者から、この菌が sporadic isolates として分離される頻度は、4/1,000 であるといえる。この数値は、この菌を何回の検査で何回証明したら「病的」といえるかという重要な問題の基礎

Table 6. Species of Casual Isolates and Background-Prevalence Rate of Casual Isolates

Species	No. of strains	Percentage	Background-prevalence rate(%)*
<i>M. scrofulaceum</i>	9	3.0	0.025
<i>M. szulgai</i>	3	1.0	0.008
<i>M. gordonae</i>	43	14.1	0.119
<i>M. avium-intracellulare</i>	142	46.7	0.394
<i>M. nonchromogenicum</i> complex	11	3.6	0.031
<i>M. phlei</i>	1	0.3	0.003
<i>M. fortuitum</i>	13	4.3	0.036
<i>M. abscessus</i>	1	0.3	0.003
<i>M. parafortuitum</i> complex	2	0.7	0.006
<i>Gordona</i> (<i>Rhodochrous</i> complex)	77	25.3	0.214
<i>Nocardia</i>	2	0.7	0.006
Total	304	100.0	0.844

* Rate of casual isolation = [(the number of strains of casual isolates)/(total number of sputum examinations, from which the number of strains that caused disease in patients were subtracted, 36,008)] × 100%. These rates show a normal range of casual isolation.

Table 7. Mode of Excretion of Casual Isolates of Acid-fast Organisms Other than Tubercle Bacilli

No. of isolation	No. of patients	No. of strains
Once	222	1 × 222 = 222
Twice	18	2 × 18 = 36
Three times	14	3 × 14 = 42
Four times	1	4 × 1 = 4
Total	255	304

資料となると思われる。この問題については別報する。

4. 個々の患者からの結核菌以外の抗酸菌の分離頻度
感染症の患者からは、頻回に検査すればするほど、頻回に菌が得られることは当然である。月1回の毎月検痰で観察を続けても、期間が延びれば延びるほど検出の確率が増す。したがって菌の分離回数をもつて診断の要素としようというのであれば、検査回数または期間を限定しなければ意味はない。この点は、われわれが前に強調したところであるが¹⁰⁾、非定型抗酸菌症研究協議会の試案¹¹⁾でも改善されていない。

われわれの感染症の定義は、協議会の試案よりもやや厳しい(期間限定の点で)ものであるが、この定義による感染症患者を除いて、長期入院中の肺結核患者から、いかなる頻度で結核菌以外の抗酸菌の排菌が起こるかを表7に示した。観察期間は5年であるが、個々の患者の在院期間はまちまちである。この5年間の患者1名当りの平均在院期間は8.0カ月である。

表7に示すように、観察期間に3回または4回の排菌を示し、しかも感染症と考えられない場合が15例あつた。排菌の期間は5カ月ないし3年である。最も頻回な排菌

を示した例は10カ月に4回である。この例の排菌は、*Gordona* 菌2回、*M. gordonae* 2回である。病原性菌の *M. avium-intracellulare* を3回排菌して、しかも感染症と考えられなかつた例(病態との関連がなかつた)が2例ある。これらの排菌の期間(第1回と第3回の期間)は16カ月および41カ月である。1例の1回の排菌は100集落以上であつた。このように長期間の3回の排菌は、必ずしも感染症と結びつかない。診断の基準として排菌回数を考える場合、排菌の期間を問題にする必要があると思われる。

結 論

1. 結核菌以外の抗酸菌の肺疾患患者(この菌による肺感染症を除く)の喀痰からの分離頻度(sporadic isolation-rate)には年次的変動があると思われる。また季節的な変動もあるようで、春から夏にかけてよりも、冬の方が分離頻度が高かつた。この原因としては、宿主側の要因すなわち気道浄化作用の低下の存在が想像される。

2. 1972~1976年に毎月検痰により入院患者の喀痰か

ら分離された結核菌以外の抗酸菌の分離頻度および菌種を記載した。Sporadic isolates 中に占める *M. avium-intracellulare* complex の比率は約 50% である。*M. avium-intracellulare* の sporadic isolation-rate は約 0.4% であつた。すなわち入院患者で、この菌の感染症を除いた患者から、この菌が分離される確率は、検査 1,000回について 4 回である。

文 献

- 1) 東村道雄：医学と生物学, 91 : 179, 1975.
- 2) Tsukamura, M. and Tsukamura, S.: Tubercle, 45 : 64, 1964.
- 3) Tsukamura, M.: Identification of Mycobacteria, Research Laboratory of the National Chubu Chest Hospital, Aichi 474, p.1~74, 1975.
- 4) 東村道雄：結核, 52 : 261, 1977.
- 5) Tsukamura, M.: Amer. Rev. Resp. Dis., 108 : 679, 1973.
- 6) The Co-operative Study Group of the Japanese National Sanatoria: Tubercle, 51 : 270, 1970.
- 7) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：結核, 48 : 203, 1973.
- 8) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：結核, 51 : 99, 1976.
- 9) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 68 : 15, 1971.
- 10) 東村道雄：結核, 49 : 327, 1974.
- 11) 非定型抗酸菌症研究協議会：結核, 51 : 61, 1976.