

原 著

BACTEC 460 TB SYSTEM による結核菌  
(抗酸菌) の迅速診断法

斎藤 肇 ・ 佐藤 勝昌 ・ 富岡 治明

島根医科大学微生物・免疫学

井上 圭太郎 ・ 重藤 えり子

国立療養所広島病院

受付 平成3年7月15日

RAPID DIAGNOSIS OF MYCOBACTERIA, ESPECIALLY *MYCOBACTERIUM*  
*TUBERCULOSIS* AND *MYCOBACTERIUM AVIUM*  
COMPLEX, USING BACTEC 460 TB SYSTEMHajime SAITO\*, Katsumasa SATO, Haruaki TOMIOKA,  
Keitaro INOUE and Eriko SHIGETO

(Received for publication July 15, 1991)

Forty-five sputum specimens collected at the National Sanatorium Hiroshima Hospital were subjected to cultivation using either BACTEC 460 TB System (BACTEC method; Becton Dickinson Co., Towson, Md., U.S.A.) or 3% Ogawa egg medium. Test sputum was treated with four volumes of 4% NaOH for approximately two minutes, after which 0.1 ml of the treated sputum was immediately inoculated onto 3% Ogawa egg medium. After neutralizing the remaining pretreated sputum with 1N HCl, and diluting with 1/15 M phosphate buffer PB; pH 6.8, it was then centrifuged at 3,000 rpm for 20 min and the sediment was suspended in 1.5 ml of PB. Volumes of 0.5 ml each were inoculated into BACTEC 12B medium (4 ml), containing PANTA for prevention of contamination and POES for promoting the growth of mycobacteria.

In the BACTEC method, bacterial growth was measured in terms of increases in the Growth Index (GI) values which were determined by the amount of  $^{14}\text{C}$  released from the  $^{14}\text{C}$ -labelled palmitate during cultivation at 37°C (positive growth;  $\text{GI} \geq 50$ ). Moreover, *p*-nitro- $\alpha$ -acetylamino- $\beta$ -hydroxy-propiofenone (NAP)-sensitivity testing was done by transferring a part of the BACTEC 12B culture showing positive growth to a NAP vial, and thereafter subjected to further cultivation.

Among the 45 sputum specimens, the number of positive specimens for mycobacterial growth in the afore mentioned cultivation methods and time required for growth were as follows: 3% Ogawa egg medium, 12 specimens (27%), seven *M. tuberculosis* complex strains at 12~35 days (average 21 days), five *M. avium* complex strains at 14~21 days (average 18

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

days) : BACTEC method, 18 specimens (40%), 11 *M. tuberculosis* complex strains at 3~28 days (average 14 days), six *M. avium* complex strains at 3~10 days (average 6 days) and one *M. scrofulaceum* strain at 28 days. There were no specimens that tested positive for mycobacterial growth on 3% Ogawa egg medium but negative in BACTEC 12B medium. The BACTEC method was most efficacious in cultivating acid-fast bacilli from smear-negative sputa.

When NAP-sensitivity testing was done using the BACTEC method, mycobacteria in 11 test sputa were determined as NAP-sensitive, thereby belonging to *M. tuberculosis* complex. The fact that all of the organisms determined as NAP-sensitive using the BACTEC method were rough and nonphotochromogenic, and identified as *M. tuberculosis* complex by AccuProbe™ testing, confirmed the reliability of NAP-testing.

The mycobacteria in seven sputum specimens detected using the BACTEC method were determined as NAP-resistant. Six of them were smooth and nonphotochromogenic, and identified as *M. avium* complex by AccuProbe testing. The one remaining strain was a scotochromogen with a smooth colony morphology, and had no reaction to either the *M. tuberculosis* complex- or *M. avium* complex-AccuProbe tests. This strain was identified as *M. scrofulaceum* using an  $\alpha$ -antigen analysis.

These results indicate the usefulness of the BACTEC 460 TB system in the rapid diagnosis of mycobacteria including *M. tuberculosis* complex and *M. avium* complex.

