

原 著

DNA プローブテストによる *Mycobacterium avium*
Complex の同定とその地理的分布

富岡 治明 ・ 佐藤 勝昌 ・ 斎藤 肇

島根医科大学微生物・免疫学教室

田坂 博信

広島大学医学部細菌学教室

受付 平成3年6月5日

IDENTIFICATION OF *MYCOBACTERIUM AVIUM* AND *MYCOBACTERIUM*
INTRACELLULARE USING THREE DNA PROBE TESTS,
AND THEIR DISTRIBUTIONS IN JAPANHaruaki TOMIOKA, Katsumasa SATO,
Hajime SAITO* and Hiromichi TASAKA

(Received for publication June 5, 1991)

Identification of *Mycobacterium avium* complex (MAC) was made using three DNA probe tests for MAC : Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the MAC (Gen-Probe Inc., San Diego, U.S.A.), AccuProbe[™] MAC Culture Identification or Confirmation Test (Gen-Probe Inc.) ; and SNAP[®] Culture Identification Diagnostic Kit (MAC) (Syngene Inc., San Diego, U.S.A.). Various strains of MAC belonging to serovars 21 to 28 were identified by the DNA probe tests and showed the following. First, Serovar 21 and 25 belonged to *M. avium* and *M. intracellulare*, respectively. Each of them reacted with species-specific probes used in the three DNA probe tests [ie., either *M. avium*-probe (in SNAP test ; Probe A) or *M. intracellulare*-probe (in SNAP test ; Probe I)]. Second, serovars 22-24 and 26-28 consisted of *M. intracellulare*, MAC strains that reacted with Probe X of SNAP test but lacked the reactivity with *M. avium*- and *M. intracellulare*-probes of all the DNA probe tests, *M. scrofulaceum* that showed no reactivity with *M. avium*- or *M. intracellulare*-probe or Probe X, and *M. scrofulaceum* that had only the reactivity with Probe X.

When the disease-associated MAC strains (35 strains), isolated in the Kanto to Kyushu areas in Japan, were identified using AccuProbe test, both the *M. avium* and *M. intracellulare* strains identified by the Gen-Probe test reacted with the MAC-probe but not with the *M. tuberculosis* complex (MTC)-probe. Three MAC strains (strains N-417, N-420 and N-428) failed to react with *M. avium*-probe and only had borderline reactivity with *M. intracellulare*-probe in the Gen-Probe test : These strains also failed to react with

* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo 693 Japan.

either the MAC- or MTC-probe in the AccuProbe test. They were, however, reacted with Probe X of SNAP test. Therefore, these peculiar strains could be identified as being Probe-X reactive MAC.

When the distribution of *M. avium* and *M. intracellulare* among the disease-associated MAC strains (123 strains) newly isolated in the western districts of Japan (Kinki to Kyushu) was studied, the ratio of *M. avium* was larger than that of *M. intracellulare* in Kinki district for those MAC strains identified using the SNAP test. On the other hand, a reverse distribution was observed for the MAC strains isolated in the Chugoku, Shikoku and Kyushu districts. This was consistent with our previous findings in the identification of disease-associated MAC strains isolated in the various districts of Japan using Gen-Probe testing.

Key words: *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, DNA probe test, Gen-Probe test, AccuProbe test, SNAP test

キーワード: *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, DNA プローブテスト, Gen-Probe テスト, AccuProbe テスト, SNAP テスト

先にわれわれは、米国の Gen-Probe 社が開発した Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the *Mycobacterium avium* complex (MAC)¹⁾ (以下 Gen-Probe テスト) の同定上の有用性とその使用条件等についての一連の検討を行い²⁾⁻⁵⁾、本同定キットにより MAC 症患者から分離され、培養・生化学的性状から MAC と同定された菌株が極めて高い sensitivity と specificity をもって *M. avium* か *M. intracellulare* に同定しうること²⁾³⁾ について報告してきた。これらのうち、MAC の Schaefer 血清型との関連についての研究において、特に血清型 22~24, 26~28 型菌株の中には培養・生化学的性状あるいは血清学的性状⁶⁾ などから MAC と同定されたにもかかわらず、Gen-Probe テストでは *M. avium* 並びに *M. intracellulare* のいずれの DNA プローブとも反応しないものが稀にあること³⁾⁷⁾ が分かった。また、本キットは ¹²⁵I 標識 DNA プローブを用いているため¹⁾ その実施施設に制約があった。

