

総 説

Mycobacterium marinum による感染症その1. *Mycobacterium marinum* の細菌学

束 村 道 雄

国立療養所中部病院内科呼吸器科

受付 昭和62年10月29日

REVIEW : *MYCOBACTERIUM MARINUM* INFECTIONS IN HUMANS1. Bacteriology of *Mycobacterium marinum*

Michio TSUKAMURA *

(Received for publication October 29, 1987)

M. marinum strains have an intermediate growth rate between rapidly growing and slowly growing mycobacteria. However, their characteristics are similar to those of slowly growing ones. At present, this organism belongs to Group I photochromogens, but, in fact, it forms often slightly orange-pigmented colonies even when cultivated in the dark. Therefore, it is often misidentified as *M. gordonae*. The scotochromogenicity is more marked at 28°C than at 37°C. It is recommended to test the photochromogenicity at 37°C, since the organism can grow at 37°C in subculturing. The organism does not reduce nitrate to nitrite, and is resistant to $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and rifampicin (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$), but susceptible to 0.2% picric acid and 0.1% NaNO_2 in a modified Sauton agar medium. The key characteristics useful for differentiating this organism from other slowly growing mycobacteria are the utilization of ethanol as sole carbon source in the presence of ammoniacal nitrogen and the allantoinase activity.

Key words : *Mycobacterium marinum*, Identification

キーワードズ : *Mycobacterium marinum*, 同定法

Mycobacterium marinum は、元来、魚の結核症を起こす抗酸菌として報告された。その後、この菌がヒトの皮膚に感染することが知られてきた。いわゆる swimming pool granuloma または熱帯魚飼育者や漁師の皮膚潰瘍である。ところで、最近、外国で、この菌による全身播種性感染が報じられ、また、我が国でも稀に肺感染が報じられた。この日本における肺感染例報

告2例の菌を入手して調べてみると、まぎれもなく *Mycobacterium kansasii* であった。こうした経験を経ると、下司の勘繰りかもしれないが、外国の全身播種性感染を起こした菌も果たして *M. marinum* であったかどうか疑いたくなる。感染症の報告をみる時、注意を要する2点がある。第一は、菌の同定が正しく行われているのかどうかということであり、第二は、果たして感染

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

症と考えてよいのかという点である。*M. marinum* は、*M. kansasii* とともに代表的な Group I Photochromogens の一つである。従って、この総説は、*M. marinum* の細菌学と同定の問題点から始めたい。

Mycobacterium marinum の細菌学

M. marinum という名の抗酸菌は、1926年に Aronson¹⁾ によって報告された。Aronson は、Philadelphia 水族館で死んだ海水魚の脾及び肝に結節を認め、これを 2% NaOH で 37°C に 30 分ないし 1 時間処理して中和し、培養基に接種して抗酸菌を分離した。同じ抗酸菌は、腎、心嚢、眼からも分離された。集落は、初代分離の際には、18~20°C 培養で 14~18 日後に認められた。37°C では発育しなかった。しかし、継代した場合には、glycerol agar で 5~7 日で集落が発生し、集落は湿潤し、レモン色から橙色であった。この菌は、鳩、マウス、金魚、蛙に病原性を示したが、ウサギ及びモルモットには病原性はなかった。興味ある記述は、ウナギに病原性がある *M. piscium* とは性状が違うとしていることと、*M. marinum* を “chromogenic” であるとしていることである。

ところで、ここに出てきた *M. piscium* という菌であるが、この菌は、結核患者の痰で汚染された池に棲む鯉から分離された抗酸菌で、Batallion et al.²⁾ により 1902 年に、この名がつけられた。彼らは、この菌を鯉に適応した人型結核菌と考えた。glycerol agar に S 型の黄色の集落を作ると記されている。現在、*M. piscium* は *M. marinum* と同一と考えられているが、何故、先に発表された *M. piscium* の名が捨てられて、*M. marinum* の名が採用されたのか不明である。

M. marinum より後で発表されて、今日、*M. marinum* と同一と考えられているものに次の菌名がある。

*M. platyocillus*³⁾ は、メキシコの tropical platyfish (*Platyocillus maculatus*) から分離された。また、*M. balnei*⁴⁾ は、ヒトの皮膚病巣、プールの水、プールのセメント壁をかきとったものから分離された。