**Key words** : Rapid diagnosis, *M. tuberculosis* complex, *M. avium* complex, BACTEC

**キーワードズ** : 迅速診断法, *M. tuberculosis* complex, *M. avium* complex, BACTEC

## はじめに

わが国における結核菌(抗酸菌)の培養には一般に小川法が用いられているが,本法では発育に長い日数を要する上に発育困難な菌の存在も知られており,よりすぐれた培地・培養法の開発が試みられてきた<sup>1)2)</sup>。

1969年 DeLand と Wagner<sup>3)</sup> は諸種一般細菌が thioglycolate broth 中の <sup>14</sup>C-d-glucose を代謝する際に遊離する <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 量を測定することによって,細菌の増殖を自動的に検出する技術を開発した。

1975年, Cummings ら<sup>4)</sup> は結核菌が 7H10 培地(寒天, グリセリン控除)中の <sup>14</sup>C-U-glycerol あるいは <sup>14</sup>C-U-acetate の脱カルボキシル化により遊離する <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 量を測定することによって 18 時間以内に菌の代謝の検出可能なラジオメトリック法を記載し,その迅速薬剤感受性試験への応用の可能性を示唆した。

その後, Middlebrook ら<sup>5)</sup> はこの測定系を改良して, <sup>14</sup>C でラベルしたパルミチン酸含有 7H12 培地(選択複合抗菌剤 PACT<sup>®</sup> 添加)を用いて喀痰材料からの結核菌の分離培養を行い,生じた <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> を自動機器で測定することによって,従来の Lowenstein-Jensen 培地や 7H10 培地を用いた方法よりも検出率を高め,かつ検出所要日数を短縮しうるとを報告した。

近年開発された BACTEC 460 TB System<sup>7)</sup> (Becton Dickinson Co., Towson, Md., U.S.A.) (以下, BACTEC 法)は Middlebrook 7H12 培地に <sup>14</sup>C パルミチン酸, 選択複合抗菌剤として Polymyxin B (50 units/ml), Amphotericin B (5  $\mu$ g/ml), Nalidixic acid (20  $\mu$ g/ml), Trimethoprim (5  $\mu$ g/ml) および Azlocillin (10  $\mu$ g/ml) (一般に PANTA と呼ばれている)並びに発育促進物質として Polyoxyethylene stearate (POES; 1 mg/ml) が添加された BACTEC 12B 培地を用い,これに前処理検体を接種,培養し,結核菌(抗酸菌)の増殖に伴って培地中に遊離する <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> を自動機器 BACTEC 460 で測定し,菌増殖の有無を知ろうとするものである。

さらに本法では *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) と非結核性抗酸菌 (NTM) の  $\rho$ -nitro- $\alpha$ -acetylamino- $\beta$ -hydroxy-propiophenone (NAP) に対する感受性差<sup>8)</sup> を利用して両者を鑑別することも可能となっている。

このたび,われわれは Becton Dickinson 社の好意により BACTEC 460 TB System を用いた患者喀痰よりの抗酸菌分離を小川法と比較検討する機会を得たので,未だ検査例数は少ないが,以下報告する。

## 材料と方法

### 1. 検査材料

喀痰は国立療養所広島病院入院患者より50ml スクリューキャップ付き遠心管（住友ベークライト，東京）に採取（平成3年1～2月）された45検体を，また，BACTEC 12B 並びに NAP 試験バイアルは日本ベクトン・デッキンソン株式会社（東京）より分与を受けたものを用いた。

### 2. 検査法の概略

(1) 菌検出法：供試喀痰の直接塗抹標本を作製後，その4倍量の4% NaOH を加えて駒込ピペットでパンピングした後，Vortex ミキサーで約2分間混和し，その0.1ml を直ちに1本の3%小川培地へ接種した。そして，残りの前処理喀痰にはフェノールレッド8 µg/ml 含有1/15M リン酸緩衝液（pH 6.8）10～20ml を加え，1N HCl で中和後，遠心管のトップリングまでリン酸緩衝液を追加，3,000 rpm，20分遠心，その沈渣に1/15M リン酸緩衝液（pH 6.8）1.5ml を加えて十分攪拌，その0.5ml を1本のBACTEC 12B バイアルへ接種後，バイアル内を5% CO<sub>2</sub>-95% 空気環境とし，37°C で培養し，他方沈渣浮遊液の1白金耳で塗抹標本を作製した。塗抹標本は Ziehl-Neelsen 染色し，200視野を鏡檢（倍率1,000倍）し，検出菌数を Gaffky 号数をもって表した。