ところで、最近になって Gen-Probe 社が新たにアクリジニウムエステル標識 DNA プローブを用いた AccuProbe[™] *M. avium* or *M. intracellulare* Culture Identification Test[®] (以下 AccuProbe テスト) を、また米国の Syngene 社が *M. avium*, *M. intracellulare* および “X” と呼ぶ MAC 菌のそれぞれに特異的なアルカリフォスファターゼ標識 DNA プローブ (Probe A, I, X) を用いた SNAP[®] Culture Identification Diagnostic Kit[®] (以下 SNAP テスト) を開発し、これらは共に Gen-Probe と異なり、非放射性プローブであるためその実施はより容易と考えられた。

そこで、今回は、これらのキットを用いての MAC 菌株の同定成績の比較、SNAP テストで同定された MAC 菌株の地理的分布についての検討を行ったので以下報告する。

材料と方法

1) 供試菌株

供試 MAC は Table 1 に示すようにわが国の 17 施設から分与を受けた MAC 症患者よりの新鮮分離株 159 株並びに National Jewish Hospital and Research Center (米国), Centers for Disease Control (米国) 並びに Queensland Department of Health (オーストラリア) よりの血清型別された MAC 各 13 株、5 株および 22 株の計 40 株の総計 199 株。

2) DNA プローブテスト

(1) Gen-Probe テスト : Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the *Mycobacterium avium* Complex に添付のマニュアル¹⁰⁾ の方法に準じて行った³⁾。その概略は、小川培地上 3~4 週間培養菌を McFarland No. 1 の濃度になるように蒸留水に浮遊させ、これを “Lysing Reagent” 中で超音波処理して rRNA を抽出し、これと *M. avium* または *M. intracellulare* 各特異 DNA プローブとの間のハイブリダイゼーションを行った後、ハイブリッドをハイドロキシアパタイトに吸着させ、洗浄、遠心して沈渣中の放射活性を測定し、ハイブリッド中に取り込まれた割合 (% hybridization) を算定した (陽性値 ≥ 10 %)。

(2) AccuProbe テスト : AccuProbe[™] MAC または MTC Culture Identification または Confirma-

Table 1. Collaborating Hospitals for Collection of Disease-Associated MAC Strains

Hospital	No. of MAC strains donated
National Sanatorium Tokyo Hospital	6
National Sanatorium Chubu Hospital	5
National Sanatorium Kinki-Chuo Hospital	8
National Sanatorium Toneyama Hospital	12
Osaka Hospital of Japan Anti-tuberculosis Association	7
Osaka Prefectural Habikino Hospital	26
National Sanatorium Tuyama Hospital	8
National Sanatorium Minami Okayama Hospital	20
National Sanatorium Hiroshima Hospital	10
National Sanatorium Sanyoso Hospital	2
National Sanatorium Ehime Hospital	9
Ehime Prefectural Niihama Hospital	9
Kouchi-Shimin Hospital	13
National Sanatorium Higashi-Kouchi Hospital	3
National Sanatorium Fukuoka-Higashi Hospital	1
National Sanatorium Ohmuta Hospital	7
Koga Hospital	13
Total	159

tion Test に添付のマニュアル⁸⁾の方法に準じて行った。すなわち、小川培地上3～5週間培養菌の1標準白金耳を“Reagent 1”と“Reagent 2”の各100 μ lの混液とガラスビーズを入れた溶菌用チューブ中に浮遊させ、これを室温、15分間、超音波処理して溶菌させ rRNA を抽出する。95 \pm 1 $^{\circ}$ C、10分間の加熱処理後、この100 μ lをあらかじめ *M. avium*, *M. intracellulare* (Identification Test), MAC または *M. tuberculosis* complex (MTC) (Confirmation Test) に特異的な各 DNA プローブをコートしたプローブチューブに移し、60 $^{\circ}$ C、15分間ハイブリダイゼーションを行い、これに300 μ lの“Reagent 3” (Selection Reagent) を加え、さらに60 $^{\circ}$ C、5分間加熱する。次に、チューブをルミノメーター (Gen-Probe 社) にセットして、“Detection Reagent”を加えることにより生ずる化学発光が RLU (Relative Light Units) をもって print out される。 \geq 30,000 RLU をもって陽性と判定する。

