

臨床検査

当院の抗酸菌検査

金子陽子¹⁾

笹川幸恵¹⁾

はじめに

結 果

現在結核は登録率¹⁾、罹患率¹⁾とも減少傾向を示していることから、一般社会や医療従事者の間でもすでに過去の病気のように思われ、忘れられた存在になっている。しかしながら年間まだ6万人余の新患者発生(61年度全国罹患率46.6、新潟県罹患率34.2)¹⁾をみており、三条保健所管内でも62年度には99名の新患者発生(罹患率43.7)²⁾があり、そのうち三条市が42名(罹患率46.5)²⁾で、当院の新患者発生は15名であった。

当院は54年に結核病棟が廃止となり、結核菌検査は年々減少してきていたが、近年呼吸器科の医師を迎えたことや、病院の新築移転に伴っての患者増で結核菌検査は増加し、陽性数も増えているのではないかと考えられた。その実状はどうなっているのか、約8年間のデータを元に若干の考察を加え報告する。

方 法

- 1) 総検体数は56年から8年間とし、抗酸菌陽性のデータは51年からの13年間とした。
- 2) 分離培地は61年以前は主に3%小川培地を使用し、時に1%小川培地を使用したのが培地の本数は1本であった。61年からは3%小川培地を2本とし、更に62年に3%小川培地を1本と、2%小川変法培地1本に変更した。
- 3) 51年から60年までにはナイアシンテスト陽性を人型菌、ナイアシンテスト陰性のいわゆる非定型抗酸菌といわれている菌を非定型抗酸菌と分類した。61年からはナイアシンテスト陽性、PNB培地発育陰性、硝酸塩還元試験陽性を人型菌とし、非定型抗酸菌の同定は抗酸菌鑑別キットを使用した。
- 4) 薬剤耐性検査は60年まで斜面培地固定濃度法で実施したが、61年からはマイクロタイター法に変更した。方法は違っていたがいずれも、日本結核病学会治療専門委員会の発表した薬剤基準濃度³⁾での耐性をみた。しかしINHの薬剤濃度は0.1μg/mlとした。

年度別総検体数(表1)の推移をみると、56年培養件数444件に対し、62年888件と2倍になっていた。検体の種類(表2)も56年は喀痰、胃液、胸水、尿だけだったが、年々さまざまな検体の提出となってきた。しかし塗沫陽性、培養陽性になる検体(表3)は限られており、喀痰、尿、肺洗浄液、膿、擦過細胞診用ブラシ、胸水の順であった。検体別陽性率からみると、肺洗浄液(12.5%)、膿(12%)、胃液(11%)、胸水(5.6%)、擦過細胞診用ブラシ(5.2%)、喀痰(4.4%)、尿(2.6%)であった。

抗酸菌陽性データ(表4)をみると、51年からの13年間での抗酸菌陽性患者数は167人で、培養陽性件数は254件、そのうち塗沫陽性件数は86件(33.9%)であった。人型結核菌を20件以上検出した年は56年、61年、62年、63年だった。非定型抗酸菌は61年まで年間5件以下だったが、62年17件、63年36件と増えていた。他医院からの陽性検体はすべて人型結核菌であり、13年間での塗沫陽性、培養陰性の不一致例は8例であった。また13年間で6名の職員発症があった。

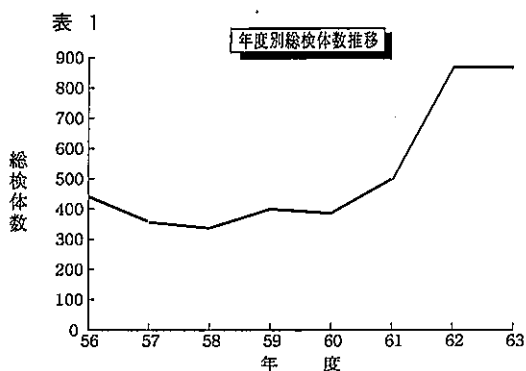
8年間の抗酸菌検出率(表5)は0.5~7.2%(平均4.8)、人型結核菌は0.5~6.5%(平均3.4)、非定型抗酸菌は0~4.01%(平均1.38)であり、非定型抗酸菌が培養陽性の中で占める割合は6.3~63.2%(平均22)であった。

