

原 著

Gemella haemolysans 培養濾液添加培地を用いての
喀痰中抗酸菌の迅速培養

近藤正治・田上千津子・新宮正久

久留米大学医学部微生物学教室

梶村克成

久留米大学病院中央臨床検査部

宮路哲夫

八女公立病院臨床検査科

井村好文

国立療養所大牟田病院研究検査科

江川重信・外山之紀

福岡県立遠賀病院検査科

谷口 暁・原口 雄次郎

中央医学検査研究所

肥 高 勲

国立療養所福岡東病院研究検査科

受付 平成3年7月29日

RAPID DETECTION OF MYCOBACTERIA IN SPUTA USING MEDIA SUPPLEMENTED
WITH CULTURE FILTRATE OF *GEMELLA HAEMOLYSANS*

Masaharu KONDO*, Chizuko TANOUE, Masahisa SHINGU, Katsunari KAJIMURA,
Tetsuo MIYAJI, Yoshihumi IMURA, Shigenobu EGAWA, Yukinori HOKAYAMA,
Akira TANIGUCHI, Yujiro HARAGUCHI and Isao HIDAKA

(Received for publication July 29, 1991)

*From the Department of Microbiology Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-machi, Kurume 830 Japan.

The effect of the culture filtrate *Gemella haemolysans* in enhancing mycobacterial growth has been previously demonstrated. In the present studies, an attempt was made to confirm whether the addition of the filtrate into the medium would be an effective method to promote the rapid detection of mycobacteria in sputum specimens of patients.

One-hundred and one sputum specimens pretreated with NaOH were inoculated with various media (Dubos, Dubos-agar, 1% Ogawa, Kudo PD, and Middlebrook 7H9) supplemented with the culture filtrate of *Gemella haemolysans* grown in blood-BHI or blood-HEM at the dilutions of 1/32 or 1/64. Addition of the filtrate reduced the amount of time required to detect mycobacterial growth (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium* complex, and *M. kansasii*) by an average of 60~70%. The media containing the filtrate formed significantly larger numbers of colonies compared with the control media, and those colonies inoculated developed more rapidly in size.

The findings clearly indicated that the culture filtrate promotes the effective growth of mycobacteria which cannot or only slowly grows in ordinary media. Also indicated was that the addition of the culture filtrate of *Gemella haemolysans* into media provides as a useful tool to allow the rapid diagnosis of mycobacterial diseases.

Key words : *Gemella haemolysans*, Mycobacteria, Rapid detection, Growth enhancement, Culture filtrate

キーワードズ : *Gemella haemolysans*, 抗酸菌, 迅速培養, Growth enhancement, 培養濾液

菌検査は結核の確定診断に役立ち、菌検出は治療方針に重要で迅速に検出する方法が望まれる。近藤らは¹⁾、抗酸菌に対し衛星現象様像をつくらせる *Gemella haemolysans*²⁾ 株を発見分離し、この発育支持増強力をもつ菌株培養濾液を従来の培地に³⁾ 加えることで抗酸菌を迅速に検出できることを見出した。

今回、結核患者喀痰を用いて *G. haemolysans* 近藤株の種々の培養濾液と添加量および添加培地³⁾ について検討し、喀痰からも迅速に抗酸菌を検出できる所見を得たので報告する。

方 法

1. 添加濾液の作成

衛星現象様像を作らせる *G. haemolysans* 近藤株を BHI (brain heart infusion), SCD (tryptosoi) および HEM (Hémoline performances diphasique) に各々ヒト血液を7%の割合に加えた培地で37°Cで4日間培養後、3000rpm 20分遠心し0.45μm フィルターで濾過、これら濾液(以下各々、B.BHI.G.h, B.SCD.G.h., B.HEM.G.h. とする)を-20°Cに保存、添加培地作製時にそのつど溶解し使用した。

2. 濾液添加培地の作製

Dubos 培地 (Eiken) および Dubos 寒天を滅菌し、50°Cに冷却後、各濾液を1/32×~1/128×終末濃度になるよう加え、試験管に6.5ml 分注し、液体および斜

面培地として使用した。Middlebrook 7H9 液体培地 (MB チェック M ボトル「ロシュ」) には、B.BHI.G.h 濾液を1/64×終末濃度に添加し使用した。1%小川培地および工藤 PD 培地との比較は、1%小川培地成分および工藤 PD 培地成分(リン酸2水素カリウム2g, グルタミン酸ナトリウム0.5g, クエン酸マグネシウム0.1g, 可溶性でんぷん3.0g を精製水100ml に溶解後、121°Cで15分滅菌し冷却後、全卵液200ml, 濃グリセリン4ml, 2%マラカイトグリーン4ml, ビルビン酸0.2ml 加える)に B.BHI.G.h を1/32×終末濃度に添加後、試験管に6.5ml 分注、87°Cで2回、斜面凝固滅菌後使用した。