1962年に、Castelnuovo & Morellini⁵⁾ は、菌から抽出した可溶性抗原とウサギの免疫血清を混じて電気泳動パターンを観察し、*M. marinum*、*M. balnei* 及び *M. platyocillus* の 3 者は同一菌種であるとした。Bojalil et al.⁶⁾ も、*M. marinum* と *M. balnei* は同一であるとしている。東村⁷⁾ は、1966年に、東北大学抗酸菌病研究所の佐藤博士⁸⁾ から受領した *M. balnei* B 916 及び B 913 株、*M. platyocillus* 株、*M. ranae* L-17 株、*M. piscium* ATCC 9819 株、*M. marinum* ATCC 927 株の計数分類を行い、これら全部が同一菌種 *M. marinum* に属するものと結論した(注: 佐藤博士は、これらの株を Seattle の A. J. Ross 博士から受

領した。私は、佐藤博士の株を今野淳博士を通じて受領した)。以上の結果を踏まえて、*M. marinum* 以外の名前は使用されなくなっている。

Mycobacterium marinum の性状と同定法

今日知られる *M. marinum* の生化学的、免疫学的性状は、1960年代以後に明らかになったものである。参考までに、1958年に Parisot⁹⁾ によって記された *M. marinum* の性状を次に示す。

『形態: 抗酸性、グラム陽性、運動能なし、多形態性の縞模様のある、または連珠状の桿菌。』

培養性状: (a) 培地. glycerol agar, heart infusion broth, Petroff's medium; (b) 温度. 18~20°C。37°C で発育せず、60°C 1 時間で殺菌される; (c) 発育時間. 寒天培地で 14~18 日、継代の場合はもっと速い; (d) 集落性状. 平滑、湿潤、盛り上ったレモン黄から、古い培地では濃い橙色。

病原性: 蛙、マウス、鳩、海水魚に病原性。ウサギまたはモルモットに病原性なし。

分離源: sea bass (スズキの類)、croaker (ニベ科の魚)、sergeant major (=cow pilot, スズメダイ科の小魚)、海水魚。』

今日では、*M. marinum* は、*M. kansasii* と並んで Group I Photochromogens の代表菌種となっている。従って、*M. kansasii* との鑑別が同定のキーポイントとなる。Table 1 に、Tsukamura et al.^{10)~12)} による両者の区別点を示す。

M. marinum の性状の特徴は、次の点にあると思われる¹¹⁾¹²⁾。

(1) 発育速度は、通常の迅速発育菌よりも遅く、小川培地に継代した場合、4~6 日かかる (いずれの菌でも同じであるが初代分離では 4 週位かかる)。

(2) 新鮮分離株の集落は S 型である (ただし、継代していると大部分が RS 型ないし R 型となる)。28°C で培養すると半数の株は、暗所培養でも薄橙色に着色している。37°C で培養すると着色株は 20% 位に減少する。

(3) 長さ 2~6 μ m の抗酸性桿菌で、菌体に縞模様 (連珠) がみられる。

(4) 初代分離では 37°C に発育しない。従って、28°C に培養する必要がある。分離後の継代では、28°C と 37°C によく発育する。発育は 28°C の方が少しよい。42°C には発育しない。

(5) 0.2% *p*-aminosalicylate 含有小川培地 (PAS 培地) に発育するが、PAS を catechol に分解しない。

(6) NH₂OH · HCl 0.25 mg/ml 含有小川培地に発育する。

(7) 小川培地で rifampicin (RFP) 25 μ g/ml に耐性、5 μ g/ml ethambutol (EB) には耐性のこともあ

Table 1. Differentiation between *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium marinum*

Test	<i>M. kansasii</i>	<i>M. marinum</i>
Nitrate reduction	+	-
Tween hydrolysis (14 days)	+	-
Allantoinase	-	+
Catalase semiquantitative (foam height > 45mm)	+	-
Glucose as C source (NH ₃ -N)	+	-
Ethanol as C source (NH ₃ -N)	-	+
Resistance to NH ₂ OH · HCl, 0.25 mg/ml in Ogawa egg medium	-	+
Resistance to rifampicin, 25 µg/ml in Ogawa egg medium	-	+

Cited from references 10-12.

り、感受性のこともあり不定。

(8) 0.2% picric acid 含有 Sauton 寒天培地及び 0.1% NaNO₂ 含有 Sauton 寒天培地に発育しない。

(9) 約 20% の株が niacin test 陽性。

(10) Catalase 活性 (半定量法) 陰性。

(11) 硝酸還元陰性。

(12) Tween 80 水解, 7日後陰性, 14日後は約 20% が陽性 (この陽性株はすべて日本分離株である。日本分離株では、水解 (+) のことがあるから注意を要する)。

(13) Arylsulfatase 14日後, 陽性 (3日後, 陽性の株も稀ではない)。

(14) L-Serine, glucosamine, acetamide, benzamide, monoethanolamine, trimethylene diamine のいずれをも同時 N, C 源として利用しない。

