

総 説

喀痰における抗酸菌塗抹陽性培養陰性

——抗酸菌検出における諸問題に関連して——

工 藤 祐 是

結核予防会結核研究所

受付 昭和 56 年 4 月 25 日

THE SMEAR-POSITIVE AND CULTURE-NEGATIVE PHENOMENON
OF MYCOBACTERIA IN SPUTUM SPECIMENS IN RELATION TO
THE PROBLEMS ON THE DETECTION OF MYCOBACTERIA

Sukeyoshi KUDOH*

(Received for publication April 25, 1981)

It is estimated that the number of sputum smear-positive and culture-negative cases (SPCN) has recently been increasing in Japan.

Although this phenomenon has been well known since the early stage of tuberculosis chemotherapy era, its clinical significance is as yet not so clear.

From the review of literatures and based on the author's own experiences, it may be summarized as follows:

Some of this phenomenon are caused by technical errors during the procedure of staining or microscopical examination.

The routine culture method widely employed at present is reliable enough for clinical purpose, if it is performed very carefully; for example, the immediate inoculation after alkali treatment, reduced inoculum size and stable temperature during incubation.

The incubation period of all SPCN specimens should be extended up to sixteen weeks.

The SPCN cases found during the course of primary chemotherapy with intensive regimens are regarded as a normal step prior to negative conversion of bacilli both on smear and culture, in spite of the possible growth in extended incubation period.

The phenomenon of repeated SPCN was found mainly in patients treated with long-term chemotherapy. If colonies grow during the extended incubation in such a case, a risk of deterioration in the future is high and the prognosis is not favourable.

Briefly, it may be concluded that the SPCN cases have no clinical significance, if there is no growth during the extended incubation period.

喀痰検査において、塗抹標本の抗酸性染色（蛍光法も含めて）で明らかな抗酸菌を認めるにかかわらず、その同じ検体の分離培養では培地上に全く集落の発育をみな

いという現象は、日常臨床検査においてかなり頻繁にみられる。元来この両検出法は全く異なる生物学的基盤に立つものである以上、あえて奇とするに足りないことで

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24 Matsuyama, Kiyose, Tokyo 180-04 Japan.

はある。しかし検体中に抗酸菌が存在すると思われるのに、その生死、菌力、種別などについて、それ以上の情報が全く得られないということは、臨床的には治療効果や予後の判定に大きな障害となり、また公衆衛生的には対応の誤りを犯すことになりかねない。

この問題が喀痰について取り上げられるようになったのは、わが国では塗抹染色と分離培養が同一材料について実施されるようになった昭和27, 8年頃からである。それ以前の日常抗酸菌検査は専ら結核菌の検出が目的であり、培養は単に鋭敏な検出法と考えられていたので、塗抹染色法が陽性であれば、ふつう分離培養は行なわれなかつた。したがってこの両者の成績を対比して、その食い違いに関心が払われることも少なかつたようである。この時期はあたかも結核の化学療法が急速に普及し、検査がその重要性を高める一方、肺切除術が盛んに行なわれた時期に当たる。

このような状況下に、この現象は結核臨床に携る人々の強い関心をひき、当時喀痰や切除肺病巣中の結核菌の生死に触れた論文はかなりの数に上っている。

しかし、その後この重要な課題もあるあいまいさを残したまま話題から遠ざかっていたが、最近初期強化短期化学療法が取り上げらるに伴い、治療の成否、予後の推定、治療終了時期の判定などに関連して、排菌停止時期が重要視されるようになり、再びこの問題に結論を出す必要が生じているように思われる。

発現頻度

抗酸菌塗抹陽性培養陰性例 (smear-positive and culture-negative 以下 SPCN と略す)のみられる頻度をいくつかの報告から拾つてみると表1のようになる。成績は報告者によりかなりの幅があるが、初期に化学療法の有無別に比較したものでは¹¹⁻³³⁾、いずれも化学療法をやらないものに比べ、やつているものに明らかにこのような例の多いことを指摘し、このような現象が第一義的に化学療法の影響によるものとしている。初期のデータを除けば、これまでにわが国で SPCN 例のみられた頻度は塗抹陽性例の大よそ10~15%前後とみてよいようである。これはデータに化学療法開始前あるいは開始後の

Table 1. The Frequency of Smear-positive and Culture-negative Appeared in Literatures Specimens