61年からの3年間で非定型抗酸菌を検出した患者数は36名おり、同定された菌種は表6の通りであり、主な菌種はM. avium complexだった。その背景にある既応歴は表7に示したごとくであった。非定型抗酸菌を検出した36名の患者で、4回以上の排菌を有したのと、大量排菌のあった症例は9例(表8)であり、そのうち診断のついた症例は6例であった。

検出された抗酸菌の薬剤耐性は表9に示す通りであり、非定型抗酸菌はほとんどの薬剤に耐性を示し、わずかにCSに感受性を示すだけであった。

1) 三条総合病院 検査科

考 察



昭和61年からの検体数の急増はやはり呼吸器科の医師を迎えたことと、62年の病院の新築移転で患者増があったことによるものと考えられた。検体の種類も年々多様化してきているが、抗酸菌の陽性になる検体は肺洗浄液、膿、胃液、胸水、擦過細胞診用ブラシ、喀痰、尿と限られていた。中でも膿は主として手術膿であることから、ある程度疑わしい検体が提出されたとみられ高い陽性率であった。

培養陽性の中で塗沫検査で発見できたものは検体により違っていたが、平均34%と他の報告⁴⁾と変わらな

表 2 検体別検査件数

年 度	かくたん	尿	胃液	胸水	腹水	膿	精液	便	咽頭	血液	肺胞洗浄液	ブラシ	リコール	骨髓液	胆汁	組織	関節液	その他	合計
S.56年度	349	86	4	5															444
S.57年度	264	113	8	2	1	3	1												392
S.58年度	299	74	2	2	2			3											382
S.59年度	385	42	6	8	4	3	3	2	1										454
S.60年度	347	47	1	3		5	1								1				405
S.61年度	412	41	30	6	1	6	3	5	5		10	3	3	2					527
S.62年度	603	68	79	13	2	3	2	6	6	6	48	36	7			2	1	4	886
S.63年度	628	61	74	15		5		7	12		30	37	3	1		4	9		886

表 3 検体別陽性件数

年 度	かくたん	尿	胃液	胸水	腹水	膿	精液	便	咽頭	血液	肺胞洗浄液	ブラシ	リコール	骨髓液	胆汁	組織	関節液	その他	
S.51年度	9	4				2												1	
S.52年度	10					1													
S.53年度	5																		
S.54年度	5	1				2													
S.55年度	14	1				1													
S.56年度	18	4		1															
S.57年度	9																		
S.58年度	8			1															
S.59年度	16		1																
S.60年度	2																		
S.61年度	17	3	5			1					1	1							
S.62年度	31	6	7	1		1					7	3							
S.63年度	43	1	10			1					3								

表 4 抗酸菌陽性データ

年 度	塗沫陽性	培 養 陽 性			同一人を除いた数			他医院陽性数	職 員陽性数	塗沫(+)培養(-)の不一致数
		人型菌	ナイアシン(-)菌		人型菌	ナイアシン(-)菌				
S.51年度	5	16	15	1	8	7	1			
S.52年度	5	11	10	1	11	10	1		1	
S.53年度	1	5	4	1	4	3	1			
S.54年度	2	8	8	0	6	6	0			
S.55年度	6	16	14	2	12	10	2	1	1	3
S.56年度	13	29	26	3	21	4	7	2		
S.57年度	3	9	7	2	7	5	2	2		
S.58年度	5	9	7	2	7	5	2			
S.59年度	5	17	12	5	14	9	5	1	1	
S.60年度	0	2	2	0	2	2	0	1		
S.61年度	8	28	24	4	16	12	4		(1)	1
S.62年度	20	52	35	17	28	15	13		1	3
S.63年度	13	57	21	21	31	8	23		1	1

表 5

年 度	割合(%)			総検体数に対する検出率			抗酸菌・検体数とも同一人を除いた検出率			非定型抗酸菌が培養陽性に占める割合
	抗酸菌	人型菌	非定型抗酸菌	抗酸菌	人型菌	非定型抗酸菌	抗酸菌	人型菌	非定型抗酸菌	
S. 51年度										6.3
S. 52年度										9.1
S. 53年度										20.0
S. 54年度										0
S. 55年度										12.5
S. 56年度	7.2	6.5	0.68	8.4	5.6	2.3				10.3
S. 57年度	2.3	1.9	0.54	3.3	2.4	1.0				22.2
S. 58年度	2.4	1.8	0.57	3.9	2.8	1.1				22.2
S. 59年度	3.7	2.9	1.20	5.3	3.4	2.8				29.4
S. 60年度	0.5	0.5	0	1.1	1.1	0				0
S. 61年度	5.5	4.6	0.76	7.0	5.2	1.7				14.3
S. 62年度	6.2	6.9	1.91	8.9	4.8	4.2				32.7
S. 63年度	6.4	2.4	4.01	8.0	2.1	5.9				63.2