3. 患者喀痰の処理と培養検出法

各施設の1989年10月~91年3月までの入院および外来患者で過去1回以上塗抹陽性者の喀痰101検体を用いた。これらの喀痰に2% NaOH 液を等量加え30分処理し0.1ml を各々の培地 (Dubos 培地, Dubos 寒天培地, MB チェック M ボトル「ロシュ」, 1%小川培地, 工藤 PD 培地およびこれら培地に *G. haemolysans* 近藤株各濾液添加培地) に接種後、37°Cで9週間培養し、固形培地では肉眼的可視コロニー形成時を、液体培地では菌発育を容易に確認できる混濁 (*M. tuberculosis* 1.0 × 10⁷ cfu/ml) を、比濁液 (*M. tuberculosis* H37Rv 株培養菌をメノウ乳鉢中ですりつぶしながら少量 Dubos 液体培地、ついで生理的食塩水で菌液を作

表1 喀痰中 *M. tuberculosis* の発育混濁 (1.0×10^7 cfu/ml) を容易に確認できる培養日数と短縮日数

(Control. Dubos 1W~9W)

| 培養区分* | 検体数 | ガフキー号数 | B.BHI.G.h. 1/64× /Dubos | B.BHI.G.h. 1/128× /Dubos | B.SCD.G.h. 1/64× /Dubos | B.SCD.G.h. 1/128× /Dubos | B.HEM.G.h. 1/64× /Dubos |
|--|-----|--------|---|---|---|--|---|
| 3w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 11 | 4.9 | 13.3/21 7.7 (63.3%) | 13.3/21 7.7 (63.3%) | 15.6/19.4 3.8 (80.4%) | 17.1/19.4 2.3 (88.1%) | 14.0/21.0 7.0 (66.7%) |
| 4w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 9 | 3.0 | 17.2/24.8 7.6 (69.4%) | 17.0/24.3 7.3 (70.0%) | | | 16.4/24.8 8.4 (66.1%) |
| 5w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 11 | 3.1 | 19.8/32.5 12.7 (60.9%) | 24.8/34.5 9.7 (71.9%) | 28.0/33.0 5.0 (84.8%) | 30.0/33.0 3.0 (90.9%) | 21.1/31.3 10.2 (67.4%) |
| 6w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 9 | 4.4 | 20.5/37.9 17.4 (54.1%) | 23.0/36.0 13.0 (63.9%) | 28.0/40.0 12.0 (70.0%) | 28.0/40.0 12.0 (70.0%) | 20.4/38.1 17.7 (53.5%) |
| 7w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 4 | 2.0 | 28.7/45.3 16.6 (63.4%) | | | | 28.3/46.3 18.0 (61.1%) |
| 8w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 10 | 2.7 | 36.3/54.4 18.1 (66.7%) | 41.5/54.0 12.5 (76.9%) | 30.5/53.5 23.0 (57.0%) | 33.0/53.5 20.5 (61.7%) | 38.5/55.0 16.5 (70.0%) |
| 9w以内 培地平均 短縮日数 所要率 | 3 | 2.7 | 36.0/61.3 25.3 (58.7%) | 34.0/62.0 28.0 (54.8%) | 32.5/62.0 29.5 (52.4%) | 37.5/62.0 24.5 (60.5%) | 28.0/60.0 32.0 (46.7%) |
| 全検体 培地別平均 短縮日数 所要率 検体数 ガフキー号数 | 57 | 3.5 | 23.7/37.9 14.2 (62.5%) n=44 Guf = 3.7 | 24.3/36.1 11.8 (67.3%) n=15 Guf = 3.7 | 21.9/32.8 10.9 (66.8%) n=14 Guf = 3.9 | 24.0/32.8 8.8 (73.2%) n=14 Guf = 3.9 | 24.4/38.7 14.3 (63.0%) n=30 Guf = 3.2 |

* Dubos 液体培地発育

る。800 rpm 5分遠心後、上清液を McFarland 標準液 No. 1.0 濃度菌液にし、この菌液を希釈し小川培地で菌数を算定、ホルマリンで不活化した濃度菌液)と比較し、菌検出日数とした。