Specimen	Author	Year of examination	Number of Smear +	Number of S+C- %	Note
Sputum	Collard et al. ¹¹⁾	~ II・1953	286	27(9.4)	Not treated
			319	87(27.3)	Treated
	Ogawa et al. ²¹⁾	1950	184	2(1.1)	Pre-chemotherapy era
		IV・1953~III・1954	209	41(19.6)	Post-chemotherapy era
	Kitazawa et al. ³³⁾	IV・1953~XII・1953	196	13(6.6)	Under GIV FL
	Terayama ⁴⁾		26	4(15.2)	Not treated
			56	29(51.8)	Treated
	Sekura ⁵⁾	IV・1954~IX・1955	217	33(15.2)	
	Nassau ⁶⁾	1952~1953	132	(15.0)	Cultured with swab method
				(44.0)	Cultured with Jungman's method
	Ohta ⁷⁾	VIII・1954~II・1960	487	63(12.9)	
	Baba et al. ⁸⁾	I・1959~XII・1963	12,953	1,344(10.4)	FL
	Narain et al. ⁹⁾	1961~1964	245	24(10.8)	More than 4 AFB
			178	143(80.3)	1~3 AFB (10 min. observation)
	Chan et al. ¹⁰⁾	1963	* 377	26(6.9)	One time at the registration FL
			* 420	4(0.9)	Two times FL
Warring et al. ¹¹⁾	VII・1963~VI・1968	3,984	326(8.2)		
Blair et al. ¹²⁾	1968~1973	* 710	17(2.4)	6 Admission specimens FL	
		1,317	123(9.3)		
Shimizu. ¹³⁾	XI・1968~III・1970	* 13	2(15.4)	Before operation	
Dominguez et al. ¹⁴⁾	1969~1970	7,402	483(6.5)	FL	
Resected lung lesion	Ogawa et al. ²¹⁾		155	84(54.2)	
	Baba et al. ⁸⁾		26	16(61.5)	
	Shimizu ¹³⁾		56	30(53.6)	
	Viallier et al. ¹⁵⁾		19	11(57.9)	

* Number of cases FL: Fluorescence microscopy

Table 2. The Frequency of Smear-positive and Culture-negative Specimens in Several Institutions

Institution	Period of examination	Number of examination	Smear positive	%	Sm-pos. Cult-neg.	%
A	I ~ III・1977	685	137 <124>	20.0	25 (21)	18.2
B	III ~ IX・1978	2,213	146 <139>	6.6	19 (17)	13.6
C	I ~ IX・1978	4,246	264 <235>	6.2	31 (24)	13.2
D	II ~ VIII・1978	1,885	106	5.6	8 (7)	7.5
E	IV ~ XII・1978	16,477	1,427 <1,281>	8.7	206	16.1
F	IV ~ VI・1978	2,803	549	19.6	191 (18)	34.8

< > : Number excluding the cases with contamination and mycobacteria other than *M. tuberculosis*.

() : Number of cases, not specimens.

Table 3. The Tendency by Year in the Frequency of Smear-positive and Culture-negative Sputum Specimens
—Mycobacteriological section, Laboratory, Research Institute Hospital, Japan
Anti-tuberculosis Association—

Period of examination	Total number of specimen	Smear positive	%*	Sm-pos. Cult-neg.	%**
VIII・1953 ~ VII・1954		336		42	12.5
IV・1955 ~ III・1956	13,531	513	3.9	71	13.8
IV・1960 ~ III・1961	12,046	1,133	9.4	181	16.0
IV・1965 ~ III・1966	22,910	1,113	4.9	162	14.6
IV・1970 ~ III・1971	25,435	1,212	4.8	184	15.2
IV・1975 ~ III・1976	21,592	1,093	5.1	170	15.6
I・1977 ~ XII・1977	19,616	1,217	6.2	200	18.8
I・1978 ~ VI・1978	9,604	762	7.9	144	21.1
I・1980 ~ XII・1980	17,658	1,280	7.2	293	22.9

* Excluding the cases with contamination and mycobacteria other than *M. tuberculosis* in culture.

** Percentage means the ratio of smear-positive and culture-negative specimens to total smear-positive specimens.

成績の含まれる割合によつて当然変動するであろう。また外国の報告例では、SPCNのみられる比率が6.5~10%¹¹⁾¹³⁾¹⁴⁾とわが国よりもいく分低くなつていよう思われる。これは分離培養手技の相違が影響しているのかもしれない。

このような例は塗抹標本における菌数の少ない方に多くみられるというのが諸家の一致した意見²⁾⁻⁴⁾⁷⁾⁻⁹⁾で、89%はガフキーI、II号であるという報告がみられる¹¹⁾。また個々の患者では、繰り返し検査をすればSPCN例はかなり少なくなる¹⁰⁾¹²⁾。

因に切除肺病巣におけるSPCN例は、表1に例示したように喀痰に比べるとかなり高率で、50%を越えるものが多い¹⁶⁾²⁾⁸⁾¹³⁾¹⁵⁾。病巣の性状としては空洞のないものに多くみられるという¹⁶⁾。喀痰以外の材料、例えば胃内容、膿、穿刺液でもこのような例は喀痰以上にしばしばみられるようである⁸⁾。

化学療法経過中にみられる喀痰中のSPCN例については、以前から治療開始後6~8週目¹⁾、60~90日目²⁾、3カ月目³⁾に多いと言われているが、リファンピシン(RFP)を含む初回治療においても同様に治療開始後3~4カ月後に多くみられ¹⁷⁾¹⁸⁾、排菌停止の前階程とみなされている。病状では重症空洞型に最もしばしばみられ¹¹⁾、治療薬剤としてはRFP・PZAとRFP・INHが、このような例を増加させるという報告がある¹⁹⁾一方、RFPよりはINHにより関係が深いというデータもある¹²⁾。

なお最近いくつかの施設にお願いして調査した成績をまとめて表2²⁰⁾に示した。この場合も施設によつて、ややバラつきがあるが、以前のデータよりいく分高率に傾いているように思われる。