(3) SNAP テスト : SNAP[®] Culture Identification Diagnostic Kit に添付のマニュアルの方法⁹⁾に準じて行った。すなわち、小川培地上3～5週間培養菌を“Lysis Buffer”中に McFarland No. 1 になるように浮遊させ、この1mlを“Lysis Tube”に移し、

300 μ lのクロロフォルムを加えて、Minibead Beater (Biospec Products 社、米国)で3分間激しく振盪して溶菌し、核酸を抽出する。これを3,000rpm、5分間遠心し、その上清300 μ lと同量の“Denaturation Reagent”とを、底部に“Centri-DotTM Membrane” (ナイロン膜)を装着した Centri-DotTM 中で混じてアルカリ変性し、3,000rpm、5分間遠心して核酸を“Centri-DotTM Membrane”上にプロットする。次いで、このナイロン膜を水洗後、アルカリフォスファターゼ標識 DNA プローブ (A, I, X) の各10 μ lを加えた“Hybridization Buffer”1ml中で49 $^{\circ}$ C、15分間ハイブリダイゼーションを行った後、“Wash Buffer 1”および“Wash Buffer 2”の順に洗浄した。これをアルカリフォスファターゼの基質である 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate と nitro blue tetrazolium の各5 μ lを加えた緩衝液 (“Alkaline Phosphatase Substrate Buffer”) 中で37 $^{\circ}$ C、1時間保温後、水洗し、核酸のスポット部が青紫色の発色したものを陽性、しからざるものを陰性と判定した。

結 果

1. 各 DNA プローブテストによる MAC 血清型 21

Table 2. Identification of Various Strains of MAC Serovars 21–28 by the Three DNA Probe Tests

Serovar	Strain	Origin ^{a)}	Gen-Probe (%) (Hybridization)		AccuProbe (RLU)		SNAP			Conventional identi- fication ^{b)}
			Probe		Probe		Probe			
			Avium	Intra	Avium	Intra	A	I	X	
21A	2993	NJC	36.6	1.0	513347	1333	+	-	-	MAC
21B	T77	CDC	53.0	1.7	497632	2144	+	-	-	MAC
22	S88/381	QDH	1.1	23.9	1509	376584	-	+	-	MAC
22A	5154 O'Connor	NJC	8.3	2.0	15496	1313	-	-	+	Scro. ^{c)}
22	S88/233	QDH	2.2	2.4	1410	2006	-~±	-	+	Scro.
22B	10409	NJC	0.8	1.0	2109	1223	-	-	-	Scro.
23A	CDC841B	CDC	2.0	2.3	2165	1241	-	-	+	MAC
23B	23393	NJC	6.7	2.7	3099	2308	-	-	+	MAC
23	CDC 1214	NJC	6.5	3.4	2543	1871	-	-	+	MAC
23	S88/420	QDH	1.1	1.5	2463	18847	-	-	+	MAC
24B	2154	CDC	1.0	33.9	3706	389517	-	+	-	MAC
24A	12645	NJC	8.4	2.5	1527	2115	-	-	+	MAC
24	S88/87	QDH	2.1	2.3	1342	1309	-	-	+	MAC
24	S88/294	QDH	2.4	2.1	856	1296	-	-	+	MAC
24	S88/543	QDH	2.0	1.8	1480	1564	-	-	+	MAC
25A	72-888	NJC	1.5	34.1	1515	395514	-	+	-	MAC
25B	CDC 1195	NJC	0.7	32.8	1150	433108	-	+	-	MAC
25	S88/21	QDH	1.1	27.5	1199	400224	-	+	-	MAC
25	S88/55	QDH	1.4	27.3	1227	361643	-	+	-	MAC
25	S88/90	QDH	1.1	30.9	1432	397138	-	+	-	MAC
25	S88/204	QDH	1.4	33.1	1468	324620	-	+	-	MAC
25	S88/259	QDH	1.6	32.6	738	448645	-	+	-	MAC
25	S88/334	QDH	1.2	29.3	1177	397696	-	+	-	MAC
25	S88/425	QDH	1.3	27.4	988	420464	-	+	-	MAC
25	S88/465	QDH	1.2	30.2	1051	454268	-	+	-	MAC
26	Hillberry 1244	NJC	1.4	35.2	908	437136	-	+	-	MAC
26	S87/210	QDH	6.7	1.8	708	855	-	-	+	MAC
26	S88/155	QDH	1.4	2.8	950	775	-	-	+	MAC
26	S88/175	QDH	1.5	1.9	902	1215	-	-	+	MAC
26A	Cox 1944	CDC	0.9	1.0	829	615	-	-	-	Scro.
26B	Mackenzie	NJC	0.7	1.0	731	1201	-	-	-	Scro.
27	S88/59	QDH	1.7	1.8	2167	5158	-	-	+	MAC
27	S88/234	QDH	1.3	1.5	1121	716	-	-	+	MAC
27	S88/237	QDH	1.4	2.0	1261	1118	-	-	+	MAC
27A	Harrison	NJC	0.5	0.9	2411	1098	-	-	-	Scro.
27B	Lane 3081	NJC	0.8	1.2	1332	725	-	-	-	Scro.
28A	6845	NJC	2.2	37.3	1144	411258	-	+	-	MAC
28	S87/69	QDH	1.2	29.7	1474	323825	-	+	-	MAC
28B	9055 Matthews	CDC	3.2	1.9	1285	1025	-	-	+	MAC
28	S88/101	QDH	1.5	1.2	1104	3481	-~±	-	+	MAC