結 果

濾液添加 Dubos 液体培地での喀痰中 *M. tubercu-*

losis 検出培養日数および短縮日数を表1に示した。添加培地/無添加培地で検出日数を比較した。平均検出で、B.BHI.G.h. 1/64×添加培地では23.7日、無添加培地は37.9日(検出所要率100%)で14.2日の短縮(62.5%)、B.HEM.G.h. 1/64×添加培地は14.3日(63.0%)、B.SCD.G.h. 1/64×添加培地は10.9日(66.8%)、B.SCD.G.h. 1/128×添加培地は8.8日(73.2%)の短

表2 喀痰中 *M. avium* complex の発育混濁 (1.0×10^7 cfu/ml) を容易に確認できる培養日数と短縮日数

| (Control. Dubos 1~28日) | | | | |
|------------------------|------------|------------|---------------------------|---------------------------|
| 患者 No | 依頼施設 患者 | ガフキー 号数 | B.BHI.G.h 1/64× /Dubos | B.HEM.G.h 1/64× /Dubos |
| 92 | O-4 | 0 | 7/11 | |
| 93 | KN-2 | 2 | 11/15 | 11/15 |
| 94 | T-10 | 3 | 9/10 | 9/10 |
| 95 | O-4 | 0 | 8/14 | 7/14 |
| 96 | O-7 | 2 | 12/16 | 12/16 |
| 97 | O-9 | 0 | 12/16 | 12/16 |
| 98 | O-12 | 0 | 12/21 | |
| 99 | O-15 | 0 | 10/16 | 9/16 |
| 100 | O-14 | 0 | 18/28 | 18/28 |
| 全検体平均 | | 0.8 | | |
| 培地別平均 | | | 11.0/16.3 | 9.8/16.4 |
| 短縮日数 | | | 5.3 | 6.6 |
| 所要率 | | | (67.5%) | (59.8%) |
| 培地別検体数 | | | n=9 | n=7 |
| 検体別ガフキー号数 | | | Gf=0.8 | Guf=1.0 |

縮を得た。

表には示していないが、内容的には、14日/35日(40.0%)、14日/37日(37.8%)、12日/37日(32.4%)、19日/56日(33.9%)、29日/60日(48.3%)、28日/60日(46.7%)と、B.BHI.G.h. 1/64×およびB.HEM.G.h. 1/64×添加培地で迅速な検出検体があった。また、無添加培地では検出できないにもかかわらず、B.BHI.G.h. 1/64×添加培地およびB.HEM.G.h. 1/64×添加培地では検出できたものが、3件あった(37日/未検出、33日/未検出、54日/未検出)。

喀痰中 *M. avium* complex 検出を表2に示した。平均でB.BHI.G.h. 1/64×添加培地が11.0日/16.3日(67.5%)、B.HEM.G.h. 1/64×添加培地は9.8日/16.4日(59.8%)で検出し、*M. avium* complex 検出でも同様に迅速化された。

患者喀痰中 *M. tuberculosis* 検出の固形培地における初発コロニーの肉眼的可視所要日数を表3に示した。患者No.78のDubos寒天培地およびB.BHI.G.h. 添加Dubos寒天培地での50日目のコロニー形成所見を図1に示した。B.BHI.G.h. 1/64×添加Dubos寒天培地およびB.BHI.G.h. 1/128×添加Dubos寒天培地には、大きいコロニー形成があり、特に1/64×添加培地は、より多くのコロニー数形成が観察された。添加培地は、発育不良菌や劣勢発育菌の発育を促進し迅速検出を可能とした。

各種卵固形培地におけるコロニー形成で、1%小川培地とB.BHI.G.h. 1/32×添加工藤PD培地を比較する

と、3w以内では平均18.0日が13.7日(76.1%)、4w以内は23.3日が16.3日(70.0%)、8w以内では37.9日が25.2日(66.5%)で観察され、遅発育菌ほど短縮し検出した。これら平均で1%小川培地27.0日(100%)、工藤PD培地22.0日(81.5%)、B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤PD培地は、18.4日(68.1%)であり、近藤ら¹⁾が報告した1%小川培地添加培地での短縮と同様、工藤PD培地添加ではさらに短縮し、*M. tuberculosis*を検出した。

最近検出される結核菌には、小川培地では発育が悪く、微小コロニーしか生えて来ないものが増加している。特にINH高度耐性菌はこのようなものが多い。図2に、患者No.67の工藤PD培地、B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤PD培地および1%小川培地検出での培養22日目コロニー所見を示した。小川培地で優勢発育を示す菌株では、あまり著明ではないが、その中でもB.BHI.G.h. 1/32×添加工藤培地でのコロニー検出は早く、初発コロニーの肉眼的可視までの期間を短くし発育を促進した。