強力な薬剤の出現により、SPCN例が最近増加しているという印象を確かめるため、当研究所附属病院臨床検

査科抗酸菌室の検査成績を検討した²¹⁾。表3にみるように、結核の化学療法が広く実施されるようになった1953年以降1975年までは、ほぼ5年間隔で集計してみても大よそ15%前後で、あまり大きな変動はない。しかしその後の1977年19%、1978年21%、1980年23%は明らかな上昇を示しているといえよう。しかし、これを強力な化学療法普及の直接的影響とのみ単純に考えてよいかは、後でも述べるように、更に検討を要する。

発現の理由

これまでの報告者達の考え方を要約すると、可能性として挙げられる理由は次のようになる。

①鏡検の誤り、②培養手技の不備、③低活性菌、④死菌、である。

①は多くの手技書にも記載されているところであるが、不慣れた技術者に起こりやすく、ガラス面のキズや他の細菌などをみ誤る。特に蛍光法に頻度が高いとも言われる²²⁾。インドでの集団検査では SPCN のほとんどは鏡検における偽陽性であろうとしている²³⁾⁹⁾、他にも技術的エラーがかなりの部分を占めているとする意見もある¹²⁾¹⁴⁾⁵⁸⁾。塗抹標本で菌数の少ない例に SPCN が偏つて多いということも、この意見を裏づけているかもしれない。また更に SPCN が塗抹陽性例の55%(4,570 検体中塗抹陽性58, うち培養陰性32)にも達しているの、米国のように結核患者の激減した国では、塗抹染色成績の信頼性は著しく低く、患者発見方法として用いるべきではないという主張もある²⁴⁾。また全く結核の所見のない例にも0.2%程度に発育しない抗酸菌が検出されるが、これは後述の結核菌以外の抗酸菌である可能性がある¹¹⁾。

化学療法の影響を大きく受けているのは②以下の各項であると思われる。②と③は多くの場合、複合的な効果を SPCN 現象に与えているであろう。すなわち、抗結核薬の影響により発育能力が低下したり、栄養要求の変化した変異菌、あるいは化学療法の間接的な影響による結核菌以外の抗酸菌の増加に対して、現行の分離培養法が充分に対応しえているかという点になると多くの研究者は疑問を抱いているようである。これらの技術の大部分は現在のように化学療法が広く行なわれる以前に開発されたものであることを指摘する向もある。

培養手技には、その各段階に SPCN を招来しうる問題点がある。

まず検体中に含まれる抗結核薬が抗酸菌の発育阻止濃度を上回り、生体内での実態と異なつて生菌でも培養で生えて来ない場合があるので、検体採取前の投薬は中止すべきであるとか、検体に含まれる薬剤を培養にさいし不活性化できるような方法を開発すべきであるといった意見が、古い論文にはみられる^{2)4)25)~27)}。しかし、薬剤が病巣や検体中に再分泌して抗酸菌の発育を阻止する

のであれば、それは治療効果の実態を示していることにはならないだろうか。この場合問題になるのは、内服薬の口腔内残留であろう。特に PAS 服用患者に SPCN が多い⁴⁾とか、PAS では内服後18時間も影響がみられたという報告²⁹⁾は、この辺の事情を物語つていると思われる。それならば、薬剤内服後時間を経ず採痰する場合はうがいをして、改めて採取すればよいことになる。

臨床材料は分離培養にさいし、ふつうは前処理を必要とする。その種類や強さが、SPCN の頻度にある程度に関係がある。たとえば実験的には、4%水酸化ナトリウムで時間をかけて処理すると集落が1/2~1/5に減少する²⁾²⁹⁾、新しい培養菌に対し5%硫酸は1%硫酸、1%および4%水酸化ナトリウムに比べ傷害が強い³⁰⁾という古い報告がある。このような前処理操作は③の低活性菌に対しては、健全な菌に対すりよりも強い傷害を与えることもありうるであろう。低活性菌ではないが結核菌以外の抗酸菌がアルカリ処理に抵抗が弱く、濃度あるいは処理時間を増すと分離率が著しく減少し³¹⁾³²⁾、菌液では1%水酸化ナトリウム水20分処理で大部分の非定型抗酸菌は死滅する³³⁾、またこれらの菌種は酸処理よりもアルカリ処理により強く傷害される³⁴⁾⁵⁴⁾、そしてこれらの影響は対照の H₃₇Rv よりも非定型抗酸菌に著しい³³⁾³⁴⁾などの報告がみられる。結核症の減少と共に結核菌以外の抗酸菌の検出される機会が多くなつている。これらのデータは近時増加傾向のみられる SPCN 例のかかなりの部分を、このような抗酸菌が占めている可能性を推定させるものである。

更に現行の培地は必ずしも完成されたものではなく、一部の抗酸菌の発育は支持しえないこともあるという考えは古くからある。それが更に最近の抗結核薬の繁用により、抗酸菌の栄養要求変異が起こる機会が増し、慣用培地で増殖しえない菌株が多くなつているといわれている。特に INH 耐性結核菌は発育にヘミンを必要とするとか、日常検査でも卵培地だけでなくアルブミン寒天系の培地も併用すべきであるという意見がある。

