

## 今村賞受賞記念講演

## I. 抗酸菌症の細菌学的診断に関する基礎的研究

阿部 千代治

結核予防会結研  
受付 平成6年6月13日

Commemorative Lecture of Receiving Imamura Memorial Prize

I. STUDIES ON BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC METHODS  
FOR MYCOBACTERIA

Chiyoji ABE\*

(Received 13 June 1994)

Two systems, radiometric BACTEC and biphasic MB-Check, based on liquid media proved to be significantly better than the egg-based solid media for the isolation of mycobacteria from clinical specimens. The difference in the rates of isolation of mycobacteria between two groups of media was more remarkable with smear-negative specimens. The time to the detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex with MB-Check was shorter than that with the 3% Ogawa egg method but longer than that with BACTEC.

The polymerase chain reaction (PCR) using oligonucleotides based on the repetitive sequence (IS986) of *M. tuberculosis* as a primer and the Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test (MTD), which combines an *M. tuberculosis* rRNA amplification method with the hybridization protection assay format, were evaluated for detection of *M. tuberculosis* in clinical samples. Although the sensitivities of the PCR and MTD appeared to be similar to that of culture with the MB-Check system, the two methods based on nucleic acid amplification should be very useful for rapid detection of *M. tuberculosis* infections without the long time required for culture of *M. tuberculosis*.

Epidemiological studies with techniques which allow differentiation of strains within *M. tuberculosis* groups are important for limiting the dissemination of the disease. We analyzed six groups of small outbreaks of *M. tuberculosis* infections by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. Five showed identical fingerprints within each group, but one which as also suspected to have a common source of infection showed different banding patterns, emphasizing that RFLP analysis using IS986 as a probe is useful in epidemiological studies of tuberculosis.

The Avi-3 antigen, which is found only in *M. avium* culture sonic extracts, is species specific and results in strong skin test activity in guinea pigs sensitized with heat-killed *M.*

---

\* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-shi, Tokyo 204 Japan.

*avium*. Its gene was cloned and sequenced. The gene encoded a 194-amino-acid polypeptide with a molecular weight of 21,500. A recombinant Avi-3 antigen expressed in *Escherichia coli* reacted with monoclonal and polyclonal antibodies raised against the native Avi-3 antigen. To identify epitopes on this protein, various parts of the Avi-3 antigen were expressed as  $\beta$ -galactosidase fusion protein. A B-cell epitope (Asn-176 to Ala-186) and two T-cell epitopes (Glu-75 to Ile-86 and Arg-155 to Leu-164) were thus defined. The synthetic polymerized peptides of the T-cell epitopes were proved to elicit a delayed cutaneous hypersensitivity reaction in guinea pigs.

**Key words** : MB-Check, BACTEC, Polymerase chain reaction, Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test, RFLP analysis of *M. tuberculosis*, *M. avium* specific antigen

**キーワード** : MB-チェック, BACTEC, 核酸増幅法, 結核菌の RFLP 解析, *M. avium* 特異抗原

結核罹患率減少速度の鈍化, 非結核性抗酸菌症の増加, 塗抹陽性患者の増加と集団感染の頻発, 在日外国人の結核, 高齢者の結核など, わが国の結核の現状はこれまでとは大きく様変わりしてきた。また目を外国に向けてみると HIV 陽性者 (エイズ患者) の抗酸菌感染が大きな問題となっており, 迅速かつ有効な臨床細菌検査法の開発が望まれていた。

### 1. 患者材料からの抗酸菌の分離培養

ラジオアイソトープ標識基質を用いた BACTEC 法および液体培地と寒天培地の二相からなる MB チェックと従来からの卵培地を用いる小川法で患者材料からの抗酸菌の分離率および検出までに要する時間を測定し, それらシステムの間で比較した<sup>1)~3)</sup>。245 例の喀痰を処理して 86 (35.1%) 例から抗酸菌が分離された (Table 1)。これらのうち 3% 小川法陽性は 65 (75.6%),