図3に、患者No.72の1%小川培地とB.BHI.G.h. 1/32×添加工藤PD培地で検出の培養29日目のコロニー所見を示した。B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤PD培地は、1%小川培地での微小発育菌や劣勢発育菌を、著しく発育促進させコロニー検出を早くした。図では示していないが工藤PD培地もB.BHI.G.h. 添加工藤PD培地と同様の所見を示した。

図4に、患者No.66の工藤PD培地とB.BHI.G.h. 1/32×添加工藤PD培地での検出26日目の培養所見を

表3 固形培地における初発コロニーの肉眼的可視所要日数

(患者略痰中 *M. tuberculosis*)

| 患者 No | ガフキー号数 | 1%小川培地 ^{a)} | 工藤 PD 培地 ^{b)} | B.BHI.G.h 1/32× 工藤 PD 培地 ^{c)} | Dubos 寒天培地 | B.BHI.G.h. 1/64× Dubos 寒天培地 |
|--------------------------------|--------|-----------------------|------------------------|---|-----------------------|--------------------------------|
| 61 | 6 | 15 | 14 | 11 | 19 | 11 |
| 62 | 4 | 16 | 14 | 12 | | |
| 63 | 6 | 18 | 18 | 15 | | |
| 64 | 7 | 19 | 15 | 13 | | |
| 65 | 7 | 19 | 15 | 14 | | |
| 66 | 5 | 21 | 20 | 17 | 26 | 20 |
| n = 6 ^{d)} 5.8 所要率 | | 18.0 100.0% | 16.0 88.9% | 13.7 76.1% | 22.5 125.0% | 15.5 86.1% |
| 67 | 8 | 22 | 17 | 15 | 23 | 18 |
| 68 | 9 | 22 | 19 | 13 | | |
| 69 | 10 | 22 | 19 | 15 | | |
| 70 | 10 | 22 | 24 | 22 | | |
| 71 | 4 | 25 | 15 | 15 | 18 | 15 |
| 72 | 1 | 27 | 18 | 18 | 29 | 26 |
| n = 6 ^{e)} 7.0 所要率 | | 23.3 100.0% | 18.7 80.3% | 16.3 70.0% | 23.3 100.0% | 19.7 84.5% |
| 73 | 3 | 29 | 22 | 22 | 26 | 26 |
| 74 | 2 | 30 | 26 | 26 | 27 | 26 |
| 75 | 2 | 31 | 27 | 26 | 35 | 26 |
| 76 | 4 | 38 | 33 | 28 | 31 | 28 |
| 77 | 3 | 39 | | 23 | | |
| 78 | 2 | 43 | 32 | 26 | 38 | 35 |
| 79 | 2 | 55 | 48 | | 34 | 24 |
| n = 7 ^{f)} 2.6 所要率 | | 37.9 100.0% | 31.3 82.6% | 25.2 66.5% | 31.8 83.9% | 27.5 72.6% |
| 培地別平均 | | | | | | |
| 所要日数 | | 27.0 | 22.0 | 18.4 | 27.8 | 23.2 |
| 短縮日数 | | 0 | 5.0 | 8.6 | 0 | 4.6 |
| 所要率 | | 100.0% (27.0/27.0) | 81.5% (22.0/27.0) | 68.1% (18.4/27.0) | 103.0% (27.8/27.0) | 85.9% (23.2/27.0) |
| 検体数 | | n = 19 | n = 18 | n = 18 | n = 11 | n = 11 |
| ガフキー号数 | | Guf = 5.0 | Guf = 5.1 | Guf = 5.1 | Guf = 3.5 | Guf = 3.8 |

a) N 社市販製品 b) NB 社市販製品 c) 自家製品 d) 3w 以内発育 e) 3w~4w 発育 f) 4w 以降発育

示した。初発コロニーの肉眼的可視所要日数ではあまり差がないが、B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地ではコロニー数を多く、工藤 PD 培地の発育不良遅発育菌をも迅速に検出した。

図5に、*M. avium* complex 検出の患者 No.96 の24日目 Dubos 寒天添加培地発育所見を、図6に、1%小川培地、工藤 PD 培地および B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地所見を示した。*M. avium* complex は SmT と SmD 集落形態⁴⁾⁵⁾ が観察され、添加培地は、特に SmD コロニーを早く大きくし、SmT も迅速

に検出した。

図7に、*M. kansasii* を検出した患者 No.101 の24日目の1%小川培地、B.BHI.G.h. 1/32×添加1%小川培地、工藤 PD 培地および B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地発育所見を示した。B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地は、コロニー形成数が特に良好で、1%小川培地、および B.BHI.G.h. 1/32×小川培地での発育不良菌や劣勢発育菌を検出し、工藤 PD 培地より数多く早く検出した。