したがつて、SPCN 例が変異低活性菌であれば、培地の工夫によつて培養陽性率を向上させることができるであろう。そのような試みとしては、たとえば培地に焦性ブドウ酸³⁵⁾³⁶⁾(牛型菌の分離に古くから用いられている)やリボ核酸³⁷⁾更に猿の臓器エキスを³⁸⁾添加してみたり、アルブミンで接種材料を処理するとか血清やアルブミンを加えた寒天や液状培地にも接種するなどの工夫によつて、ふつうの卵培地に発育しない材料からも一部発育することがあるという報告も多い。しかし、これらの成績を通覧すると、このような努力にも拘らず、成績が著しく向上したと思われるものはほとんどなく、特に切除肺病巣では古い文献でも否定的なものがみられる³⁹⁾⁴⁰⁾。

また切除肺材料を動物に接種した成績でも発病させ

Table 4. Growth in Extended Incubation (After 8 weeks reading)

Author	Incubation period	Number of examinations	Number of positives	Late growth	%*	Date of presentation or performance	
I	Howard et al. ⁴³⁾	25 weeks	10,000	3,502	45	1.3	III・1953
	Minomc ²⁵⁾	11 weeks	4,623	876	47	5.3	V・1956
	Kennedy ⁴⁴⁾	8 months	8,165	1,816	91	5.0	IX・1957
	Griem. ⁴⁵⁾	12 weeks		3,631	42	1.2	1957
			Number of SPCN	Late growth	%**		
II	Ogawa et al. ⁴⁶⁾	12 weeks		91	11	12.1	II・1955
	Tomita ⁴⁷⁾	26 weeks		114	21	18.4	VIII・1958
	Baba et al. ⁸⁾	4 months		1,344	78	5.8	I・1959~XII・1963
	Kudoh ²¹⁾	6 months		257	43	16.7	IV・1975~XII・1976
				203	13	6.3	I・1977~I・1978
III ²⁰⁾	A	16 weeks	685	25	2	8.0	I~III・1978
	B	"	2,213	19	2	10.4	III~IX・1978
	C	"	4,246	31	0		I~IX・1978
	E	"	16,477	206	7	3.3	IV~XII・1978
	F	"	2,803	191	42	22.0	IV~VI・1978

Late growth: Visible growth appeared after reading time at 8 weeks.

* Percentage against total number of positive specimens.

** Percentage against number of smear-positive and culture-negative cases.

た例は少ないように思われる⁴¹⁾⁴²⁾。卵培地上で発育困難あるいは劣勢発育を示すような菌株は、正常動物内でも発育が遅れ、その間に動物のもつ防御機能が働き増殖しえないことになろう。観念的には不完全な人工培地には生えなくとも、感受性動物体内では増殖する可能性も否定はできないが、これまでの経験からみて、このような例は極めてまれであるといえる。

菌株の変異によると思われるが、著しく発育の遅い菌株に遭遇する機会もまれではない。

わが国の手技書の多くは、分離培養の結果を陰性と判定するには接種培地を37Cに8週まで置くことを求めている。しかしこの判定時に培養成績が陰性であっても、培養期間を更に延長すると、後になつて弱々しい集落の発生をみることがある。表4は8週判定陰性例の培養期間を延長した成績である。この表のI欄は8週以後に発育した例の全培養陽性例に占める割合を示したもので、1.2~5.3%となつている。II、III²⁰⁾欄は塗抹陽性で8週判定時培養陰性例に対する8週以後発育例の割合で0~22%にわたつている。なおこの表の工藤の成績で1975年と1977年のデータの間に大きな差がみられる。この間の患者の背景や菌検出手技には特別な変化は見出されないが、丁度この時期に病院が改築され、従来の大型フラン器(扉の開閉による温度の動揺が大きい)に替つて温度精度の高い恒温室が採用された。このことは低活性菌の発育の遅れに、培養温度の動揺がかなりの影響を与えることを示唆している。

これらの成績にみられるように、培養期間の延長により陽性例が増加することは明らかで、特にSPCN例でその可能性が高い。少なくともSPCN例では培養期間を9週²⁵⁾、12週⁴⁴⁾、16週⁴⁷⁾まで延長する必要があるという意見がみられる。遅発育菌の大部分(そのまま85%、ADC—後述—を加えると100%)は16週までに発育するので²¹⁾、SPCN例は少なくとも16週まで観察する必要があると思われる。塗抹陰性で8週培養陰性例にも培養期間の延長を試みたが、466例の全例に6カ月までの培養で発育をみたものはなかつた⁴⁸⁾。塗抹陰性例でも培養期間延長で陽性数の増す可能性は絶無とは言えないが、日常検査ではSPCN例についてのみ本操作を試みれば足りると思われる。

また、このような培養期間の延長にさいし、8週判定時に0.1~0.2ml程度のアルブミンまたはADC(ミドルブルック培地のエンリチメント)を卵培地斜面に流入すると、いく分陽性率と集落の大きさが増す⁴⁹⁾。なお、繰り返し遅発育を示す結核菌の性状試験の成績では、ナイアシンは陽性のままであるが、本来陽性であるべき硝酸塩還元試験が陰性化し、ほとんどの菌株がINHとRFPに高度の耐性を示していた⁴⁹⁾。