BACTEC 法陽性は 80 (93.0%), MB チェック法陽性は 81 (94.2%) であり, 液体培地を基礎とした 2 システムの分離率が 3% 小川法と比べ有意に高かった ( $P < 0.01$ )。MB-チェックは 65 塗抹陽性材料から分離された 37 *Mycobacterium tuberculosis* 分離株の 100% と 180 塗抹陰性材料からの 12 分離株の 83.3% を検出した。一方, 3% 小川法の検出割合は 89.2% と 50.0% であった。すなわち塗抹陽性と陰性材料の両者からの抗酸菌の分離率は, 液体を基礎とした 2 システムが従来からの卵を基礎とした培地より勝れており, この差は塗抹陰性例でより顕著であった。

*M. tuberculosis* complex の検出までに要する平均日数は MB チェックで 19.1 日, BACTEC で 13.4 日, 3% 小川法で 21.9 日であった。培地の汚染は 3% 小川法で 5.3% にみられたが, MB チェック, BACTEC では 1% 以下であった。

**Table 1** Isolation of Mycobacteria from 245 Sputum Specimens in Different Media

Species (n)	No. of isolates (%)			
	3% Ogawa	Ogawa K	MB-Check	BACTEC
TB (49)	39(79.6)	37(76.5)	47(95.9)	47(95.9)
MAC (31)	24(77.4)	26(83.9)	28(90.3)	30(96.8)
Other (6)	2(33.3)	3(50.0)	6(100)	3(50.0)
Total (86)	65(75.6)	66(76.7)	81(94.2)	80(93.0)

TB : *M. tuberculosis*

MAC : *M. avium* complex

Other : Mycobacteria other than TB and MAC

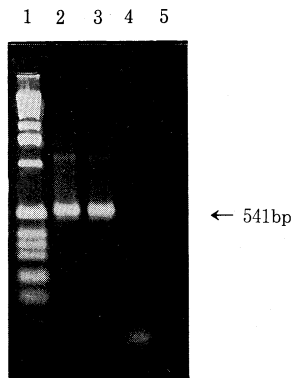
これらの結果は、液体を基礎としたMBチェックとBACTECシステムが臨床材料からの抗酸菌の分離に非常に有効であることを示している。BACTECシステムは放射性物質を使用しているため、使用後のボトルの廃棄の問題があり日本で臨床検査に取り入れるのは困難と考えられるが、MBチェックはすでに多くの病院検査室などで取り入れられ、良好な成績が得られている。

## 2. 核酸増幅法による結核菌の迅速検出

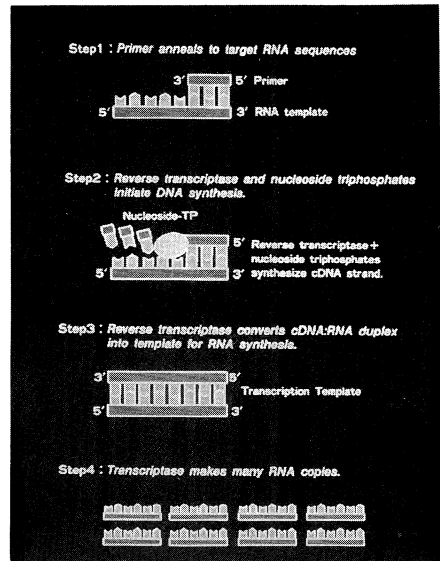
ここ数年、PCRによる抗酸菌属あるいは結核菌の迅速検出の報告がされている。

われわれはその存在が *M. tuberculosis* complex に属する菌に限られている因子、IS986<sup>4)</sup>の配列に基づいたオリゴヌクレオチドをPCRのためのプライマーとして用いた<sup>5)</sup>。臨床分離株の間でIS因子のコピー数は1~19と変化があるが、大部分の結核菌は8と15コピーの間である<sup>6)</sup>。これらオリゴヌクレオチドの使用はPCRの感度を上げる上で有効である。ミドルブルック7H9液体培地培養菌を用いた感度試験で、PCRは10CFU以下で陽性であった。また結核菌H37Rvから精製したDNAを用いた試験では検出限界は1fgであり、これは約1個の菌に存在するDNA量に相当する。

