

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

気管支学 (1997.11) 19巻7号:522～526.

気管支洗浄液における抗酸菌の塗抹陽性培養陰性例の検討  
—非定型抗酸菌の関与について—

井手 宏、大崎能伸、棚沢哲、野呂忠孝、小山 聡、岡本  
清貴、菊池健次郎

## 気管支洗浄液における抗酸菌の塗抹陽性培養陰性例の検討

## —非定型抗酸菌の関与について—

井手 宏\*, 大崎能伸\*\*, 棚沢 哲\*, 野呂忠孝\*  
小山 聡\*, 岡本清貴\*, 菊池健次郎\*\*

**要約:** 肺結核患者の喀痰検査では抗酸菌塗抹陽性例の多くで培養陽性となり菌が同定される。しかし、気管支洗浄液(BLF)では臨床的に肺結核と考え難い例で塗抹陽性となる場合があり、また、塗抹陽性培養陰性(SPCN)も多く、非定型抗酸菌(AM)との鑑別が問題となる。本研究では、BLFにおけるSPCNの原因を明らかにするため、1991年から4年間に抗酸菌塗抹陽性であった検体につき検討を加えた。その結果、BLFで培養陽性であった症例は、AMが高頻度に培養同定された。BLFでのSPCN例はAMの関与が考えられ、BLFで塗抹陽性だった5例で2%小川培地、および小川K培地での培養を併用した。全例で抗酸菌は培養されず、培地のNaOH処理のために増殖しにくいAMが含まれていると考えられた。そこで、BLFでは、NaOH無処理の培地を併用したところ培養陽性率が36%から63%に上昇した。以上より、BLFではAMが採取されている可能性が高く、その検出には培地の工夫が必要と考えられる。

**索引用語:** 気管支鏡検査, 気管支洗浄液, 非定型抗酸菌, 抗酸菌培地, 塗抹陽性培養陰性

Bronchoscopy, Bronchial lavage fluid, Atypical mycobacteria, Mycobacterium agar, Smear-positive culture-negative

**Atypical Mycobacterium is More Frequent than Mycobacterium Tuberculosis  
in Smear-Positive Culture-Negative Bronchial Lavage Fluid**

Hiroshi Ide\*, Yoshinobu Ohsaki, Satoshi Tanazawa  
Tadataka Noro, Satoshi Koyama, Kiyotaka Okamoto  
and Kenjiro Kikuchi

Occasionally, mycobacterium is detected from bronchial lavage fluid (BLF) even in patients without any sign of pulmonary tuberculosis. In contrast, we sometimes experience BLF smear-positive culture-negative (SPCN) cases in these patients. To determine the significance of mycobacterium detection in BLF, we studied 75 smear or culture positive samples in the past four years at our hospital. We compared results between sputum and BLF examination in these cases. Atypical Mycobacterium (AM) was detected in 33% of BLF and in 7% of the sputum respectively. These results lead us to consider that AM caused BLF SPCN because its growth was limited in the culture medium. Therefore, we examined five BLF SPCN cases using three different media, common 3% Ogawa medium, 2% Ogawa medium and Ogawa K medium. No colony was found in any of the cases. We then cultured smear positive BLF using Ogawa medium without NaOH, which is toxic to particular AM strains. Mycobacterium was found in 63% of the cases compared to 36% when common Ogawa medium was used. More AM was confirmed from BLF when Ogawa medium without NaOH was used. From these results, we conclude that AM is more frequent than mycobacterium tuberculosis in SPCN BLF, and Ogawa medium without NaOH is useful for the detection of the atypical mycobacterium.

\*市立士別総合病院循環器呼吸器科  
〒095 北海道士別市東山町3029-1

\*\*旭川医科大学第1内科

(受付 平成9年7月14日/採扱 平成9年10月30日)

\*Department of Circulatory and Respiratory Disease,  
Shibetsu City General Hospital, 3029-1 Higashiyamacho,  
Shibetsu, Hokkaido 089

### はじめに

肺結核の確定診断には、喀痰や胃液等から結核菌を検出するか、または組織における乾酪壊死を伴った類上皮細胞性肉芽腫を証明することが必要である。しかし、結核が強く疑われても確診が得られないことも多く、胸部X線写真の結果のみで治療を開始せざるを得ない場合がある。一方、胸部X線写真が非定型的で結核を疑っていない症例に抗酸菌塗抹検査が陽性になる場合があり、結核病床を持つ専門病院への搬送の必要性について苦慮することがある。