④の死菌という意見は、抗酸菌が完全に死滅してもふつうはかなり長期間にわたりその形態と抗酸性が保持されているという周知の事実に基づいている。しかし、その抗酸菌が死菌であると結論づけるには、前記の①~③の理由を除外しなければならない。これは個々の例につ

いては実際には不可能に近い。染色手技で菌の生死を判定しようとする試みもあるが、いずれも不満足であるという⁵⁰⁾。

現在のところ抗酸菌の生死を知る方法としては、培養か動物による菌の発育の有無によらざるをえないのであるが、前に述べたようにこれらの手技に多くの問題点があり、しかも解決困難であるとすれば、菌側からの追求には限界があることになる。したがって次に述べるような臨床的経過や予後との関連で、SPCN 現象の意義を求めることが重要となる。

臨床的意義

これまでの論文にみられた SPCN 例の解釈は、存在しない抗酸菌を鏡検で誤認したという場合を除くと、病巣中で自然にあるいは化学療法で死滅した抗酸菌と考える場合と、菌検出手技の欠陥による生菌の検出失敗例とみる場合に大別できる。いずれもその一方だけと結論づけているものはなく、両者の場合がありうるとしているが、著者によつてこの両者への重点の置き方が異なる。

前者については化学療法の初期から、一般臨床所見は塗抹成績よりは培養成績と平行している⁵¹⁾とか、結核腫の INH による洞化の際に多くみられ、悪化例が皆無なので死菌が無害のものである⁵²⁾といった見解がみられる。また多数例について治療による排菌停止のパターンを検討した馬場⁵³⁾の報告では、入院時結核菌陽性例の排菌が停止する際、SPCN を経るものと塗抹陰性培養陽性を経るものを比べると、前者に空洞例多く後者に再悪化例が多い、また治療により陰性化した後、偶発的に菌陽性となつた 45例では SPCN が最も多く 38例で、培養のみ陽性 6、塗抹培養共陽性 1 であつた、更に SPCN 95 例の X線所見を検討して、8 例(8.4%) に変化が認められたが、1 例は洞化結核腫の縮小で、他の 7 例はチーズ化病巣の拡大、洞化、空洞の拡大などで、2 例にシューブがみられた、全般に SPCN を検出しても X線写真に変化ないし悪化を示すことは少ないと述べている。Warring¹⁴⁾は SPCN が活動性結核患者の 24%、不活動性患者の 3%、非結核性患者の 1% にみられ、活動性結核痰の 8%、不活動性結核痰の 0.6%、非結核患者痰の 0.2% に検出されたと報告している。更に病状が停止性不活動性となる経過中の SPCN は結核菌であるが、非結核性肺疾患や結核治療の遅い時期にみられるものは結核菌以外の抗酸菌である可能性が多い、したがって散発的あるいは孤立的 SPCN 材料が得られても治療法を変えず、肺結核病巣が不活動化する前に繰り返し SPCN が続いた場合にのみ薬剤の追加や増量を行なつているという。前述の塗抹染色法の信頼性の低下を主張している Boyd²⁴⁾は SPCN 群では結核の所見は少ないのに、不適当な患者対応、たとえば不必要な治療、長期の入院、更に

他疾患への診断や適切な治療を遅らせる原因となりうるとし、31例の SPCN 中 4 例の肺がん、1 例のヒストプラズマ症の診断がそのために遅れたと述べている。Viallier⁵⁵⁾も SPCN は長期に化学療法を受けている患者特に RFP 投与例に多くみられるが、塗抹標本への非病原性菌の迷入によることがあるとして注意を促している。Dominguez¹⁴⁾もこのような例の半分は化学療法によるものであるが、あとの半分は検査エラーによるものとしている。

SPCN を持続する抗酸菌の性状を検討した報告も散見される。山下⁵⁶⁾は 5 年間二次薬を用いた再治療例で常時 SPCN の抗酸菌を排出した 1 例の材料をモル腹腔内に接種し、空洞内で増殖を続ける極めて毒力の弱い菌であろうと述べ、Anz⁵⁶⁾は 3 例の持続 SPCN 例材料を低温に培養し、1 例は喀痰と胃内容から迅速発育菌を、他の 2 例の小児の胃内容、気管支洗浄液から低温発育の II 群菌を検出し、酒井⁵⁷⁾は 15 か月間 SPCN を続けた初回治療の 1 例を SC 法で培養し、コード形成を認めた。これらの菌の動物接種の成績はいずれも陰性で、ツ反も陽転していない。これらの例では持続的に SPCN を検出していても、患者自身の病状は安定しているものと思われる。

SPCN 排出例で病状が悪化したと述べているものは、前記馬場の X線写真上のシューブが少数ながら存在するという報告以外には見当たらないようである。

しかし、8 週判定 SPCN でも培養期間延長により生菌の得られる場合は必ずしも問題がないわけではない。次に自験例を述べる。

症例 1 46歳男。昭 48 発病 rII₂ 入院、塗抹 G II、培養卅、SM 200 μg/ml 未治療耐性、SM・PAS・INH 治療で排菌停止(塗・培共)、耐性判明により SM を KM に変更、昭 49.6 退院、通院不規則治療、昭 50.2 呼吸困難、G VI、卅、再入院 INH・EB、昭 51.2 退院、通院 INH・TH・EB 間欠排菌、昭 52.10 右下野へ拡大悪化 G X、卅、再入院、KM・TH・EB・EVM・RFP を投与、昭 52.12~53.9 SPCN が持続(10 ヵ月)、その間昭 53.1 右自然気胸、ドレーン、補助呼吸器装着、昭 53.2 両肺全般播種状散布影発現、昭 53.10 以降塗抹・培養共陽性となり持続排菌、昭 54.2 急性呼吸不全で死亡。昭 52.12~53.9 の SPCN のほとんどは 10 週以後に劣勢集落を発生した。全経過中ステロイドその他の問題になる薬剤は使用していない。