表 6 非定型抗酸菌検出人数

菌株群	菌 名	検出人数
I 群		0
II 群	M. scrofulaceum *M. goodii	4 5
III 群	M. avium complex *M. nonchromogenicom complex	15 3
IV 群	M. fortuitum M. chelonae *Other group	3 3 2
	同定出来ず	1

表 8 非定型抗酸菌大量排菌症例

症 例	年齢	診 断 名	菌 名	既往歴・その他	塗沫	培養	排菌回数
1	55	陈旧性肺結核	M. scrofulaceum	肺結核	(-)	30~40	6
2	76	非定型抗酸菌症	M. avium complex	肺結核	(-)	10~20	4
3	86	非定型抗酸菌症	M. avium complex	ミエローマ, (+, -)	G1	10~20	7
4	72	非定型抗酸菌症	M. avium complex	他病院で診断	G3	(+++)	5
5	77	非定型抗酸菌症	M. avium complex	血たん持続	(-)	30~40	6
6	80	陈旧性肺結核	M. avium complex	肺結核	G2	(+++)	2
7	73	非定型抗酸菌症	M. avium complex	十二指腸TB	G1	(++)	4
8	41	結核疑い	M. scrofulaceum	検診にて	(-)	20~30	4
9	68	非定型抗酸菌症	M. avium complex	膠原病	G2	60~70	3

表 7 既往歴及び背景

結 核	11
呼吸器疾患	8
免疫不全	6
検 診	5
そ の 他	6

表 9 耐性検査

薬剤名	SM	PAS	INH	KM	TH	RFP	EVM	CPM	EB	CS
濃度 $\mu\text{g/ml}$	20	1	0.1	100	25	50	100	100	5	40
人型菌 113検体(%)	3.6	9.0	13.5	6.3	11.7	5.4	0.9	15.3	5.4	4.5
固定法(%)	4.9	9.8	13.5	6.1	13.6	7.4	1.2	16.0	6.2	2.5
マイクロ タイター法(%)	0	6.7	13.3	6.7	6.7	0	0	13.3	3.3	10.0
非定型抗酸菌 72検体(%)	72.2	94.4	94.4	68.1	79.2	80.6	88.9	83.3	75.0	45.8

かった。結核菌検査指針によれば5分間以上まんべなく捜すことになっているが、検体の中に結核菌が均等に分布していないことと、排菌量が少ない時もあることからどうしても見つかりにくい状態であると考えられる。米谷⁵⁾の報告によれば、均質化して塗沫標本を作ると10~20倍喀痰で陽性率が高くなるという。だが結核患者は老齢化⁶⁾を迎えており、喀痰に代って咽頭粘液が増えてくることが予想されるため、これ以上塗沫陽性率を上げることは難しいのかもしれない。

培養陽性検体の塗沫陽性率が約3割強でしかないことを考えれば、抗酸菌の発育はかなり遅く培養陽性になるまで通常2~3週間かかり、人型菌の確認には更に2~3週間を要するため、その間排菌患者の周辺は常に危険にさらされていることになる。実際に菌陽性患者は咳がはじめてから平均3.52月で診断されていると言われており、平均4~5人に感染させていると推定されている⁷⁾。発症のメカニズムがいろいろ考えられているが⁸⁾、高齢者や慢性疾患で感染防禦能の低下した患者が比較的長期に入院していることが多くなった最近の病院においては、結核症の認識と早期診断がより大切と考えられる。また当院での13年間の職員発症者数6名は、約200名の職員数から考えると、一般の発症率より高頻度と考えられる。