23種の臨床的に重要な抗酸菌の標準株を用いた試験で541bp DNAは *M. tuberculosis* complex に属す



**Fig. 1** Agarose gel analysis of PCR-amplified DNA from two subsequent runs, using incorporation of dUTP and incubation with uracil DNA glycosylase. Ten microliters of amplified *M. tuberculosis* and *M. bovis* DNAs (lanes 2 and 3, respectively) from the first PCR runs were treated with dUTP and UNG and used for the second PCR runs for reamplification (lanes 4 and 5, respectively). Lane 1, *Hae*III-digested  $\phi$ X174 DNA as a molecular size marker.



**Fig. 2** The target amplification reaction of the Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test

る菌種からのDNAを用いたときのみにPCRで増幅されたが、他菌種からのDNAではPCR産物は認められなかった。

PCR反応におけるDNAコンタミネーションのソースとしていくつか考えられる。そのなかでも以前に増幅した産物による汚染が最も大きなソースである。PCR反応液中でdTTPの代わりにdUTPを用いてもPCR産物は得られる。その結果得られたウラシルを含むDNAはPCR反応前にウラシルDNAグリコシラーゼ(UNG)との反応により完全に分解できる(Fig.1)。このようにdUTPとUNGの使用によりcarry-overコンタミネーションを防ぐことが可能となったが、根本的にはPCR反応液の調製室、臨床材料の処理・DNA抽出室、DNA増幅・検出室の3室を独立した部屋にすることが必須である。また使用する水、容器などもDNAフリーのものを選ばねばならない。

結核菌のRNAの増幅に基づいた検査法も開発された。1個の菌に存在するリボソームRNA(rRNA)の分子数は染色体DNAの上にある遺伝子のコピー数の1000倍以上である。それゆえ標的としてrRNAを用いることは感度を上げる上で有利である。Gen-Probe社で開発されたRNA増幅法(MTD)の原理はFig.2に示したように、プライマーの鋳型rRNAへのアニール、逆転写酵素およびNTPsによるcDNAの合成、逆転写酵素によるcDNAとRNAの乖離並びに二本鎖

**Table 2** Comparison of Two Systems Based on Nucleic Acid Amplification with Conventional Smear and Culture Examinations in Sensitivity of Detection of *M. tuberculosis* in Clinical Specimens

Specimens	PCR		MTD	
	Positive	Negative	Positive	Negative
Smear positive—culture positive for <i>M. tuberculosis</i> complex	21 <sup>a</sup>	1	22	0
Smear negative—culture positive for <i>M. tuberculosis</i> complex	5	5	7	3
MOTT <sup>b</sup> positive in culture	0	18	0	18
Smear positive—culture negative	1	2	1	2
Smear negative—culture negative	5	77	4	78
Total	32	103	34	101

<sup>a</sup> Number of specimens.

<sup>b</sup> MOTT, mycobacteria other than *M. tuberculosis* complex.

DNAの合成, RNAポリメラーゼによるRNAの合成の4つのステップからなる。増幅産物は化学発光物質標識DNAプローブを用いるハイブリダイゼーション・プロテクション・アッセイ(HPA)法で検出する。この方法は増幅のステップから検出まで1本の同じチューブで試験することにより, コンタミネーションを最小限にしている。MTDの感度は培養菌を用いて試験した時は10個以下であった<sup>5)</sup>。