症例 2 41歳男。昭 45 発病 bII₂ 入院 SM・PAS・INH 治療 1 年で退院、更に SM→KM に変更 6 ヵ月で終了、昭 48.6 再治療 KM・EB・RFP (以上他医)、昭 49.8 G VII、卅 で入院、SM・EB・RFP で菌停止せず、RFP 耐性、KM・EVM・INH・PAS・EB などを試みるも不変、昭 50.9 右上葉・S⁴・S⁶ 切除、術後排菌完全に停止、昭 51.1 退院

就業，退院時左中野に拇指頭大残存病巣あり，退院後INH・EB・PAS継続，昭51.9左病巣洞化拡大，昭51.10再入院GII，III，INH・EB・CPM・RFPに高度耐性あり，KM・INH・PAS・EBを投与，菌一応陰転，昭52.4退院INH・EB昭52.7より再排菌SPCNを持続，10～16カ月で劣勢集落発生，昭53.8再度入院KM・TH・PZA投与，相変わらずSPCN持続（18カ月），昭54.1左舌区・S⁴部切，術後排菌完全に停止現在に至る。切除空洞内容膿様，培養により遅発育菌を得る。1,2例共，ナイアシン陽性。

SPCN に対する考え方

以上の展望に私見を加えて，このような例への臨床的対応を考えてみたい。

SPCN例を少なくするための培養手技改善の試みは，今後も続けるべきではあるが，これまでは本問題の解決にあまり本質的な役割を果たしているようには思われぬし，現行法でも臨床的に充分意味のあるデータが提供されている。むしろ現行法の原理を正しく理解し，その問題点を捉えて正確な実施を心掛けることが重要である。たとえば，前処理後は時間を置かず直ちに直ちに接種し，接種量は少な目にする，培養温度は極力動揺を少なくする（±1℃以内とする，長期間の培養を必要とする抗酸菌ではこの配慮は重要である），そして培養8週判定で陰性の塗抹陽性検体は必ず16週まで培養期間を延長する（8週判定の際，水，アルブミン，ADCのいずれかを少量添加するとよい）などの点を実行すれば，成績は菌の実態から大きく距ることはないと思われる。

このような充分な条件下で，SPCN例に遭遇した場合は，それが治療開始前か，RFPを含む初回治療の経過中か，過去の治療終了後か，再治療中かなどの患者の治療条件と，更に塗抹染色における菌量が微量（ガフキーII号以下）か否か，繰り返し出ているか（1カ月間隔の検査で2回以上）などを考慮することになろう。

治療開始前で塗抹微量SPCNは鏡検ミスか，迷入抗酸菌の可能性が大きい。延長培養も陰性であれば，臨床的には陰性の扱いでよいと思われる。初回強化治療の場合に培養の陰性化が塗抹陰性化よりも先行することが多いのは今や常識である。延長培養で一部陽性を示すこともあるが，一般にチーズ層の厚い空洞をもつ例に多くみられ，化学療法での正常経過とみてよい。

また強化治療で排菌停止後しばらく間を置いて，あるいは過去の化学療法が成功して長期に排菌をみない例で偶々1回だけSPCNのみられた場合も，延長培養で集落の発生をみなければ，それ以上に生きた結核菌の存在を憂慮する必要はないと思われる。しかしこれらの例でも微量ではない塗抹陽性培養陰性が繰り返し現れるときは，たとえ延長培養陰性でも再悪化の前兆でありうる。

前掲のような長期排菌者が途中からSPCNとなり，しかも延長培養陽性の場合には，菌の性状変化による発育の遅れに過ぎない。当然ふつうの排菌者と同様に対処すべきである。

ま と め

結核症の減少に伴い，SPCN例は今後もふえ続けるに違いない。このような状況下では患者発見における直接塗抹染色の意義は単にスクリーニングの域に留まることになろう。診断の最終決定は培養成績によらなければならない。治療経過中にみられるSPCN例は，現行の培養手技が正しく行なわれている限り，16週までの延長培養でも陰性であれば，これを死菌であると割り切つても臨床上差支えないと思われる。問題になるのは長い経過をもつ難治結核例におけるSPCNで，これは必ずしも予後が良いとは言えない。当然のことではあるが，SPCN例は複雑な要因によつて現れるので，以上述べた点を考慮して，個々に臨床的対応を計るのが正しいと思われる。