(15) Acetate, ethanol を, ammonia 性 N 源存在下で C 源として利用するが, succinate, malate, fumarate, citrate, glucose*, mannos, galactose, arabinose, xylose, rhamnose, trehalose, inositol, mannitol, sorbitol を C 源として利用しない (* 継代株は glucose を利用する)。

(16) Amidase pattern: Urease 陽性, 60% が allantoinase 陽性, acetamidase, benzamidase, succinamidase 陰性。

M. marinum は, その一般的性状では, 遅発育性抗酸菌の性状を示すが, 他ではみられない特徴がある。それは, ethanol を C 源として利用すること及び allantoinase がしばしば陽性であることである。

Mycobacterium marinum と *Mycobacterium gordonae* との区別

同定に際して *M. marinum* と間違いやすい菌として *M. kansasii* をあげたが, もう一つ間違いやすい菌として *M. gordonae* がある。*M. marinum* は Group

I であり, *M. gordonae* は Group II であるから, 集落を見ただけで簡単に区別できそうに見えるが, 実際は, そう簡単ではない。事実, 皮膚潰瘍から分離された菌が, 「検査で *M. gordonae* と同定されたが, この菌は非病原性とされており, おかしいと思うが」といって同定を依頼され, 我々のところで精検してみると, 典型的な *M. marinum* であったことが, 2回ある。どうして, このような間違いが起こったのかということ, その原因は, *M. marinum* の集落着色にある。

M. marinum は Group I Photochromogens の 1種とされている。しかし, *M. kansasii* が暗所培養で無色の集落を作り, 光にあてて培養すると見事に黄色になるのとちがって, *M. marinum* は, 暗所で培養しても薄橙色に着色した集落を作ることが多い。特に, 28°C に培養した場合に, この傾向が強い。前述したように, 古い文献には “chromogenic” とされている。従って, この状態を scotochromogenicity とみると, *M. marinum* と *M. gordonae* の性状は, 極めてよく類似しているのだから, 容易に *M. gordonae* と誤って同定されてしまうことが了解される。特に, 簡易同定法のようにテストの数が少ない場合に, この間違いが起こりやすい¹³⁾。東村¹⁴⁾ は, この誤りを避けるために, 光発色性テストを 37°C で行うことをすすめている。37°C でテストすると, 間違いの起こるチャンスは減るが, それでも十分とはいえない。我々は, *M. gordonae* と *M. marinum* を近縁の種と考えているが, この両者を区別するためには, Table 2 のような性状の検査が必要である。この検査のやり方は, 文献 15 に記されている (文献 15 は, 求めに応じて無料で送付する)。

Mycobacterium marinum のその他の性状

M. marinum の中には, niacin 反応陽性の株が少なくない。三浦¹⁶⁾によれば, “*M. platypocillus*” の

Table 2. Differentiation between *Mycobacterium marinum* and *Mycobacterium gordonae*

Test	<i>M. marinum</i>	<i>M. gordonae</i>
Colony pigmentation in dark	—*	+
Glucose as C source (NH ₃ -N)	—	+
Ethanol as C source (NH ₃ -N)	+	—
n-Butanol as C source (NH ₃ -N)	—	+
Allantoinase	+	—

* May be slightly orange-pigmented. *M. marinum* strains markedly enhance their colony pigmentation after exposure to light.

niacin 反応陽性物質は, nicotinic acid, nicotinamide, 及び 3-pyridinemethanol であり, 人型結核菌の niacin 陽性物質と同じであるが, 人型結核菌の方が nicotinic acid の含有率が高いという¹⁶⁾¹⁷⁾。

また, Wayne¹⁸⁾ は, *M. marinum* からは, この菌特有の phenol 可溶性抗原が得られ, これにより, *M. kansasii* 及び *M. gastri* との区別が可能であるという。

Mycobacterium marinum と宿主の反応

Fenner¹⁹⁾ によれば, *M. marinum* (*M. balnei*) をマウスの肉趾に接種すると, 2, 3 日で強度の腫張が起こるといふ。菌を静脈注射しても内臓の変化は起こらない。しかし, 体毛のない皮膚や陰囊には潰瘍が生じた。発育中の孵化鶏卵に接種して 33°C に培養した場合は, 肝で菌の増殖が起こり, 鶏胚は 3~5 日後に死んだ。

Collins et al.²⁰⁾ は, 胸腺を除去したマウスの肉趾に, 37°C 発育に適応した *M. marinum* を接種したところ, 肺, 脾, 肝で菌の増殖がみられたという。この所見は, 免疫の低下した患者では, *M. marinum* の全身播種感染が起こり得ることを示唆している。