塗沫陽性、培養陰性の不一致例は、13年間で8例あり、そのほとんどはG1号であったが、G3号、G4号もあった。ほとんどが雑菌性抗酸菌である可能性が強いと思われるが、アルカリに特に弱い菌も含まれていたと考えられた。分離培地にはそれぞれの濃度にあったアルカリ処理液を一定量使用することになっているが、均質化されにくい検体も多くあるため、全体的には処理液の量が多くなっているのではなからうか。また検体をまとめて前処理した場合は、アルカリ処理液の影響を長く受けていると思われる。

総検体数からの抗酸菌検出率は60年の0.5%を除けば、2.3~7.2% (平均4.8) となり、7.0~10.0%の他報告⁴⁾より低い検出率であったが、そのうちわけは、人型結核菌の検出率が1.8~6.5% (平均3.42) と低く、非定型抗酸菌の検出率が0.54~4.01% (平均1.38) とほぼ他報告¹¹⁾と同じだった。他報告が結核の専門病院におけるものであり、当院が結核菌を持たない一般病院であることを考えればむしろ高い検出率ではなからうか。

61年を境にして抗酸菌の検出率をみると、61年以前3.9%、61年以降6.0%と約1.5倍増えていた。人型結核菌は3.28%から3.63%に、非定型抗酸菌は0.75%から2.23%と約3倍の増加であった。人型結核菌の増加は若干であったが、同一人を除いた人型結核菌陽性者

数でみると、61年以前平均7人に対し61年以降平均11.7人と増えている。更に総検体数の中から同一人を除いた数でみた場合(はじめて結核菌検査を受けて陽性になる割合)は、61年以前3.06%、61年以降4.03%と0.97%の増加であった。この増加は呼吸器科の医師を迎えたためと考えられる。

非定型抗酸菌は総検体数からの検出率で61年以降約3倍の増加、同一人を除いた検出人数でみても2.1人から13.3人、又同一人を除いた検体数の検出率をみても1.44%から3.93%へと増加していた。人型結核菌が0.97%の増加であることを考えると非定型抗酸菌の増加は、呼吸器科の医師を迎えたことに加えて、使用培地の変更が大きな原因と考えられる。すなわち結核菌の分離培養では培地を1検体につき2本使用することになっているが、以前は専門病院でないこともあり、培養期間が8週間と長期なため孵卵器内での場所の確保が難しいことや、コスト面からこれを実施できなかった。しかし61年から培地を2本にし、更にそのうちの1本を劣勢発育菌用培地に変更したことが検出率を上げたと考えられる。

61年からの3年間で36名の患者から非定型抗酸菌が分離された。既往歴については結核(肺外結核も含む)11名、呼吸器疾患8名と他の報告¹³⁾と差がなく、検出された菌種も主にM. avium complexであり他の報告¹⁴⁾と同じであった。しかし近年増加が目されているM. kansasiiは検出されなかった。

非定型抗酸菌症の診断基準¹⁷⁾は議論のあるところであるが、4回以上の排菌のあった例と、大量排菌の例は9例あり、非定型抗酸菌症と診断されたのは6例であった。いずれもM. avium complexであり、症例3はM. tuberculosisとの混在を認めたケースであった。この症例はM. avium complexの検出が数回続いた後、1回だけM. tuberculosisが同時に検出され、その後は又M. avium complexの検出にもどった。小川培地上での混在に気がつかず結果的には再分離、再同定と大幅に臨床報告が遅れた。小川培地上でのコロニーの観察の重要性を再認識させられたケースであった。このようなケースは当院では初めてであったが、他でも報告¹⁰⁾されている。

検出された抗酸菌の耐性検査は検体数が少ないにもかかわらず人型菌、非定型抗酸菌ともほぼ他報告¹⁾と一致した。マイクロタイター法より斜面培地固定濃度法の方が結果にバラツキが出やすい²⁾といわれているが、当院の場合も斜面培地固定濃度法に耐性が多くみられた。斜面培地固定濃度法は判定期間が長いと、判定する側の心理としてより(+)側に傾きやすいためと考

える。非定型抗酸菌はCSに感受性を示している他は、ほとんどの薬剤に耐性を示した。このことは耐性検査を実施するだけで非定型抗酸菌であることをある程度推定できることを意味する。同様に薬剤耐性パターンの同定への応用²¹⁾も報告されている。