参 考 文 献

- 1) Collard, P. et al.: Bacteriological control of therapeutic trials in pulmonary tuberculosis, *Lancet*, 6778, 155, 1953.
- 2) 小川辰次他：結核菌の検索上どのような変化が起りつつあるか，*日本医事新報*，No. 1950, 4297, 1954.
- 3) 北沢幸夫他：喀痰中結核菌の塗抹培養同時検査の長期観察，*日本臨床結核*，13：875, 1954.
- 4) 寺山和夫：喀痰中結核菌の塗抹陽性培養陰性の現象と薬剤耐性について，*呼吸器診療*，11：207, 1956.
- 5) 瀬倉 敬：喀痰中結核菌の塗抹陽性例における培養成績，*臨床内科小児科*，11：213, 1961.
- 6) Nassau, E.: Sputum swab culture: Simple method of isolating tubercle bacilli from sputum, *Tubercle*, 39：18, 1958.
- 7) 太田秀夫：喀痰中結核菌に関する研究，とくに塗抹陰性例に関する統計的観察，*順天堂医学雑誌*，7：1, 1961.
- 8) 馬場 真他：各種可検物における結核菌の塗抹陽性培養陰性頻度とその蛍光法とZiehl-Neelsen染色法の比較，*臨床検査*，9：245, 1965.
- 9) Narain, R. et al.: Microscopy positive and microscopy negative cases of pulmonary tuberculosis, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 103: 761, 1971.
- 10) Chan, W. et al.: Bacteriological measures for the detection of cases of pulmonary tuberculosis, *Bull. Wld. Health Org.*, 45: 551, 1971.
- 11) Warring, F.C., Jr.・Sutramonkole, U.: Nonculturable acid-fast forms in the sputum of patients with tuberculosis and chronic pulmonary disease, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 102: 714, 1970.
- 12) Blair, E.B. et al.: Computer files and analyses of laboratory data from tuberculosis patients. II. Analyses of six-years' data on sputum specimens, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 113: 427, 1976.
- 13) 清水辰典：結核切除肺の病理，細菌学的検討，*日本*