表4に1%小川培地、Middlebrook 7H9 液体培地

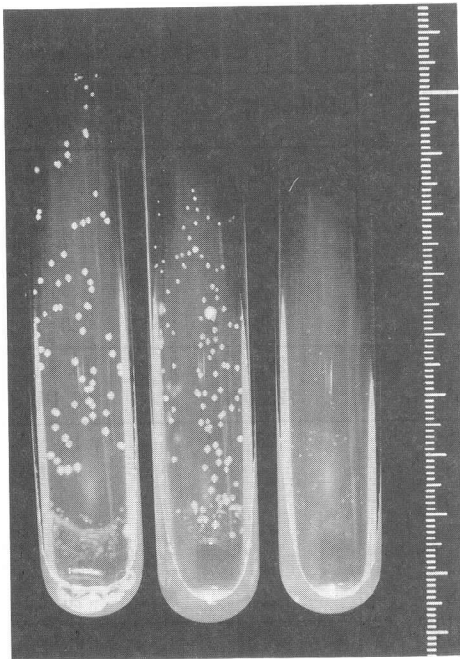


図1 劣勢発育を示す菌の添加培地での発育
M. tuberculosis 50日目(患者 No. 78), B. BHI.G.h. 1/128×添加 Dubos 寒天培地(左), B. BHI.G.h. 1/64×添加 Dubos 寒天培地(中央), Dubos 寒天培地(右)

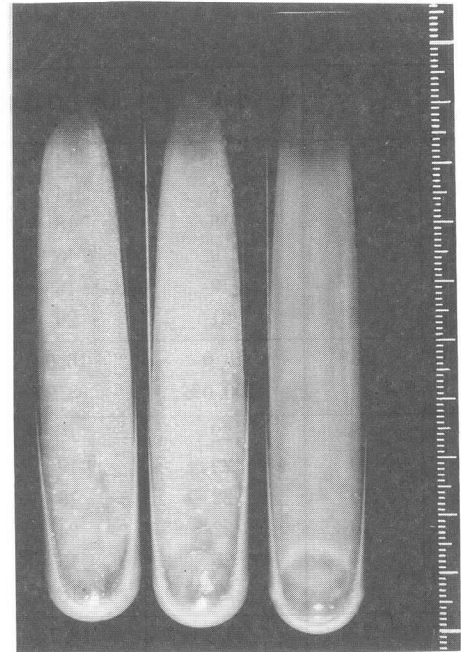


図2 優勢発育を示す菌の添加培地での発育
M. tuberculosis 22日目(患者 No. 67), 工藤 PD 培地(左), B. BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地(中央), 1%小川培地(右)

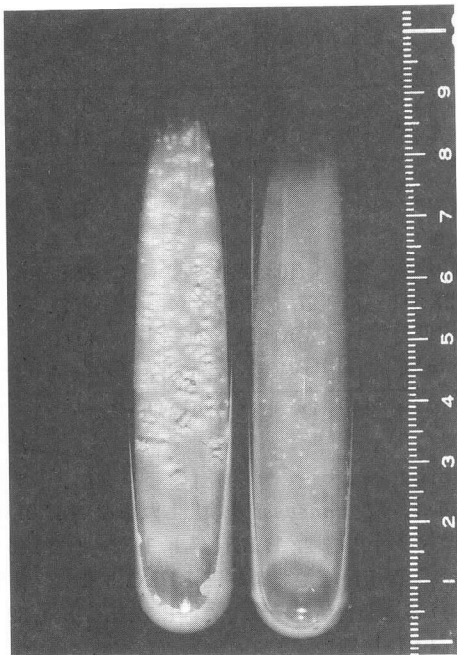


図3 微小発育を示す菌の添加培地での発育
M. tuberculosis 29日目(患者 No. 72), B. BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地(左), 1%小川培地(右)

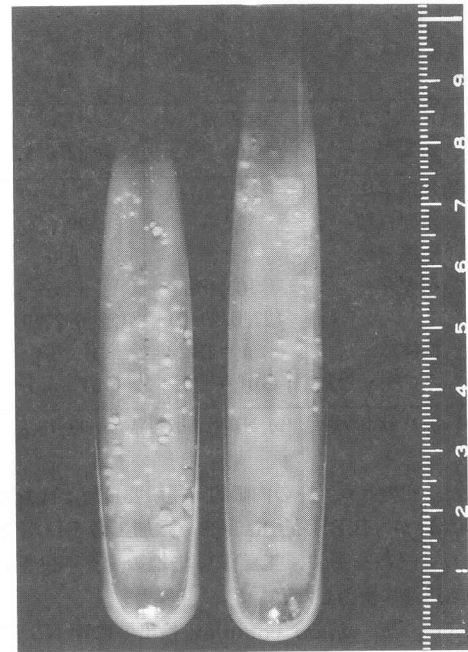


図4 発育不良遅発育を示す菌の添加培地での発育
M. tuberculosis 26日目(患者 No. 66), B. BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地(左), 工藤 PD 培地(右)