a) NJC, National Jewish Hospital and Research Center ; CDC, Centers for Disease Control ; QDH, Queensland Department of Health.

b) Conventional identification was done on the basis of culture, biochemical and serological properties.

c) *M. scrofulaceum*.

～28型菌株の同定成績の比較

先にわれわれ⁷⁾は、MAC血清型1～28型菌株のGen-Probeテストによる同定を試み、それらのうち、22～24および26～28型菌の中には *M. intracellulare* と同定された菌株や、*M. avium* 並びに *M. intracellulare* のDNAプローブのいずれとも反応せず、培養・生化学・血清学的性状からMACと同定された菌株のほかに *M. scrofulaceum* と同定された菌株も混在していることを明らかにした。そこで、今回は Schaefer の血清型(1～20)にその後追加された21～28型菌を取り上げ、これらを上記3種のDNAプローブキットを用いて同定し、血清型とDNAプローブ反応性との関係についての詳細な検討を行った。

実験成績は一括して Table 2 示した。

(1) 21型(2株) : Gen-Probe, AccuProbe および SNAP Probe のいずれのテストでも *M. avium* と同定された。

(2) 22型菌(4株) : 1株(S88/381株)はいずれの方法によっても *M. intracellulare* と同定されたが、他の3菌株は Gen-Probe 並びに AccuProbe テスト陰性で、培養・生化学・血清学的性状より *M. scrofulaceum* と同定され、それらの中には SNAP テストで Probe A, I, X のいずれとも反応しなかった1株(10409株)とプローブXと反応した2株(5154 O'Connor 株, S88/233株)があった。

(3) 23型菌(4株) : いずれの菌株も培養・生化学・血清学的性状からMACと同定されたにもかかわらず、*M. avium* 並びに *M. intracellulare* の Gen-Probe あるいは AccuProbe と反応せず、SNAP Probe X と反応した。したがって、23型菌は Probe X 反応性MACと考えられた。

(4) 24型菌(5株) : 1株(2154株, *M. intracellulare*)を除くすべての菌株は *M. avium* 並びに *M.*

intracellulare の Gen-Probe あるいは AccuProbe のいずれとも反応せず、SNAP Probe X と反応した。

(5) 25型菌(10株) : 全菌株がいずれのプローブテストによっても *M. intracellulare* と同定された。

(6) 26型菌(6株) : いずれのプローブテストによっても *M. intracellulare* と同定された1株(Hillberry 1244株)を除いた5菌株は Gen-Probe 並びに AccuProbe と反応しなかった。これらの中には培養・生化学・血清学的性状から *M. scrofulaceum* と同定されたもの2株(CoX 1944株, Mackenzie 株)と、Probe X と反応したものの3株(S87/210株, S88/155株, S88/175株)があった。

(7) 27型菌(5株) : 2株(Harrison 株, Lane 3081株)は3種いずれのプローブとも反応せず、培養・生化学的・血清学的性状により *M. scrofulaceum* と同定されたが、他の3株(S88/59株, S88/234株, S88/237株)は Gen-Probe 並びに AccuProbe とは反応せず、SNAP Probe X と反応した。