- 胸部臨床, 26: 393, 1972.
- 14) Dominguez, J.M.・Vivas, E.S.: Smear-positive and culture-negative results of routine sputum investigations for the detection and therapy control of pulmonary tuberculosis, *Tubercle*, 58: 217, 1977.
 - 15) Medlar, E.M. et al.: A bacteriologic study of resected tuberculous lesions, *Amer. Rev. Tuberc.*, 66: 36, 1952.
 - 16) Canetti, G. et al.: La sterilization des lesions tuberculeuses sous chimiotherapie chez l'homme rapport principal, *Bull. I.U.A.T.*, 43: 345, 1970.
 - 17) 国立療養所化学療法共同研究班: Rifampicin を使用した初回治療の成績, *結核*, 48: 235, 1973.
 - 18) 亀田和彦・木野智慧光: 肺結核化学療法の短期化の試み, *結核*, 49: 387, 1974.
 - 19) East African/British Medical Research Councils: Controlled clinical trial of four short-course (6 months) regimens of chemotherapy for treatment of pulmonary tuberculosis: Second report, *Lancet*, 1: 1331, 1973.
 - 20) 工藤祐是: 結核菌塗抹陽性培養陰性例の培養期間延長の試み(共同研究), 第2回臨床抗酸菌談話会講演内容, 8, 1979.
 - 21) 工藤祐是: 塗抹陽性培養陰性結核菌, 臨床と細菌, 5: 359, 1978.
 - 22) Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis, National Tuberculosis Association (USA) 1955.
 - 23) Chandrasekhar, P.・Nair, S.S.: Rao, K.P. et al.: Examination of multiple sputum specimens in tuberculosis survey, *Tubercle*, 51: 255, 1970.
 - 24) Boyd, J.C.・Marr, J.J.: Decreasing reliability of acid-fast smear techniques for detection of tuberculosis, *Ann. Inter. Med.*, 82: 489, 1975.
 - 25) 蓑茂 上他: 喀痰検査における結核菌の塗抹陽性, 培養陰性についての分析的研究, *結核診療*, 10: 323, 1956.
 - 26) 小酒井望: 喀痰の塗抹検査陽性のものが培養上陰性となる理由, *診療室*, 8: 285, 1956.
 - 27) 佐藤三郎: 結核菌塗抹陽性, 培養陰性に関する実験的研究. 第1編 抗結核剤の影響に関する実験的研究, *神戸医大紀要*, 10: 712, 1957.
 - 28) 本庄茂敏: PAS, INH 内服後喀痰中への混入量とその不活性化に関する研究. 第1報 喀痰中遊離PAS濃度について, *結核*, 35: 104, 1960.
 - 29) 工藤祐是: 糞便内結核菌の培養について, *結核*, 26: 20, 1951,
 - 30) 佐藤三郎: 結核菌塗抹陽性, 培養陰性に関する実験的研究. 第2編 培養前処理に用いる酸又はアルカリの影響並に菌の培養陳旧度との関係について, *神戸医大紀要*, 10: 728, 1957.
 - 31) 小川辰次他: Improvements on methods of selective culture of acid-fast bacilli, Report III. An experiment on treatment of laryngeal swabs with low concentration NaOH solutions, *Kitasato Archiv of Exp. Med.*, 38: 17, 1965.
 - 32) 小川辰次他: 非定型抗酸菌に関する研究(6報)分離培養のための2,3の実験と1% NaOH液処理により喉頭粘液より非定型抗酸菌を分離した成績, 臨床病理, 16: 223, 1968.
 - 33) 加藤睦子: 抗酸菌の分離培養に於ける喀痰前処理方法の検討 1) 抗酸菌に及ぼすNaOHの影響, *日本衛生検査技師会雑誌*, 16: 447, 1967.
 - 34) Stein, H.E. et al.: Vergleichende Untersuchungen zur Mersolat-und Schwefelsäure-Vorbehandlung an Reinkulturen atypischer Mykobakterien, *Zshr. Erkr. Atm.*, 130: 365, 1969.
 - 35) Stonebrink, B.: The use of a pyruvate containing egg medium in the culture of isoniazid resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*, *Acta tuberc. scand.*, 35: 67, 1958.
 - 36) 小川辰次: 焦性ブドウ酸の人型結核菌の発育に及ぼす影響. 第1報 基礎実験, *日本細菌学雑誌*, 15: 306, 1960. 小川辰次他: 同上第2報 喀痰及び切除肺病巣を接種材料とした実験, 同誌, 15: 390, 1960.
 - 37) Darzins, E.・Pukite, A.: Cultivation of acid-fast organisms from tuberculous patients after prolonged and intensive treatment, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 89: 277, 1963.
 - 38) Coletsos, P.J.: Étude des facteurs intrinsèques de mycobacterium tuberculosis expliquant l'état de quiescence et les échecs de culture sur milieux usuels, *Ann. Inst. Pasteur*. 97: 290, 1959; 99: 475, 1960.
 - 39) 戸田 実・森 良一: 切除肺中の結核菌の生死に関する研究(特に Rollen Tube 法を応用した実験), *九大結研紀要*, 3: 129, 1957.
 - 40) 望月孝二: 病巣内結核菌の研究—とくにその生死について, *胸部疾患*, 2: 323, 1958.
 - 41) Beck, F.・Yegian, D.: A study of the tubercle bacillus in resected pulmonary lesions, *Amer. Rev. Tuberc.*, 66: 44, 1952.
 - 42) 原 明道他: 切除肺病巣中に於ける結核菌について, *胸部疾患*, 2: 41, 1958.
 - 43) Howard, O.P. et al.: Positive *M. tuberculosis* cultures obtained by incubation beyond the normal seven or eight week period, *Amer. Rev. Tuberc.*, 69: 307, 1954.
 - 44) Kennedy, H.E. et al.: The effect of extended incubation on propagability of tubercle bacilli, *Amer. Rev. Tuberc.*, 77: 802, 1958.
 - 45) Griem, R.: Zur Frage der Berütungsdauer bei Tuberkelbakterien-Kulturen, *M Schr. Tbk. Bekpf.*, 10: 108, 1967.
 - 46) 小川辰次・古久保文造: 結核菌培養における一つの試み, *日本臨床結核*, 14: 135, 1955.
 - 47) 富田利夫: 喀痰中結核菌の塗抹陽性培養陰性例に就て(第1報)特にその長期培養成績に就て, *共済医報*, 7: 326, 1958.
 - 48) 工藤祐是: 発育の遅い結核菌の検討, 第53回日本結核病学会講演集, *結核*, 53: 180, 1978.
 - 49) 工藤祐是: 発育の遅い結核菌の検討, 第52回日本結核病学会講演集, *結核*, 52: 126, 1977.
 - 50) 小川辰次: 結核菌の生死, 呼吸器診療, 14: 575, 1959.
 - 51) 斎藤 裕: 化学療法時患者喀痰中の結核菌検索について, *日本臨床結核*, 13: 886, 1954.
 - 52) 荒木重清: 喀痰中結核菌塗抹陽性, 培養陰性例の臨床的観察—とくに腫瘍影の洞化との関係, 呼吸器診

- 療, 15: 475, 1960.
- 53) 馬場 眞: 結核菌の塗抹培養同時検査により出現する塗抹陽性培養陰性現象の検討補遺, 日本胸部臨床, その1, 24: 813, 1965; その2, 24: 899, 1965; その3, 25: 75, 1966; その4, 25: 143, 1966; その5, 25: 247, 1966.
- 54) Viallier, M.J.: Étude critique des procédés actuels de mise en évidence des mycobactéries (bacilles tuberculeux et mycobactéries atypiques) dans les produits pathologiques et des résultats qu'ils fournissent, J. Méd. Lyon, 52: 1119, 1971.
- 55) 山下英秋他: 常時塗抹陽性培養陰性の抗酸性菌を排出した肺空洞の1症例とその考察, 日本胸部臨床, 28: 852, 1969.
- 56) Anz, W.: Zur Problematik mikroskopisch sichtbarer, aber routinemässig nicht zuchtbarer Mykobakterien, Prax. Pneumol., 23: 504, 1969.
- 57) 酒井一郎他: 結核患者にみられる“塗抹陽性・培養陰性菌”の生死, 医学と生物学, 100: 279, 1980.
- 58) Aber, V.R. et al.: Quality control in tuberculosis bacteriology. 1. Laboratory studies on isolated positive cultures and the efficiency of direct smear examination, Tubercle, 61: 123, 1980.