培養成績は，小川法では集落の発育の有無を初期の3週間は週3回（毎週第3，第5および第7日），その後の5週間は週1回観察した。他方，BACTEC 法では Growth index (GI ; <sup>14</sup>C palmitic acid の代謝により生じた <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の測定値が0～999の数値として表示される) を培養初期の3週間は週3回（毎週第3，第5および第7日），その後3週間は週1回測定した。そして，GI ≥ 10 となったものを一応培養陽性と判定したが，確認のためさらに GI ≥ 50 になるまで測定を継続し，塗抹染色標本で抗酸菌陽性であったものをもって培養陽性と最終判定した。

(2) 分離菌の鑑別・同定法：MTC と NTM の鑑別には上記 GI ≥ 50 の培養液の1ml を NAP 5 µg 含有ディスクの入った BACTEC NAP 感受性試験バイアルに加え，GI の変動を6日間にわたって毎日測定し，GI が対照（元の培養バイアル）と同様に増加のみられたものは NTM，減少あるいは変化のみられなかったものは MTC と判定する。また，3%小川培地上の初代分離抗酸菌集落より0.05% Tween 80 水溶液による McFarland No. 1 の濃度に相当する菌液を調整し，その0.1ml を BACTEC 12B バイアルに接種して GI を毎日測定し，GI ≥ 50 になったものについても NAP 試験を行った。さらに BACTEC 発育陽性バイアルからの0.1

ml の1%小川培地継代菌（37°C，4～6週培養）並びに3%小川培地初代分離菌（37°C，8週培養）について，集落性状の観察並びに MTC あるいは *M. avium* complex (MAC) の DNA プローブ (AccuProbe™ : GenProbe Inc., San Diego, U.S.A.)<sup>9)</sup> との反応性の検討を，また DNA プローブ反応陰性の菌株は α 抗原分析<sup>10)</sup> を行い，これらの成績を勘案して分離菌の同定を行った。

## 結 果

培養並びに同定成績は一括して Table 1 に，またそれぞれの成績を各別にまとめたものを Table 2 および 3 並びに Fig. に示した。抗酸菌培養陽性例 (Table 1, 2) は供試 45 検体中，小川法では 12 検体 (26.7%) であったのに対して BACTEC 法では 18 検体 (40.0%) であった。それらのうち，直接塗抹陰性・培養陽性例は小川法にはなかったが，BACTEC 法では 6 検体 (13.3%) あり，うち MTC が分離されたもの 4 検体 (No. 1, 24, 27, 40)，MAC 1 検体 (No. 25)，*M. scrofulaceum* 1 検体 (No. 21) であった。これに対して，直接塗抹陽性・培養陽性例は BACTEC 法，小川法とも 12 検体 (26.7%) あった。

他方，前処理喀痰沈渣の塗抹陰性・培養陽性例は小川法にはなかったが，BACTEC 法では 4 検体あり，うち MTC が分離されたもの 2 検体 (No. 24, 40)，MAC 1 検体 (No. 25)，*M. scrofulaceum* 1 検体 (No. 21) であった。なお，前処理喀痰沈渣塗抹陽性・培養陽性例は BACTEC 法では 14 検体 (31.1%) であったのに対して，小川法では 12 検体 (26.7%) であった。なお，BACTEC 法陰性・小川法陽性のものはなかった。