Table 2に, 染色体DNA上に複数コピー存在する因子(IS986)の配列に基づいたヌクレオチドをプライマーとして用いたPCRとMTDを, 臨床材料に応用したときの成績を示した。135例の喀痰が試験された。MB-チェックで31例から結核菌が培養されたが, 小川法陽性は24例にすぎなかった。培養陽性32例の中で, 29例はMTDで結核菌陽性であったが, 3例は陰性であった。同様に培養陽性例のなかで26例はPCR陽性, 6例は陰性であった。一方培養陰性例についてみると, 塗抹陰性4例と塗抹陽性1例の計5例がMTDで, 塗抹陰性5例と塗抹陽性1例の計6例がPCRで陽性であった。これらの例はいずれも結核の臨床所見を示していた。非結核性抗酸菌の検出された18例の材料はMTDとPCRの両者とも陰性であった。結核菌の検出のためのMTDとPCRの全体の感度は, 91.9% (34/37)と84.2% (32/38)であった。また塗抹試験のそれは71.9% (23/32), MB-チェックを用いた培養の感度は96.9% (31/32)であった。このように臨床材料からの結核菌の検出のためのMTDとPCRの感度は, 卵培地を用

いた培養法よりは勝れていたが, 液体を基礎とした培地を用いた培養法と同等であった<sup>5)</sup>。しかし核酸の増幅に基づいた両法は, 臨床材料から直接結核菌を, しかも迅速に検出できることから, 迅速な診断が要求される例において, 特にHIV感染者などの診断に有効であろう。

### 3. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 分析

感染個体から分離した菌株の型別は, 感染源を追跡する上で重要である。この種の目的のため, これまでファージ型別と薬剤感受性パターンの比較が用いられてきたが, 詳細な分析には用をなさなかった。

染色体DNAの上には種々の情報をコードしている遺伝子があり, 通常はそれぞれの遺伝子は1~2コピー存在する。しかしその中に2個以上存在する挿入配列(IS)も見つかった。抗酸菌でもいくつか報告されている。これらのISはDNA再配列の際に転位すると考えられており, 世代を重ねる間に増減が見られ, 染色体上の挿入部位にも変化が生じる。このように複数コピー存在し, 転位部位にも変化が見られることから, 制限酵素で切断後アガロース電気泳動で分離して調べるRFLP解析により結核菌群に属する菌の型別(亜分類)が可能となる。

IS986をプローブとした解析から次のようなことが明らかにされた。アフリカなど結核蔓延地域で分離された結核菌では国を越えてそのRFLPパターンに類似性がみられるが結核の罹患率が低く, 結核症の大部分は以前

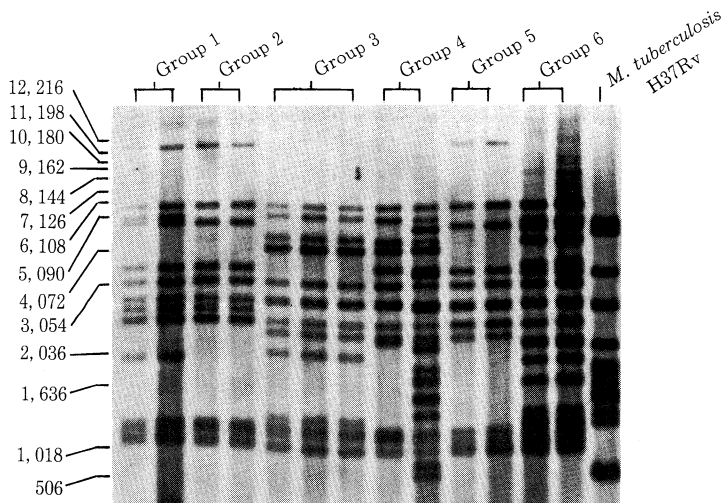


Fig. 3 RFLP analysis of epidemiologically related *M. tuberculosis* from tuberculosis patients.

Groups 1, 4 and 5, the small outbreaks in the office ; groups 2 and 3, the small outbreaks in the school ; group 6, familial infection.