(8) 28型菌(4株) : 2株(6845株, S87/69株)はいずれのプローブによっても *M. intracellulare* と同定されたが、他の2株(9055 Matthews 株, S88/101株)は3種プローブのうち SNAP Probe X とのみの反応がみられた。

2. AccuProbe テストによるMAC菌株の同定

本実験にはこれまで用いられてきた *M. avium* 並びに *M. intracellulare* の各々に特異な AccuProbe ではなく、MAC に特異な AccuProbe を用いて検討された。その結果は Table 3 に示すように、供試35菌株のうち、*M. avium* 並びに *M. intracellulare* 各 Gen-Probe で同定された *M. avium* 16株および *M. intracellulare* 19株のいずれも MAC AccuProbe と反応し、MTC AccuProbe とは反応しなかった。なお、AccuProbe テストでの *M. avium* の MAC プロ

Table 3. Identification of Disease-Associated MAC Strains Isolated in the Districts from Kanto to Kyushu in Japan by Gen-Probe and AccuProbe Tests

Species	No. of test strains	Gen-Probe test (% Hybridization)		AccuProbe test (RLU)	
		Probe ^{a)}		Probe ^{b)}	
		Avium	Intra	MAC	MTC
<i>M. avium</i>	16	52.9 (46~59)	2.1 (0.9~3.9)	414,047 (290,915~484,213)	2,215 (1,293~3,292)
<i>M. intracellulare</i>	19	4.5 (1.3~9.8)	44.8 (35~52)	325,346 (94,166~406,015)	2,190 (1,160~7,652)

a) Avium : *M. avium*, Intra : *M. intracellulare*.

b) MAC : *M. avium* complex, MTC : *M. tuberculosis* complex

Table 4. Identification of MAC Strains Showing False Positive Reactivity in Gen-probe Test, by AccuProbe and SNAP Tests

Strain	Gen-Probe test (% Hybridization)			AccuProbe test (Gross RLU)			SNAP test			
	Probe		Identifi- cation	Probe		Identi- fication	Probe			
	Avium	Intra		MAC	MTC		A	I	X	
N-417	13.6	9.4	<i>M. avium</i>	2,392	1,852	?	-	-	+	MAC
N-420	16.8	8.5	<i>M. avium</i>	1,562	1,690	?	-	-	+	MAC
N-428	22.2	11.2	<i>M. avium</i>	2,388	1,757	?	-	-	+	MAC

Table 5. Distribution of Disease-Associated MAC Identified by SNAP Test in the Western Part of Japan

District	No. of test Strains	No. of strains		
		Probes ^{a)}		
		A	I	X
Kinki	45	32 (71%)	13 (29%)	0
Chugoku	31	7 (23%)	23 (74%)	1 (3%)
Shikoku	34	10 (29%)	23 (68%)	1 (3%)
Kyushu	13	4 (31%)	8 (62%)	1 (7%)
計	123	53 (43%)	67 (54%)	3 (2%)

A : *M. avium*, I : *M. intracellulare*, X : Probe X reactive MAC

ープとの反応値は 290, 915~484, 213 (平均 414, 047 RLU) で *M. intracellulare* における値 94, 166~406, 015 (平均 325, 346 RLU) よりもやや高い傾向がみられた。

3. Gen-Probe で同定困難な MAC 菌株の AccuProbe 並びに SNAP Probe による同定成績

Table 4 に挙げた 3 菌株は、Gen-Probe テストで *M. avium* プローブとの反応値が陽性ながら低い (13.6 および 16.8) N-417 株および N-420 株の 2 菌株 (環境分離株) 並びに *M. avium* と *M. intracellulare* の両プローブとの反応値が陽性であったが *M. avium* プローブとの反応値がやや高い N-428 株 (MAC 患者分離株) の 1 菌株であるが、一応 *M. avium* と同定された菌株である。なお、これらはいずれも MAC 特異 α -抗原陽性で、培養・生化学性状よりしても MAC と同定されたものである。これらのいずれの菌株も MAC 並びに MTC のいずれの AccuProbe との反応値も陰性で同定不能であったが、SNAP テストでプローブ X と反応し、Probe X 反応性 MAC に属する菌株であった。