次に，菌の検出所要日数 (Table 1, 3) についてみ

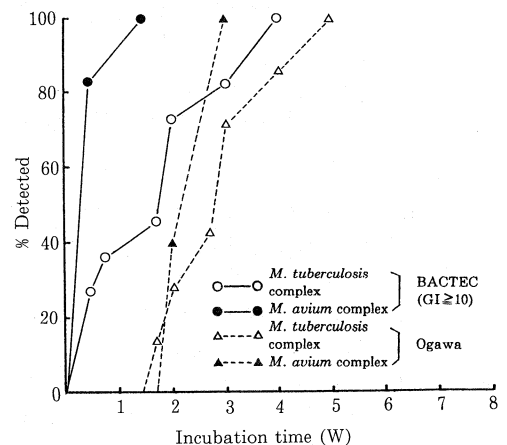


Fig. Cumulative Percentage of Positive Cultures by BACTEC and Ogawa Methods

Table 1. Isolation of Mycobacteria from 45 Sputa and Its Identification

No.	Gaffky scale		Growth		Days required for primary isolation			Colony (1% Ogawa) <sup>c)</sup>		NAP test		DNA probe test	
	Smear		BACTEC <sup>a)</sup>	3% Ogawa <sup>b)</sup>	BACTEC GI $\geq$ 10	GI $\geq$ 50	3% Ogawa	Color Type		BACTEC Ogawa	3% Ogawa	BACTEC (1% Ogawa) <sup>c)</sup>	3% Ogawa
	Direct	Concentrated											
1	0	1	+	-	14	17	-	N <sup>d)</sup>	R	S <sup>f)</sup>	-	MTC	-
6	2	6	+	≡	3	3	21	N	R	S	S	MTC	MTC
7	2	3	+	≡	5	5	19	N	R	S	S	MTC	MTC
9	6	7	+	≡	3	3	12	N	R	S	S	MTC	MTC
20	1	1	+	+	12	14	35	N	R	S	S	MTC	MTC
22	2	7	+	≡	3	5	14	N	R	S	S	MTC	MTC
24	0	0	+	-	28	28	-	N	R	S	-	MTC	-
27	0	1	+	-	28	28	-	N	R	S	-	MTC	-
40	0	0	+	-	21	28	-	N	R	S	-	MTC	-
41	1	1	+	+	14	14	21	N	R	S	S	MTC	MTC
45	1	4	+	≡	14	14	28	N	R	S	S	MTC	MTC
8	4	6	+	≡	3	3	14	N	S	R <sup>g)</sup>	R	MAC	MAC
11	1	1	+	≡	3	5	21	N	S	R	R	MAC	MAC
12	1	2	+	≡	3	5	21	N	S	R	R	MAC	MAC
25	0	0	+	-	10	10	-	N	S	R	R	MAC	-
26	1	1	+	≡	3	5	14	N	S	R	R	MAC	MAC
37	1	5	+	≡	3	5	21	N	S	R	R	MAC	MAC
21	0	0	+	-	28	28	-	Sc <sup>e)</sup>	S	R	R	-	-

a) BACTEC : BACTEC 12B vial. b) 3% Ogawa medium for primary isolation. c) 1% Ogawa medium for subculture of mycobacteria isolated in BACTEC 12B vial. d) N : Nonphotochromogenic. e) Sc : Scotochromogenic ; This strain was identified as *M. scrofulaceum* by  $\alpha$ -antigen analysis. f) Sensitive. g) Resistant.

Table 2. Isolation of Mycobacteria from 45 Sputa by Ogawa and BACTEC Methods

Culture medium	Positive culture			
	Direct smear		Concentrated semar	
	Negative	Positive	Negative	Positive
3% Ogawa	0	12 (26.7%)	0	12 (26.7%)
BACTEC 12B	6 (13.3%)	12 (26.7%)	4 (8.9%)	14 (31.1%)

ると、小川法では MTC と同定された 7 菌株では 12~35 日 (平均 21 日), MAC と同定された 5 菌株では 14~21 日 (平均 18 日) で、これら MTC および MAC 菌株ともすべて直接塗抹陽性検体より分離されたものであった。他方、BACTEC 法では MTC と同定された 11 菌株では GI $\geq$ 10 を陽性値とすれば 3~28 日 (平均 13 日), GI $\geq$ 50 を陽性値とすれば 3~28 日 (平均 14 日) で、これらのうち塗抹陰性検体よりの分離 4 菌株では GI $\geq$ 10 を陽性値とすれば 14~28 日 (平均 23 日), GI $\geq$ 50 を陽性値とすれば 17~28 日 (平均 25 日) であり、

また塗抹陽性検体よりの分離 7 菌株では GI $\geq$ 10 を陽性値とすれば 3~14 日 (平均 8 日), GI $\geq$ 50 を陽性値とすれば 3~14 日 (平均 8 日) であった。

また、MAC と同定された 6 菌株についてみると、GI $\geq$ 10 を陽性値とすれば 3~10 日 (平均 4 日), GI $\geq$ 50 を陽性値とすれば 3~10 日 (平均 6 日) で、これらのうち塗抹陰性検体より分離の 1 株では 10 日, 塗抹陽性検体より分離の 5 菌株では GI $\geq$ 10 を陽性値とすれば 3 日, GI $\geq$ 50 を陽性値とすれば 3~5 日 (平均 5 日) であった。なお、*M. scrofulaceum* と同定された 1 菌株は直