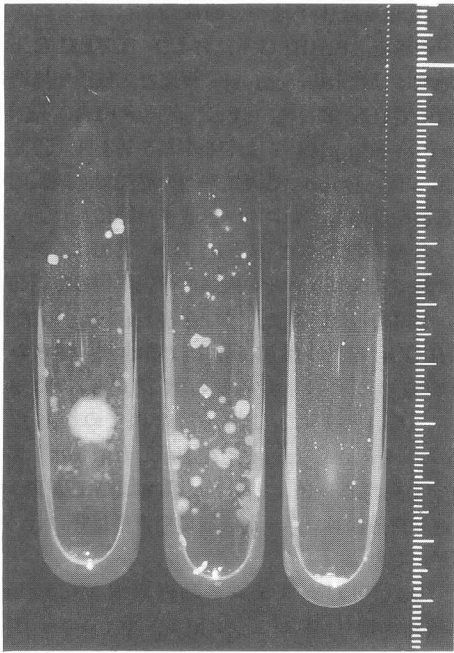


図5 微細で劣勢発育しか示さない菌の添加培地での発育

M. avium complex 24日目(患者No. 96),
B.BHI.G.h. 1/128×添加 Dubos 寒天培地(左),
B.BHI.G.h. 1/64×添加 Dubos 寒天培地(中央),
Dubos 寒天培地(右)

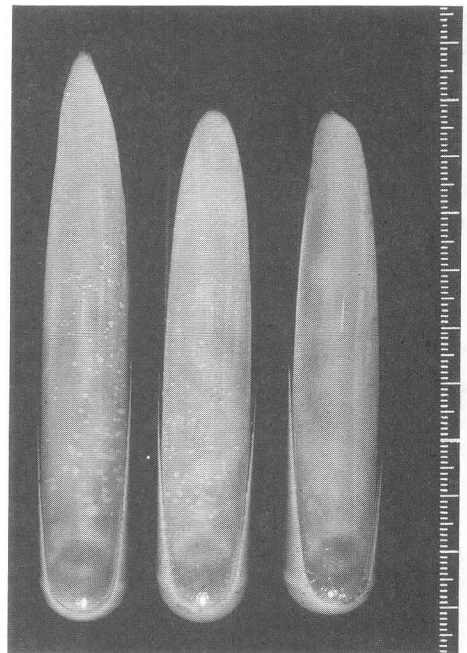


図6 微細で劣勢発育しか示さない菌の添加培地での発育

M. avium complex 24日目(患者No. 96),
B.BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地(左),
工藤 PD 培地(中央), 1%小川培地(右)

(MB チェック M ボトル) および B.BHI.G.h. 1/64×添加 MB チェック M ボトルでの *M. tuberculosis* 検出日数を示した。検出率は、1%小川培地 33.3%, M ボトルおよび B.BHI.G.h. 1/64×添加 M ボトルは 58.3% であった。MB チェック M ボトルおよび B.BHI.G.h. 1/64×添加 MB チェック M ボトルが検出率が良好であった。三者の検出日数(所要率)は、27.0日(100%), 25.1日(93.0%), 20.7日(76.7%)で、M ボトルと B.BHI.G.h. 1/64×添加 M ボトルの両者では検出率は違わないが、後者でより早く検出、濾液添加で迅速化がなされた。

図8に患者No.90の32日目培養所見を示した。すでに B.BHI.G.h. 1/64×添加 M ボトルでは混濁があり、菌発育を肉眼的に確認観察できた。

考 察

RFP を含む強力な化学療法の普及に伴い、今後は、微量排菌を重視し排菌の有無を明確にする必要と、塗抹陽性培養陰性例が問題になり菌検出方法が検討されている⁶⁾¹¹⁾。また非結核性抗酸菌の臨床的意味が重視され、迅速検出同定法が検討されている⁷⁾⁻¹⁰⁾¹²⁾。