に感染を受けた菌による再燃と考えられているオランダで分離された菌は多形性に富んでいる<sup>7)</sup>。わが国で分離された菌株については地域間に多形性がみられるが、同一地域内ではパターンが類似していた<sup>6)</sup>。この結果は日本ではオランダと比べ罹患率がまだ相対的に高いことを暗に裏づけているものと思われる。転位の頻度はまだ明らかではないが、それほど高いものではない。疫学的調査から集団感染や小規模感染の疑われた件で多くはそれぞれの間で全く同一のパターンを示し、共通の感染源の特定には有効である (Fig. 3)。各国で保有している *M. bovis* BCG ワクチン株を調べたなかで日本株、ロシア株、ブラジル株の3株はバンドが2本でそれらは共通であったが、パスツール、グラクソ、タイス、スウェーデン、コペンハーゲン株は2本のうち1本のみが検出された<sup>6)</sup>。この違いが、生物活性やタンパクの産生性に関わるかどうかはまだ明らかでない。

#### 4. *M. avium* 特異抗原, Avi-3

米国においてエイズ患者の50%以上に *M. avium* complex (MAC) 感染がみられており、分離培養の技術が向上すればその比率はさらに上昇するものと考えられている。欧米諸国においてエイズに伴うMACでは *M. avium* (97%) が圧倒的の優勢を占めている。このcomplexに属する菌は多くの抗結核薬に耐性を示すことから治療が困難であり、早期の診断と効果的な治療薬の開発が望まれている。

われわれは種々の抗酸菌に対するモノクローナル抗体を作製し、それらの抗体により認識される抗原の性状について研究した<sup>8)9)</sup>。その中の1つ、Avi-3と名付けたクローンにより産生される抗体は *M. avium* とのみ反応し、調べたそれ以外の18種の抗酸菌標準株とは反応しなかった (Table 3)。この抗体により認識される抗原は免疫学的活性を持つことが分かり、さらにこのタンパクをコードしている遺伝子のクローニングと大腸菌で発現できた<sup>10)</sup>。Avi-3タンパクは194個のアミノ酸からなり、予想される分子量は21,500であった。発現ベクター pKK233-2を用いた大腸菌で発現させたタンパクはモノクローナル抗体結合カラムにより分離したアフィニティー精製品と SDS-PAGE で同じ位置に泳動され、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を用いたウエスタンブロットでもそのタンパクは確認された。

T細胞エピトープを調べるために Avi-3 遺伝子は制限酵素 *Sau3AI*, *TaqI*, *HaeIII* の各々で切断された。それらの断片を pUR ベクターに接続し  $\beta$ -gal 融合タンパクとして大腸菌で発現させた。それぞれのクローンの細胞溶解液についてリンパ球応答活性を調べた。その結果アミノ酸75から86 (*TaqI-Sau3AI*) とアミノ酸156から167 (*TaqI-PstI*) の2カ所にT細胞エピトープが存在することが分かった。

このことをさらに確認するために2つのペプチド、N末側に由来するペプチド Glu 75 から Ile 86 と C末側に由来するペプチド Arg 155 から Leu 164 をN末とC末

**Table 3** ELISA Reactivity of Three MAbs with 16 Species of Mycobacteria

Antigen <sup>a</sup>	Reactivity <sup>b</sup> of clone :		
	Avi-1	Avi-2	Avi-3
<i>M. tuberculosis</i>			
H37Rv	>409,600	>409,600	400
H37Ra	>409,600	>409,600	400
<i>M. bovis</i>	>409,600	>409,600	400
<i>M. bovis</i> BCG	>409,600	>409,600	400
<i>M. kansasii</i>	800	400	400
<i>M. marinum</i>	>409,600	>409,600	400
<i>M. goodii</i>	400	3,200	1,600
<i>M. scrofulaceum</i>	400	800	400
<i>M. avium</i>	>409,600	>409,600	>409,600
<i>M. intracellulare</i>	>409,600	>409,600	400
<i>M. malmoense</i>	102,400	>409,600	800
<i>M. gastri</i>	400	3,200	400
<i>M. paratuberculosis</i>	6,400	12,800	400
<i>M. lepraemurium</i>	1,600	25,600	400
<i>M. phlei</i>	800	800	400
<i>M. smegmatis</i>	400	3,200	400
<i>M. fortuitum</i>	800	800	800
<i>M. chelonae</i>	>409,600	>409,600	400

<sup>a</sup> Bacteria were grown in Sauton liquid medium, and the entire mycobacterial culture was sonicated.