**Table 3.** Recovery Times of *M. tuberculosis* Complex and *M. avium* Complex from 45 Sputa, Using Ogawa and BACTEC Methods

Culture medium	<i>M. tuberculosis</i> complex						<i>M. avium</i> complex					
	Direct smear						Direct smear					
	Positive/Negative		Negative		Positive		Positive/Negative		Negative		Positive	
	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days
3% Ogawa	7	12~35(21)	0		7	12~35(21)	5	14~21(18)	0		5	14~21(18)
BACTEC 12B GI $\geq$ 10	11	3~28(13)	4	14~28(23)	7	3~14(8)	6	3~10(4)	1	10	5	3(3)
GI $\geq$ 50	11	3~28(14)	4	17~28(25)	7	3~14(8)	6	3~10(6)	1	10	5	3~5(5)

In parentheses, mean days are indicated.

接, 処理喀痰沈渣塗抹とも陰性検体より28日培養後に分離されたものであった。

MTCおよびMACについて, 累積培養陽性率をFig. に示したが, 1週間以内ではBACTEC法ではMTCで36.4%, MACで83.3%であったのに対し, 小川法では皆無であり, また2週間以内ではBACTEC法ではMTCで72.7%, MACで100%であったのに対し, 小川法ではMTCで28.6%, MACで40%であった。また4週間以内ではBACTEC法ではMTC並びにMACとも100%であったのに対し, 小川法ではMTCで85.7%, MACで100%であった。

次に, 分離培養法による培地汚染率は, 小川法では供試45検体中2検体(4.4%)みられたのに対してBACTEC法では皆無であった。

分離抗酸菌について集落性状の観察, NAP感受性試験およびDNAプローブ試験の結果はTable 1に示すとおりである。これから分かるように, 3%小川初代分離培養菌でも, またBACTEC 12B分離培養菌の1%小川継代培養菌でも集落は遅発育, nonphotochromogenic, R型で, NAP感受性, MTCのDNAプローブと反応し, MTCと同定された菌株がBACTEC法では培養陽性18株中11株, 小川法で培養陽性12株中7株あった。他方, 集落は遅発育, nonphotochromogenic, S型で, NAP抵抗性, MACのDNAプローブと反応し, MACと同定された菌株がBACTEC法で6株, 小川法で5株であった。また, BACTEC法では発育所要日数28日, scotochromogenic, S型集落で, NAP抵抗性, DNAプローブと反応せず, *M. scrofulaceum*の $\alpha$ 抗原を有する*M. scrofulaceum*と考えられる1菌株が分離された。

実験に供した患者喀痰のうち, BACTEC法と小川法のいずれでも菌が検出されたものは多剤耐性の持続排菌症例が多く含まれており, 小川法では菌が検出されず

BACTEC法のみで検出された症例の背景は, (1)入院後2~3カ月のもの(No. 1, 24), (2)菌陰性化のため化学療法を行っていないが, 長期入院あるいは入退院を繰り返しているもの(No. 25, 27), (3)カリエスの病巣から結核菌は検出されているが, 肺の結核病巣はレ線上認められないもの(No. 40), および(4)入院(平成2年12月)後, 結核菌が一度検出されたもののその後陰性化したもの(No. 21; 本症例は今回*M. scrofulaceum*が検出された)のようであった。なお, 全45症例の内, 非結核性抗酸菌症例は6例である。

## 考 察

BACTEC法を用いた結核喀痰培養に関する諸家の報告<sup>11)~15)</sup>によれば, 結核菌塗抹陰性・陽性材料を問わず, 本法では従来の培養法よりも菌検出率において優り, また発育所要日数が短縮されるという。

ところで, 今回, われわれが結核喀痰(45検体)について行ったBACTEC法と小川法による抗酸菌の比較培養成績においても, BACTEC法が菌検出率のみならず菌検出所要日数の点からみても従来法に優ることを明らかにしえた。すなわち, 菌検出率についてみると, 培養陽性例はBACTEC法(40%)において小川法(26.7%)におけるよりも高く, なかでも注目すべきことは直接塗抹陽性例では両法間に差はなかった(26.7%)が, 直接塗抹陰性・培養陽性例は小川法にはなかったのに対して, BACTEC法では13.3%(6検体)あり, そのうちMTCが分離されたものが67%(4検体)もあったことである。