結核患者の減少に伴い細菌検査室で検査技師が結核菌に遭遇する機会が減少し、一般病院では、結核菌陽性患者がでても結核病院へ患者を転送するため、結核菌検査を特殊な検査と考える技師も多い。しかし日本における結核はいまだ6万余の新患者発生があり、かつ免疫不全に伴う日和見感染としての結核、若年者の集団発生、流入外国人の発症、非定型抗酸菌症等が問題点として指摘²⁰⁾されている。このような状況の中で抗酸菌の同定は今後ますます重要になり、臨床から検査室への要望は高まると考えられる。近年小川培地上の劣勢発育菌に対する分離培地も種々発売されており、同定キットも手軽に入手できることから、一般病院でも積極的にとりこんでいく必要があると考える。

ま と め

- 1) 呼吸器科の医師を迎えて結核症と非定型抗酸菌症が増加した。
- 2) 分離培地の変更と、分離培地の数を増やしたことが非定型抗酸菌の検出率増加に結びついた。
- 3) 斜面培地固定濃度法はマイクロタイター法より耐性側に傾いていた。
- 4) 一般病院でも抗酸菌検査が今後もっと重要になると考えられる。

本研究にご指導、ご校閲を賜った当院内科医長上村旭先生に深謝します。また図表作製にあたり種々労をわずらわした当院検査科小杉仁志技師に感謝します。

なお本論文の要旨は平成元年度厚生連技師会春季研修会で発表した。

文 献

- 1) 健康作り連絡調整会議、老人保健連絡協議会（三条保健所内）：衛生年報, 72, 1986.
- 2) 健康作り連絡調整会議、老人保健連絡協議会（三条保健所内）：衛生年報, 72, 1987.
- 3) 日本結核病学会治療専門委員会：結核化学療法に関する見解, 結核, 49: 349-356, 1974.
- 4) 篠田厚：結核, 化学療法の領域, 5(4) : 36-42, 1989.
- 5) 米谷孝：抗酸菌検査における喀痰処理法の改良,

衛生検査, 3 : 630, 1985.

- 6) 青木正和：結核症の新しい展開, 化学療法の領域, 5(4) : 28-34, 1989.
- 7) Aoki, M : A method to estimate the coverage of tuberculosis case-finding in the community. TSRU Progress Report 1987. 2 : 167-173, 1987.
- 8) 徳永徹：結核の免疫, 化学療法の領域, 5(4) : 36-42, 1989.
- 9) 石丸凡雄他：結核の院内感染, 化学療法の領域, 5(4) : 36-42, 1989.
- 10) 国立療養所非定型抗酸菌共同研究班：非定型抗酸菌による肺感染症に感ずる研究, 結核, 56 : 291-401, 1981.
- 11) 山口智道他：外来患者における非定型抗酸菌の検出と非定型抗酸菌症の治験, 結核, 42 : 245-250, 1967.
- 12) 氏家淳雄：蒲和市長結核療養所における非定型抗酸菌の分離について, 結核, 38 : 474-479, 1963.
- 13) 山本正彦：非定型抗酸菌症の現状, 化学療法の領域, 5(4) : 55-62, 1989.
- 14) 国立療養所非定型抗酸菌共同研究班：日本における非定型抗酸菌感染症の研究, 結核, 61 : 277-284, 1986.
- 15) 国立療養所非定型抗酸菌共同研究班：日本における非定型抗酸菌感染症の研究, 結核, 60 : 299-308, 1960.
- 16) 下出久雄：非定型抗酸菌症の疫学, 臨床と微生物, 13(6) : 56-63, 1986.
- 17) 非定型抗酸菌研究協議会：肺非定型抗酸菌症診断基準についての提案, 結核, 51 : 61, 1976.
- 18) 国立療養所非定型抗酸菌共同研究班：非定型抗酸菌症（肺感染症）の診断基準, 結核, 60 : 51, 1985.
- 19) 山本正彦：非定型抗酸菌症の臨床—内科療域, 臨床と微生物, 13(6) : 43-50, 1986.
- 20) 久世文幸、前川暢天：Mycobacterium intracellulare症の臨床像, 日本胸部臨床, 34 : 11-24, 1975.
- 21) 東村道雄：非定型抗酸菌の薬剤感受性, 臨床と微生物, 13(6) : 29-35, 1986.
- 22) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性, 結核, 54 : 515-522, 1979.
- 23) 国立療養所Microtiter耐性検査共同研究班：Microtiter法による結核菌薬剤耐性検査法について, 医療, 34(5) : 71-77, 1980.