Microdilution plates were coated with 50  $\mu$ l of mycobacterial sonicate containing 100  $\mu$ g of protein per ml.

<sup>b</sup> Each value is the highest dilution of mouse ascites fluids that gave an  $A_{410}$  of more than 0.2 in the ELISA.

**Table 4** DCH Elicited by Polymerized Synthetic Peptides A and B in Guinea Pigs Immunized with the Polymerized Peptide or Avi-3 Antigen

Immunizing antigen	No. positive for DCH/3 tested with :								
	Polymerized peptide A			Polymerized peptide B			Purified Avi-3		
	250 $\mu$ g	125 $\mu$ g	62.5 $\mu$ g	250 $\mu$ g	125 $\mu$ g	62.5 $\mu$ g	50 $\mu$ g	5 $\mu$ g	1 $\mu$ g
Polymerized pep. A	3	2	0	0	0	0	2	2	1
Polymerized pep. B	0	0	0	2	0	0	1	1	0
Purified Avi-3	2	2	0	2	0	0	2	2	2
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0

75                      86  
 Peptide A : EDRDAQVLGVS  
 155                      164  
 Peptide B : RNVEEVLRVL

側に Cys を付けた形で合成した。親和性クロマト精製 Avi-3 抗原免疫マウスのリンパ節細胞を用いたアッセイで大腸菌で発現させたタンパクより活性は弱い T 細

胞増殖応答活性を持ち、ペプチド 75-86 は 5  $\mu$ g/ml に、ペプチド 155-164 は 10  $\mu$ g/ml にピークを示した。2 つの合成ペプチドまたは精製 Avi-3 抗原免疫モルモ

トを用いた皮内試験で、2つの合成ペプチドは弱いながら皮内反応活性を持つことが分かった (Table 4)。この抗原の診断への応用については現在研究中である。

これらの研究は齋藤 肇, 富岡治明 (島根医科大学), 山田 毅 (長崎大学歯学部), 横溝祐一 (農林水産省家畜衛生試験場), 山口隆司, 松尾和浩, 山崎晤弘 (味の素中央研究所), 栄 雅彰 (日本ロシュ), 宮坂 強 (日本ベクトン・ディッキンソン), 藤原昭雄, 石橋利信, 平尾彰英, 吉村忠司, 宮城千恵子, 後藤 進 (中外製薬), A. H. J. Kolk (Royal Tropical Institute, The Netherlands), J. B. Castelino (IAEA, Austria), J. W. Dale (University of Surrey, United Kingdom), 森 亨, 和田雅子, 細島澄子, 高橋光良, 鹿住祐子, 深澤 豊, 平野和重 (結核予防会結核研究所) などの諸先生方と共同で行われたものである。