また, 前処理喀痰塗抹陽性・培養陽性例では両法間に大差はなかった(小川法, 26.7%; BACTEC法, 31.1%)が, 前処理喀痰塗抹陰性・培養陽性例はBACTEC法で4検体(8.9%)あり, そのうちMTCが分離されたものが2検体あったことは注目に値する。なお, 直接

並びに前処理喀痰塗抹とも陰性で非結核性抗酸菌培養陽性であった7検体のうち2検体は小川法陰性・BACTEC法陽性であった。

次に、菌検出所要日数についてみると、MTCでは小川法で12~35日(平均21日)を要したのに対し、BACTEC法で3~28日(GI $\geq$ 10, 平均13; GI $\geq$ 50, 平均14日)であり、MACでは小川法で14~21日(平均18日)を要したのに対し、BACTEC法では3~10日(GI $\geq$ 10, 平均4日; GI $\geq$ 50, 平均6日)であった。

今、これを塗抹陰性検体と陽性検体よりの菌検出所要日数についてみると、直接塗抹陰性検体よりは、MTC、MACとも培養陽性例は小川法ではなかったのこれはおくとして、BACTEC法ではMTCは14~28日(GI $\geq$ 10, 平均23日; GI $\geq$ 50, 平均25日)、MACは10日(GI $\geq$ 10, GI $\geq$ 50)であったのに対して、直接塗抹陽性検体よりはMTCは小川法12~35日(平均21日)、BACTEC法3~14日(GI $\geq$ 10, 平均8日; GI $\geq$ 50, 平均8日)であり、またMACは小川法14~21日(平均18日)、BACTEC法3~5日(GI $\geq$ 10, 平均3日; GI $\geq$ 50, 平均5日)であった。

Aoki<sup>16)</sup>、青木<sup>17)</sup>はわが国では菌陽性結核患者は咳が出始めてから平均3.52月で診断されており、その間に平均4~5人に感染させていると推定されていると述べているが、上述の塗抹陰性で小川法で培養陰性の検体にBACTEC法陽性で結核菌の分離された4例があったこと、またBACTEC法において小川法におけるよりも菌検出所要日数を著しく短縮することは極めて重要な意義を有するものといえよう。

NAPは5 $\mu$ g/mlの濃度でMTCの発育を阻止するが、NTMは阻止されることが報告されている<sup>8)</sup>。今回のわれわれの検体でも培養性状並びにDNAプローブテストによりMTCと同定された全菌株がNAP感受性であり、他方、MACあるいは*M. scrofulaceum*と同定された菌株ではNAP抵抗性であった。本テストはBACTEC 12B培地が発育陽性と判定されて5~6日でMTCかNTMかの鑑別が可能であり、その点ではナイアシンテストよりも早期に行いうるという点において優っているものといえよう。

今回の実験においてはDNAプローブテストは小川培地上の発育菌を用いて行ったが、KiehnとEdwards<sup>18)</sup>の報告にみられるようにBACTEC 12B培地発育菌(GI=999)を用いればMTCおよびMACの同定はより早く行いうるであろう。

以上の成績より、患者喀痰よりの結核菌(抗酸菌)の検出にはBACTEC法が検出率、発育所要日数並びに結核菌とその他の抗酸菌との鑑別可能なNAP試験を行いうるという観点からして小川法よりも遙かに優れたものと言えよう。しかし現在のところ、BACTEC法に用

いる培地には放射性物質(<sup>14</sup>C palmitic acid)が含まれているため本検査法は一般検査室では行い得ないという難点があるが、この問題解決の検討も現在なされつつあり、一般検査室でも行いうる非放射性培地を用いた検査法が近い将来開発されるであろうことが期待される。

## 結 語

結核患者喀痰45検体について小川法とBACTEC 460 TB System (BACTEC法)による抗酸菌の培養成績について比較検討し、概略以下に述べるような知見を得た。

1) 抗酸菌培養陽性例は小川法では12検体(26.7%)であったのに対してBACTEC法では18検体(40%)であった。

2) 塗抹陽性検体では小川法とBACTEC法とでは培養陽性率に差はみられなかったが、塗抹陰性検体ではBACTEC法のみで培養陽性であったものが6検体(13.3%)あり、うち*M. tuberculosis complex*の分離されたものが4検体、*M. avium complex* 1検体、*M. scrofulaceum* 1検体であった。