近年、気管支鏡検査の普及に伴い気管支内採痰法や気管支洗浄法による結核診断の有用性がしばしば報告されており、当院においてもBLFの抗酸菌染色の検体数の増加により抗酸菌の検出数が上昇した。しかし、結核が考えにくい場合でもBLFの抗酸菌塗抹が陽性である症例が増えたため、非定型抗酸菌が混在していることが考えられた。最近、分子生物学的診断法が結核症の迅速診断において大きな役割を担う様になったが、AM症の診断、耐性検査には未だ培養検査が不可欠である。そこで、本研究では、当院の過去4年間の抗酸菌染色陽性患者において、検体別にAMの検出の頻度を検討し、その培養結果もふまえBLFでの塗抹陽性の意義について検討した。

### 対象と方法

対象は1991年1月より1994年12月までに抗酸菌検査のために提出された検体2081件で、その内、喀痰が1658件、BLFが164件、その他が259件であった。まず、1991年から1994年3月までの抗酸菌検査において、塗抹あるいは培養で陽性と判定された者75名、男性46名(平均年齢65.4歳)、女性29名(平均年齢66.8歳)について、喀痰とBLFにおける塗抹と培養の検査結果につきレトロスペクティブに検討した。75名中、喀痰でGaffky陽性であった者に気管支洗浄は施行してはず同一患者は含まれない。その結果、BLFにおいてはAMが培養される頻度が高かったため、1994年4月から12月までの期間はBLFの培養に通常の3%小川培地を用い、NaOHによる前処理を省いてAMが培養されやすい様に工夫した培養を併用した。この期間でBLFにて抗酸菌塗抹陽性であった8例と、1991年1月から1994年3月までの間の、通常の3%小川培地のみを用いていたときの陽性例28例における培養の結果を比較した。

### 結果

Fig. 1は、4年間での抗酸菌陽性者75名の年度別、検体別の症例数を示す。1992年以降は喀痰よりもBLFによって検出される例が多く、1992年から1994年の平均

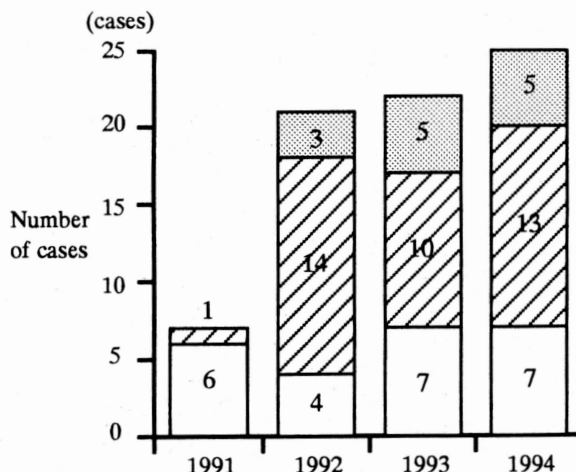


Fig. 1 Mycobacterium smear-positive cases from 1991 to 1994. Mycobacterium was detected in sputum: □, BLF: ▨ and other material: ▩.

Table 1 Results of mycobacterium culture according to results of smears from sputum and BLF

		Culture (+)	Culture (-)	Total
Sputum	Smear (+)	13	1	14
	Smear (-)	10	0	10
	Total	23	1	24
		Culture (+)	Culture (-)	Total
BLF	Smear (+)	15	21	36
	Smear (-)	2	0	2
	Total	17	21	38

で54%を占めていた。また、検体数に対する陽性率は喀痰では1.4%であるのに比べて、BLFで23.2%と高率であった。喀痰またはBLFにおける陽性数はTable 1に示すように24例および38例だった。喀痰では塗抹陽性14例のうち13例(93%)は培養陽性で同定検査を行うことが可能であったが、BLFでは塗抹陽性36例のうち培養陰性、いわゆるSPCNが21例(58%)と多く培養陽性は15例(42%)だった。一方、塗抹陰性で培養のみ陽性である症例は、喀痰では10例(42%)であるのに比べ、BLFでは2例(5%)であり、BLFの検体からは抗酸菌は培養されにくいと考えられた。

BLFでは塗抹陽性率が高く、培養での陽性率が低い理由を検討するため、喀痰とBLFの培養結果を比較し

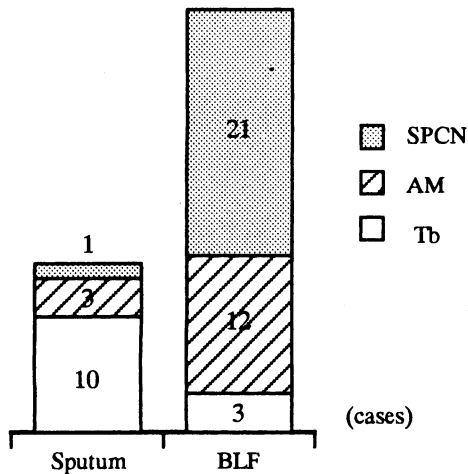


Fig. 2 Culture results of the sputum and BLF from mycobacterium smear-positive cases. SPCN: Smear-positive culture-negative. AM: Atypical mycobacterium. Tb: Mycobacterium tuberculosis.