今村賞に推薦いただいた露口泉夫先生 (大阪府立羽野病院) と東 市郎先生 (北海道大学免疫科学研究所) に深謝致します。

## 文 献

- 1) Abe C, Hosojima S, Fukasawa Y, et al. : Comparison of MB-Check, BACTEC, and egg-based media for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 1992 ; 30 : 878-881.
- 2) 阿部千代治, 細島澄子 : 液体培地による抗酸菌の迅速診断. *結核.* 1990 ; 67 : 781-786.
- 3) 阿部千代治 : 抗酸菌検査法の進歩. *結核.* 1993 ; 68 : 701-708.
- 4) Kolk AHJ, Schuitema ARJ, Kuijper S, et al. : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by using polymerase chain reaction and a nonradioactive detection system. *J Clin Microbiol.* 1992 ; 30 : 2567-2575.
- 5) Abe C, Hirano K, Wada M, et al. : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. *J Clin Microbiol.* 1993 ; 31 : 3270-3274.
- 6) Takahashi M, Kazumi Y, Fukasawa Y, et al. : Restriction fragment length polymorphism analysis of epidemiologically related *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Microbiol Immunol.* 1993 ; 37 : 289-294.
- 7) van Soolingen D, Hermans PWM, De Haas PEW, et al. Occurrence and stability of insertion sequences in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains : Evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1991 ; 29 : 2578-2586.
- 8) Abe C, Saito H, Tomioka H, et al. : Production of a monoclonal antibody specific for *Mycobacterium avium* and immunological activity of the affinity-purified antigen. *Infect. Immun.* 1989 ; 57 : 1095-1099.
- 9) Khanolkar-Young, Kolk AHJ, Andersen A B, et al. : Results of the Third Immunology of Leprosy/Immunology of Tuberculosis Antimycobacterial Monoclonal Antibody Workshop. *Infect. Immun.* 1992 ; 60 : 3925-3927.
- 10) Yamaguchi R, Matsuo K, Yamazaki A, et al. : Cloning and expression of the gene for the Avi-3 antigen of *Mycobacterium avium* and mapping of its epitopes. *Infect. Immun.* 1992 ; 60 : 1210-1216.

## 気管支内視鏡検査による排菌例の扱いについて

平成6年4月

### 日本結核病学会予防委員会

委員長 志村 昭 光  
 委員 荒川 正 昭, 五十里 明, 石橋 凡 雄  
 大島 駿 作, 鎌田 達, 久世 彰 彦  
 佐藤 博, \*森 亨, 柳川 洋  
 (\*印: 前委員長)  
 前委員 永井 明 彦, 本宮 雅 吉

#### 1. 問題と目的

気管支ファイバースコープの普及によって気管支洗浄や気管支内壁の擦過、あるいは経気管支生検などによる診断（以下、気管支鏡検査）が普及するにつれ、これによる抗酸菌検査の結果で結核症と診断される症例が増加している。菌検査の検体のうち気管支検査によるものは、結核サーベイランス情報によると、1992年の全国の新登録結核患者の登録時の検査の約4%、また他の調査では新登録結核患者の塗抹陽性例の2%を占めていた。

結核症の診断が従来のようにエックス線検査のみに依存せず、結核菌の証明に基づくことは感染症として望ましいことではあるが、気管支鏡検査による塗抹陽性例は臨床的および管理上の意義を考える場合に、次のような問題点もある。

- 1) その抗酸菌が結核菌か非定型抗酸菌か。
- 2) ごく微量の菌の場合臨床的な意義はあるか。
- 3) 検査器具などによる汚染の可能性はないか。
- 4) 感染源としての扱いはどうあるべきか。

当委員会は、日常診療や結核診査協議会のための指針となる考え方を明らかにするため検討を行ってきた。

#### 2. 検 討

##### (1) 抗酸菌陽性の意義

気管支分泌物から非定型抗酸菌が検出されることはまれではなく（環境中抗酸菌）、健康人の喀痰から1-2%の割合で検出したという報告や、給湯用のタンクが汚染されていたため病棟のシャワーを使用した患者の喀痰から抗酸菌が検出されたという報告もある。非定型抗酸菌症の診断が困難なもの一つはこのため、単なる抗酸菌の証明を以て非定型抗酸菌症の診断を行うことは誤りで

ある。

これに対して、結核菌が気道から偶然に検出されることはない。もし結核菌が証明されたときに、活動性結核症の所見としての意義を否定するには相当慎重でなければならない。治療歴のある結核患者で、臨床所見・エックス線所見などとは無関係に塗抹あるいは培養検査で菌が断続的に検出されることもあるが、まれである。