3) *M. tuberculosis complex* および *M. avium complex* の累積陽性率は1週間以内ではBACTEC法で各36.4%および83.3%、小川法では0、また2週間以内ではBACTEC法で各72.7%および100%、小川法で各28.6%および40%であった。

4) 菌検出所要日数は*M. tuberculosis complex*では小川法で平均21日、BACTEC法で平均14日、また*M. avium complex*では小川法で平均18日、BACTEC法で6日であった。

5) NAPテストは*M. tuberculosis complex*を非結核性抗酸菌から鑑別する上に簡便にして有用な方法である。

## 謝 辞

BACTEC 12B並びにNAP試験バイアルを分与頂いた日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、Accu-Probeを分与頂いた中外製薬株式会社並びに分離菌の $\alpha$ 抗原検出にご協力頂いた広島大学医学部田坂博信博士に深謝致します。

## 文 献

- 1) 斎藤 肇: 抗酸菌の分離と同定の実際, 臨床検査, 34: 400~404, 1990.
- 2) 斎藤 肇: 結核菌検査法の進歩, 臨床と研究, 67: 2341~2346, 1990.
- 3) DeLand, F. H. and Wagner, H. N.: Early detection of bacterial growth, with carbon-14-labeled glucose, Radiology, 92: 154-155, 1969.

- 4) Cummings, D. M., Ristroph, D., Camargo, E. E. et al. : Radiometric detection of the metabolic activity of *Mycobacterium tuberculosis*, J Nucl Med, 16 : 1189-1191, 1975.
- 5) Middlebrook, G., Reggiardo, Z. and Tigertt, W. D. : Automatable radiometric detection of growth of *Mycobacterium tuberculosis* in selective media, Am Rev Respir Dis, 115 : 1066-1069, 1977.
- 6) Mitchison, D. A., Allen, B. W., Carrol, L. et al. : A selective oleic acid albumin agar medium for tubercule bacilli, J Med Microbiol, 5 : 165-175, 1972.
- 7) Siddiqi, S. H. : BACTEC TB System. Product and Procedure Manual, Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, Maryland, U.S.A., 1988.
- 8) Siddiqi, S. H., Hwangbo, C. C., Silcox, V. et al. : Rapid radiometric methods to detect and differentiate *Mycobacterium tuberculosis* /*M. bovis* from other mycobacterial species, Am Rev Respir Dis, 130 : 634-640, 1984.
- 9) AccuProbe マニュアル : *Mycobacterium avium* Complex Culture Confirmation Test ; *Mycobacterium tuberculosis* Complex Culture Confirmation Test, Gen-Probe Inc., San Diego, CA., U.S.A.
- 10) 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.
- 11) Morgan, M. A., Horstmeier, C. D., De-Young, D. R. et al. : Comparison of a radiometric method (BACTEC) and conventional culture media for recovery of mycobacteria from smear-negative specimens, J Clin Microbiol, 18 : 384-388, 1983.
- 12) Damato, J. J., Collins, M. T., Rothlauf, M. V. et al. : Detection of mycobacteria by radiometric and standard plate procedures, J Clin Microbiol, 17 : 1066-1073, 1983.
- 13) Roberts, G. D., Goodman, N. L., Heifets, L. et al. : Evaluation of the BACTEC radiometric method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from acid-fast smear-positive specimens, J Clin Microbiol, 18 : 689-696, 1983.
- 14) Park, C. H., Hixon, D. L., Ferguson, C. B. et al. : Rapid recovery of mycobacteria from clinical specimens using automated radiometric technic, Am J Pathol, 81 : 341-345, 1984.
- 15) Kirihara, J. M., Hillier, S. L. and Coyle, M. B. : Improved detection times for *Mycobacterium avium* complex and *Mycobacterium tuberculosis* with the BACTEC radiometric system, J Clin Microbiol, 22 : 841-845, 1985.
- 16) Aoki, M. : A method to estimate the coverage of tuberculosis case-finding in the community, TSRU Progress Report 1987, 2 : 167-173, 1987.
- 17) 青木正和 : 結核症の新しい展開, 化学療法の領域, 5 : 624-630, 1989.
- 18) Kiehn, T. E. and Edwards, F. F. : Rapid identification using a specific DNA probe of *Mycobacterium avium* complex from patients with acquired immunodeficiency syndrome, J Clin Microbiol, 25 : 1551-1552, 1987.