これらの中の1つの BACTEC TB460 システムは

¹⁴C 標識の Middlebrook 7H 12B 液体培地を使用、遊離される ¹⁴C でラベルされた炭酸ガスの量を測ることで迅速に検出、同定可能との報告がある。一方、DNA プローブの開発から鑑別同定が試みられている。前者は病院検査室あるいは検査センターでの利用となると問題が残る。1つはハザード対策、もう1つは放射性物質である。肉眼的混濁所見やコロニー形態観察は、臨床検査室での薬剤感受性検査および同定検索に重要なものがある。*Gemella haemolysans* 近藤株培養濾液には抗酸菌を迅速に発育させる物質が存在し、従来の液体培地および各種卵培地に添加するだけの簡便さで発育の迅速化を、また劣勢発育菌や発育不良菌の発育を促進し検出できることが確かめられた。これらから従来の検査室で、しかも従来の検査法で使用でき、さらに前処理の工夫で、より検出率を高め、迅速化が可能であろう。また迅速同定の Middlebrook 液体培地を基礎とした BACTEC システムや、DNA プローブ法にも応用でき、診断、薬剤感受性検査の迅速化、そして治療に役立つものと思われる。

ま と め

Gemella haemolysans 近藤株のヒト血液加 BHI

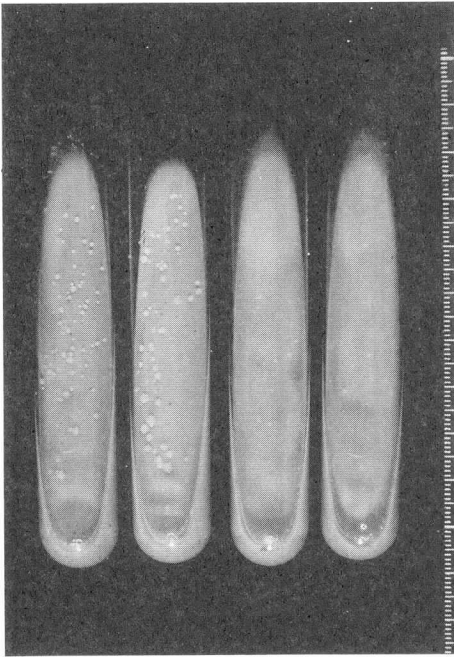


図7 *M. Kansasii* の添加培地での発育
M. Kansasii 24日目 (患者 No. 101), B. BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地 (左), 工藤 PD 培地 (左より2番目), B. BHI.G.h. 1/32×添加1%小川培地 (左より3番目), 1%小川培地 (右)

(B. BHI.G.h.), SCD (B. SCD.G.h) および HEM (B. HEM.G.h) 培養濾液を従来の抗酸菌用培地に添加し、結核患者喀痰101検体中の抗酸菌の迅速検出培養を試み、以下の知見を得た。

1. Dubos 液体培地への濾液添加は、終末濃度1/64×量が適当で、B. BHI.G.h. および B. HEM.G.h. 添加培地では *M. tuberculosis* 検出で、無添加培地の平均発育所要日数38日を、24日 (所要率62%) 前後に、*M. avium* complex では、16.4日を9.8日 (59.8%) で検出した。Dubos 寒天培地への添加でも肉眼的可視所要日数を短縮し、コロニー形成を良好にした。

2. 各種卵培地への B. BHI.G.h. 添加は、終末濃度1/32×量で初発コロニーの肉眼的可視所要日数 (発育所要率) を短縮した。特に、*M. tuberculosis* の検出で、B. BHI.G.h. 1/32×添加工藤 PD 培地は、従来の1%小川培地での平均発育所要日数27.0日 (100%) を18.4日 (68.1%) に、工藤 PD 培地での検出22.0日 (81.5%) を、さら上回る短縮を示した。また1%小川培地での発育不良菌、劣勢発育菌および工藤 PD 培地での遅発育菌のコロニー形成後の発育を良好にし、観察を容易にした。

3. BACTEC システムの基礎培地 Middlebrook 7H9 液体培地 (MB チェック M ボトル「ロシュ」) への添加でも迅速化がなされた。M ボトルの25.1日 (100%) を、B. BHI.G.h. 1/64×添加M ボトルでは20.7日 (82.5%) で検出した。

4. *Gemella haemolysans* 培養濾液には抗酸菌を迅速に発育させる物質が存在し、濾液添加培地は、従来の培養法で *M. tuberculosis*, *M. avium* complex および *M. kansasii* を、60%~70%前後の所要日数 (所要率) で検出、微小コロニー形成菌には著明な発育促進効果を示し、従来の液体培地および固形培地での発育不良菌、および劣勢発育菌をも迅速に検出した。