Beckman et al.²¹⁾ は, 8 例の *M. marinum* による関節囊炎 (synovitis) の組織所見を観察し, 滑液膜の肥厚と, プラズマ細胞を欠くリンパ球浸潤が存在したと述べている。肉芽腫は乾酪化傾向を示さず, Langhans 巨細胞と異物巨細胞を含んでいたと述べている。

本稿では, *M. marinum* の細菌学的特徴と同定法について述べたが, 次章では感染症の臨床について述べる。

文 献

- 1) Aronson, J. D. : Spontaneous tuberculosis in salt water fish, *J Infect Dis*, 39 : 315, 1926.
- 2) Bataillon, E. et al. : Ueber die Identität des Bacillus des Karpfiens (Bataillon, Dubard, und Terre) und des Bacillus der Blindschleimche (Moeller), *Zeitschr f Tuberk*, 3 : 467, 1902.
- 3) Baker, J. A. and Haga, W. A. : Tuberculosis of the Mexican platyfish (*Platyopocilus maculatus*), *J Infect Dis*, 70 : 248, 1942.
- 4) Linell, F. and Nordén, A. : Hudinfektioner isimhall genom ny art av *Mycobacterium*, *Nord Med*, 47 : 888, 1952 (cited from "Index Bergeyana" [eds. Buchanan, R. E., Holt, J. G., and Lessel, E. F., Jr.] p.1-1472, 1966. The Williams and Wilkins, Baltimore).
- 5) Castelnuovo, G. and Morellini, M. : Gli antigeni de alcuni dei cosiddetti "micobatteri atipici" or "anonimi". *Annali dell' Istituto Carlo Forlanini* 22 (3) : 1-20, 1962.
- 6) Bojalil, L. F. et al. : Adansonian classification of mycobacteria, *J Gen Microbiol*, 28 : 333, 1962.
- 7) Tsukamura, M. : Adansonian classification of mycobacteria, *J Gen Microbiol*, 45 : 253, 1966.
- 8) 佐藤三郎他 : 魚類抗酸菌症の諸問題, *抗酸病研究雑誌*, 16 : 176, 1963.
- 9) Parisot, T. J. : Tuberculosis of fish. A review of the literature with a description of the disease in salmonoid fish, *Bacteriol Reviews*, 22 : 240, 1958.
- 10) Tsukamura, M. et al. : Differentiation between *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium marinum*, *Am Rev Respir Dis*, 107 : 145, 1973.
- 11) Tsukamura, M. : Numerical classification of slowly growing mycobacteria, *Int J Syst Bacteriol*, 26 : 409, 1976.
- 12) Tsukamura, M. : Numerical classification of

- 280 strains of slowly growing mycobacteria. Proposal of *Mycobacterium tuberculosis* series, *Mycobacterium avium* series, and *Mycobacterium nonchromogenicum* series, *Microbiol Immunol*, 27 : 315, 1983.
- 13) Tsukamura, M. : Some considerations regarding the classification and identification of mycobacteria, *Reviews Infect Dis*, 3 : 829, 1981.
 - 14) Tsukamura, M. : Relationship between photochromogenicity and test temperature in mycobacteria, *J Clin Microbiol*, 14 : 225, 1981.
 - 15) Tsukamura, M. : Identification of mycobacteria, p. 1-90, The National Chubu Hospital, Obu, Aichi, Japan, 1984.
 - 16) Miura, Y. : 3-Pyridinemethanol, a novel metabolite of acid-fast bacilli. Reports of Research Institute for Tuberculosis, Leprosy and Cancer, 14 : 114, 1967.
 - 17) Sato, S. and Miura, Y. : Analysis of niacin-positive substances produced in mycobacteria, in particular, in those of fish origin. Reports of Research Institute for Tuberculosis, Leprosy and Cancer, 14 : 107, 1967.
 - 18) Wayne, L. G. : Phenol-soluble antigens from *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium gastri*, and *Mycobacterium marinum*, *Infection Immunity*, 3 : 36, 1971.
 - 19) Fenner, F. : The pathogenic behavior of *Mycobacterium ulcerans* and *Mycobacterium balnei* in the mouse and the developing chick embryo, *Am Rev Tuberc*, 73 : 650, 1956.
 - 20) Collins, F. M. et al. : Growth of *Mycobacterium marinum* in the footpads of T-cell-depleted mice, *Infection Immunity*, 11 : 1088, 1975.
 - 21) Beckman, E. N. et al. : The histopathology of *Mycobacterium marinum* synovitis, *Am J Clin Pathol*, 83 : 457, 1985.