4. SNAP テストで同定された MAC 症患者分離 MAC 菌株の地理的分布

近畿、中国、四国、九州地方の施設で MAC 症患者喀痰より分離され、培養・生化学的性状で MAC と同定された計 123 株について SNAP テストを行ったが、*M. avium*, *M. intracellulare* 並びに Probe “X” 反応性 MAC と同定された菌株の地理的分布は Table 5 に示すようである。すなわち、先にわれわれの報告した Gen-Probe テストによる調査成績³⁾と同様、今回新たに分与を受けた菌株についての調査でも近畿地方では *M. avium* の占める割合が高く (71%)、それより以西の中国、四国、九州では逆に *M. intracellulare* の割合が高い (62~74%) という成績が得られた。なお、今回供試した計 123 株のうち、3 株 (2%) は Probe X 反応性 MAC と同定された。

考 察

MAC は非結核性抗酸菌のうち最も分離頻度の高い抗酸菌であり、近年その増加の傾向がみられている¹¹⁾¹²⁾。

本菌群は従来の培養・生化学性状によっては、*M. avium* と *M. intracellulare* に正確に鑑別することは不可能とされてきたが、最近になって Gen-Probe® Rapid Diagnostic System for the *M. avium* or *M. intracellulare* を用いることによって、これら両菌種の鑑別・同定が可能となった¹³⁾¹⁴⁾。しかしながら、本キットは¹²⁵I 標識 DNA プローブを用いているため、安全性の面から一定の安全基準を満たした施設内でしか使用できないため一般検査室でも使用しうる非放射性の DNA プローブの開発が望まれてきた。

最近、非放射性 DNA プローブである AccuProbe 並びに SNAP Probe なる迅速同定キットが米国において開発され、それらを使用する機会を得た。特に血清型別された保存菌株、MAC 症患者分離新鮮 MAC 菌株を中心にその同定試験を行ったので、得られた知見について若干の考察を加えてみたい。

Gen-Probe テストで *M. avium* あるいは *M. intracellulare* に容易に同定しえた MAC 菌株は、AccuProbe テストおよび SNAP テストのいずれの方法によっても 100% 一致した同定成績が得られたこと、他方、培養・生化学・血清学的性状から MAC と同定されたにもかかわらず、Gen-Probe テストでは *M. avium* 並びに *M. intracellulare* のいずれのプロローブとも反応しなかった菌株、あるいは *M. avium* と一応同定されたが、*M. avium* 特異プロローブとの反応値の低かった菌株は、AccuProbe テストでは両菌種特異プロローブのいずれとの反応も陽性値以下であったこと、またこのような菌株は SNAP テストで Probe X と反応する MAC の一群に属す菌株であることが明らかにされた。これは、SNAP テストが他の 2 法に比べてすぐれた点と思われるが、このような菌株は、Table 5 に示すように、MAC 症患者分離新鮮 MAC 菌株の中に占める割合は高々 2% と少なく、実用上はさほど問題にはならないのではないかと思われる。なお、このような Probe X 反応性 MAC の帰属の解明が待たれる。

AccuProbe テストは SNAP テストに比べて手技がより簡便である上に、その結果は数値で print out されてくるので、設定された cut off 値より客観的な判定が可能であるのに対して、SNAP テストでは呈色反応を肉眼的に判定するためにやや客観性に欠けるきらいがあるとも考えられるが、Probe A と I とに対する反応性は明確に識別できるので、実用上は余り問題にはならないように思われる。むしろ、Probe X と反応する MAC 菌株の中には往々にして Probe A との間に弱い交差反応を示す場合があるので、この点に留意すべきであろう。

先に、われわれ³⁾は、わが国の MAC 症患者より分離され、Gen-Probe テストで *M. avium* と *M. in-*

tracellulare に同定された菌株の地理的分布には地域差がみられ、北海道から近畿地方までは *M. avium* が、中国・四国・九州地方では *M. intracellulare* が多くなることを見出した。ところで、今回、新たに近畿地方以西で MAC 症患者より分離、収集され、SNAP テストで *M. avium* あるいは *M. intracellulare* と同定された菌株についての同様の検討でも、近畿では *M. avium* が多かったのに対して、中国・四国・九州では逆に *M. intracellulare* が多いことが認められた。しかし、このように両菌株の地域的分布差がどのような疫学的要因によるものなのかについては現在のところ全く不明といわざるをえず、今後の検討に待ちたい。