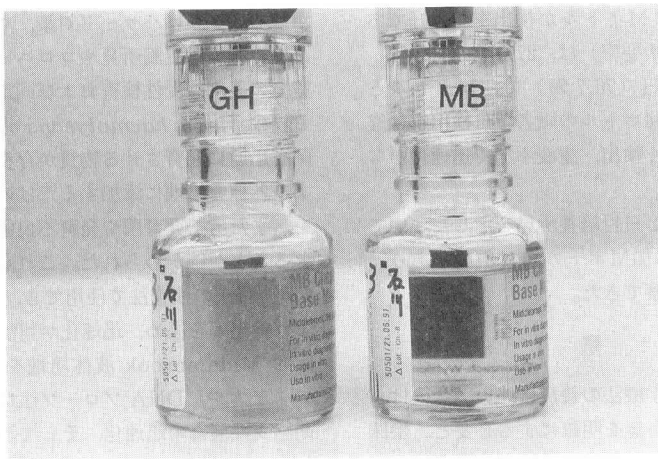


図8 MB チェック M ボトル添加培地での発育
M. tuberculosis 32日目 (患者 No. 90), B. BHI.G.h. 1/64×添加 MB チェック M ボトル培地 (左), MB チェック M ボトル (右)

表4 Middlebrook 7H9 液体培地 (MB チェックMボトル) に
濾液添加時の検出所要日数

| 患者 No | ガフキー 号数 | (患者喀痰中 <i>M. tuberculosis</i>) | | |
|----------|------------|---------------------------------|---------------------------|--|
| | | 1%小川培地 ^{a)} | MB チェックMボトル ^{b)} | B.BHI.G.h 1/64× MB チェックMボトル ^{b)} |
| 80 | 2 | 25 | 21 | 13 |
| 81 | 3 | 27 | 27 | 24 |
| 82 | 2 | 未検出 | 26 | 24 |
| 83 | 6 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 84 | 2 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 85 | 3 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 86 | 4 | 未検出 | 21 | 13 |
| 87 | 2 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 88 | 1 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 89 | 2 | 未検出 | 27 | 24 |
| 90 | 0 | 40 | 37 | 32 |
| 91 | 5 | 16 | 17 | 15 |
| 培地別平均 | | | | |
| 検出日数 | | 27.0 | 25.1 | 20.7 |
| 検出率 | | 33.3% (4/12) | 58.3% (7/12) | 58.3% (7/12) |
| 所要率 | | 100.0% (27.0/27.0) | 93.0% (25.1/27.0) | 76.7% (20.7/27.0) |
| 検体数 | | n = 12 | n = 12 | n = 12 |
| ガフキー号数 | | Guf = 2.7 | Guf = 2.7 | Guf = 2.7 |

a) N 社市販製品 b) R 社市販製品

文 献

- 1) Kondo, M., Tanoue, T., Yamamoto, S. et al. : Enhanced growth of mycobacteria by culture filtrate of *Gemella haemolysans*, Kurume Med J, 37 : 141-147, 1990.
- 2) Bergey's manual of sistematic bacteriology (1986). vol. 2 : 1081-1082.
- 3) 柳沢 謙 : 微生物検査必携, 細菌・真菌検査, 第3版, F 90~133, 日本公衆衛生協会, 1987.
- 4) 佐藤勝昌・斎藤 肇・富岡治明他 : 市販 Dubos 培地の抗酸菌発育支持能の比較, 結核, 63 : 507~511, 1988.
- 5) 束村道雄 : *Mycobacterium avium* complex における集落形成, 抗結核剤感受性, 発育速度および Dubos 液体培地中での発育能力の相互関係, 結核, 64 : 753~759, 1989.
- 6) 高橋 宏 : 塗抹陽性培養陰性とその対策, 結核, 65 : 29~33, 1990.
- 7) Damato, J. J., Collins, M. T. and Rothlauf, M. V. : Detection of mycobacteria by radio-metric and standard plate procedures, J Clin Microbiol, 17 : 1066-1073, 1983.
- 8) Drake, T. A., Hindler, J. A. and Berlin, O. G. : Rapid identification of *Mycobacterium avium* complex in culture using DNA probes, J Clin Microbiol, 25 : 1442-1445, 1987.
- 9) Kiehn, T. E. and Edwards, F. F. : Rapid identification using aspecific DNA probe of *Mycobacterium avium* complex from patients with acquired immunodeficiency syndrome, J Clin Microbiol, 25 : 1551-1552, 1987.
- 10) Saito, H., Tomioka, H. and Sato, K. : I-identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes, J Clin Microbiol, 27, 994-997, 1989.
- 11) 斎藤 肇 : 結核菌検査法の進歩, 臨床と研究, 68 : 8, 35~40, 1990.
- 12) 津田美奈子, 加古恵子, 末次 勲 : 非定型抗酸菌症, 臨床と研究, 68 : 8, 99~104, 1990.