したがって、気管支鏡検査で抗酸菌を証明した場合に結核菌か非定型抗酸菌かを正しく鑑別することは、措置を決定する上で重要なことである。両者の鑑別は塗抹検査では不可能であるので、培養検査や核酸診断などを行わねばならない。そしてこれらの検査によって両者のいずれであるかを確認した後に、改めて臨床的な意義づけを行うべきである。鑑別の結果が判明するまでの間は、喀痰の塗抹検査やエックス線所見・他の臨床所見によって診断と治療方針を定めることとし、安易に結核症として治療を開始すべきではない。患者の病状を観察しながら対症的な処置をしたとしても、この間に重大な状態にまで進展することは少ないはずである。

非定型抗酸菌では、塗抹陽性でも培養陰性のこともあるので、このような場合には繰り返し検出を試みるべきである。

##### (2) 臨床的意義のない抗酸菌陽性

気管支鏡検査の器具に抗酸菌が付着したためにこれが検体に混入して、気道に由来しない、したがって臨床的には意義のない抗酸菌陽性所見を作り出すことが知られている。たとえば、気管支鏡洗浄・滅菌装置のタンクの液が抗酸菌で汚染され、そのために気管支鏡も汚染された結果、これを用いて検査を受けた多くの患者が、誤って抗酸菌感染と診断されたという報告がある。

環境中の抗酸菌はこのような液体の中に好んで生存・



増殖するので滅菌が不十分という条件も加わって抗酸菌が陽性となることになる。このような事態が大なり小なりの規模で比較的頻繁に発生しており、抗酸菌による気管支鏡の汚染については実験的にも明らかにされている。

気管支鏡検査の結果で、結核症や非定型抗酸菌症の診断が誤ってなされるばかりではなく、ときには真の感染を媒介する可能性のあることも示唆しており、慎重な対応が求められる。

### (3) 結核菌陽性患者の感染性

気管支鏡検査で結核菌が陽性であっても、自発喀痰の検査で塗抹陽性でない限り結核の感染源としての重要度は低下する。結核菌の伝播にもっとも関連があるのは、喀痰の検査で、塗抹陽性の患者が頻回にわたり咳をする場合である。

結核予防法による命令入所の基準として「菌陽性の者であること」をあげ、喀痰の塗抹検査のみならず培養や気管支鏡検査による陽性も含まれるが、結核患者の医療保障の包括的な枠の確保をめざしたもので、もれない入所を義務づけたものと考えべきではない。また気管支鏡検査で結核菌が陽性のとき、これのみを理由に患者を感染源として扱い、接触者に対し定期外健康診断を行うべきでもない。

## 3. 勧告

当委員会は検討結果に基づき次の勧告をする。

(1) 気管支鏡による塗抹検査で抗酸菌を検出した場合は以下の点に留意する。

1. 活動性結核として臨床的に有意の排菌か否かは、気管支鏡検査後の数回の喀痰の塗抹検査や胸部エックス線所見などを参照の上慎重に検討する。

2. 臨床的に有意の排菌であることが不確実な場合には培養検査や核酸診断を行い、結核菌か非定型抗酸菌かを鑑別する。この間喀痰検査および他の必要な検査で病状を観察し治療は保留する。

3. 同定検査で結核菌と判明したときは、原則として治療が必要である。ただし、喀痰検査で塗抹陽性でない限り感染源としての扱いはしない。

4. 同定検査で非定型抗酸菌と判明したとき治療の要否は、「国療非定型抗酸菌症共同研究班」の診断基準などを参考にして決定する。

5. 気管支鏡検査で塗抹陽性であっても培養成績が陰性の場合は、胸部エックス線検査などにより活動性結核の積極的所見が得られない限り経過観察とする。

6. 上記に基づき、結核症の活動性分類等の再検討を行う。

(2) 気管支鏡、関連器具の洗浄・滅菌に万全を期すとともに、同一施設の気管支鏡検査で抗酸菌陽性例が多発するときは、器具の汚染などによる臨床的に意義のない抗酸菌陽性の可能性についても検討をする。

以上