以上、非放射性プロローブを用いる SNAP テスト並びに AccuProbe テストは ¹²⁵I 標識プロローブを使用する Gen-Probe テストに比べて試験法の精度は劣ることなく、使用の簡便さの点からも勝るものと思われる。したがって、上述したような諸点を勘案するとき、まず AccuProbe テストを行い、それで極めて例外的にみられる判定不能または困難な MAC 菌株については SNAP テストを行って Probe X との反応性を調べるというステップを踏むのがよいのではなからうか。

結 語

米国の Gen-Probe 社で開発された Gen-Probe® Rapid Diagnostic System および AccuProbe™ Culture Identification Kit 並びに Syngene 社で開発された SNAP® Culture Identification Test を用いて MAC 菌株の同定を試みた結果、以下の知見をえた。

(1) MAC 21~28 血清型菌のうち、21 型菌は *M. avium*、また 25 型菌は *M. intracellulare* と同定されたが、その他の血清型 (22~24, 26~28) 菌には、*M. intracellulare* と同定されたもの、SNAP テストで Probe X との反応陽性の MAC 並びにいずれのプロローブとも反応しない *M. scrofulaceum* の菌株があった。しかし、このような極めて稀な例を除いては AccuProbe テストと Gen-Probe テストによる同定成績は極めてよく一致した。

(2) Gen-Probe で *M. avium* あるいは *M. intracellulare* いずれとも明確に同定しえなかった MAC 菌株は、AccuProbe とも反応しなかったが、SNAP Probe X との反応がみられた。

(3) 近畿地方以西の MAC 症患者から新たに分離された MAC 計 123 株の SNAP テストによる同定成績についてみると、近畿地方では *M. avium* が多かった (71%) のに対して、中国、四国、九州地方では逆に *M. intracellulare* が多く (62~74%)、先のわれわれの報告が確認された。

謝 辞

Gen-Probe, AccuProbe を御分与下さった中外製薬株式会社に深謝します。

文 献

- 1) Enns, R. K. : Clinical studies summary report : The Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the MAC : In Text by Gen-Probe Inc., 1987.
- 2) 斎藤 肇, 富岡治明, 佐藤勝昌他 : Gen-Probe[®] による *Mycobacterium avium-intracellulare* complex の鑑別・同定, 結核, 63 : 261~264, 1988.
- 3) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : Identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes, J Clin Microbiol, 27 : 994-997, 1989.
- 4) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇他 : 諸種抗酸菌の *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium avium* および *Mycobacterium intracellulare* の各特異 DNA プローブ (Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System) に対する反応性, 結核, 66 : 405~411, 1991.
- 5) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇他 : *Mycobacterium avium* complex 並びに *Mycobacterium tuberculosis* complex の DNA プローブテストにおける実験条件の検討, 結核, 66 : 381~387, 1991.
- 6) Tasaka, H., Nomura, T. and Matsuo, Y. : Specificity and distribution of alpha antigens of *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Mycobacterium scrofulaceum*, and related species of mycobacteria. Am Rev Respir Dis, 132 : 173-174, 1985.
- 7) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : Identification of various serovar strains of *Mycobacterium avium* complex by using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*, J Clin Microbiol, 28 : 1694-1697, 1990.
- 8) AccuProbe マニュアル : *Mycobacterium avium* complex culture Identification or confirmation test, Gen-Probe Inc., San Diego, C. A., U.S.A.
- 9) SNAP マニュアル : SNAP[®] culture identification diagnostic kit : *Mycobacterium avium* complex, Syngene Inc., San Diego, C. A., U.S.A.
- 10) Gen-Probe マニュアル : Gen-Probe Rapid Diagnostic System for the *Mycobacterium avium* Complex, Gen-Probe Inc., San Diego, C. A., U.S.A.
- 11) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班 : 日本における非定型抗酸菌感染症の研究, 結核, 63 : 493~499, 1988.
- 12) du Moulin, G. C., Sherman, I. H., Hoaglin, D. C. et al. : *Mycobacterium avium* complex, an emerging pathogen in Massachusetts, J Clin Microbiol, 22 : 9, 1985.
- 13) Drakes, T. A., Hindler, J. A., Berlin, O. G. W. et al. : Rapid identification of *Mycobacterium avium* complex in cultures using DNA probes, J Clin Microbiol, 25 : 1442-1445, 1987.
- 14) Kiehn, T. E. and Edwards, F. E. : Rapid identification using a specific DNA probe of *Mycobacterium avium* complex from patients with acquired immunodeficiency syndrome, J Clin Microbiol, 25 : 1551-1552, 1987.