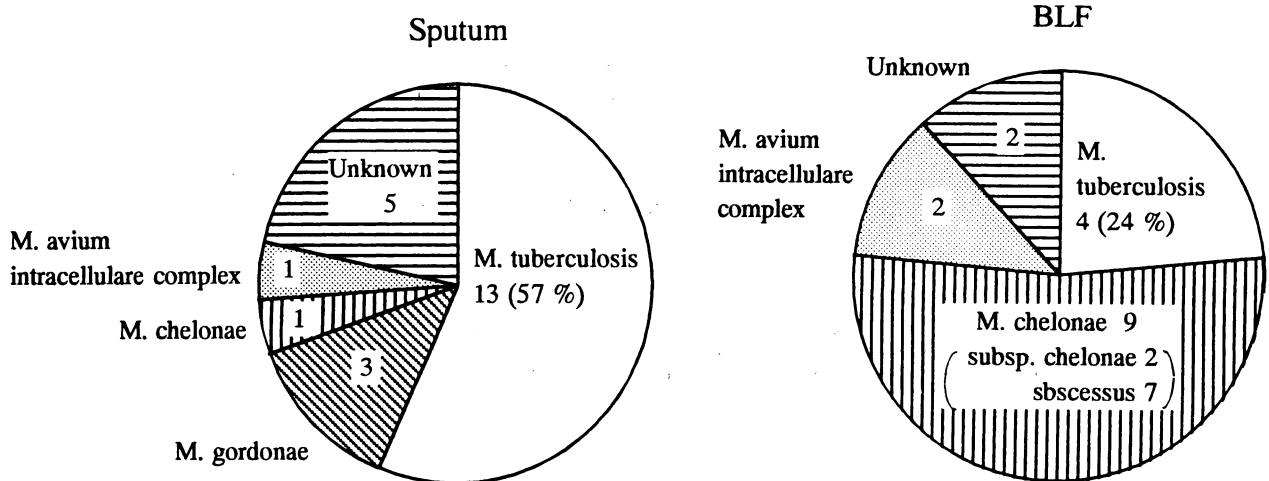


Fig. 3 Proportion of mycobacterium species confirmed from sputum (23 cases) and BLF (17 cases).

た。Fig. 2に喀痰とBLFにおける抗酸菌染色塗抹陽性例の培養結果を示す。喀痰では塗抹陽性14例中10例(71%)でTBが培養された。BLFの場合は塗抹陽性36例中21例(58%)はSPCNで、抗酸菌が培養された15例中AMが12例(33%)を占め、TBは3例(8%)であった。

次に、喀痰およびBLFで抗酸菌が培養された40例の結果を検討した(Fig. 3)。喀痰では、培養陽性23例中13例(57%)がTBで、AMは5例(22%)であった。BLFでは培養陽性17例中11例(65%)がAMでTBは4例(24%)であった。Fig. 3に同定された抗酸菌の出現率を示すが、BLFにおいてはMycobacterium chelonae subsp. abscessusがAM11例中7例(64%)にみられた。

以上より、BLFでは塗抹陽性培養陰性例が多く、BLFの培養陽性例ではAMが多いことが示された。次に、喀痰とBLFの抗酸菌陽性例について活動性肺病変の有無

に関して検討した。BLFで抗酸菌染色塗抹陽性であった36例のうち培養結果で肺結核と診断した4例を除いた32例について、気管支洗浄をする前に臨床的に肺結核を疑っていたかどうかを検討した。Fig. 4は検査前の胸部X線診断の比率を示している。SPCNの21例中16例(76%)および、培養でAMと同定された11例中9例(82%)は画像診断上、全く活動性肺結核が疑われず、肺癌等の非結核性病変を疑い気管支鏡検査が施行され、抗酸菌染色が陽性であった例が多かった。

3%小川培地でSPCNであった5例では2%小川培地、小川K培地を用いた培養でも陰性であった。この理由としてNaOH処理によって増殖性が低下するAMが検出されていると考えて、BLFに関しては検鏡にて抗酸菌以外に雑菌を認めない場合に限り、小川培地にNaOHを加えず培養した。Fig. 5にBLFにおいて3%の小川培地の

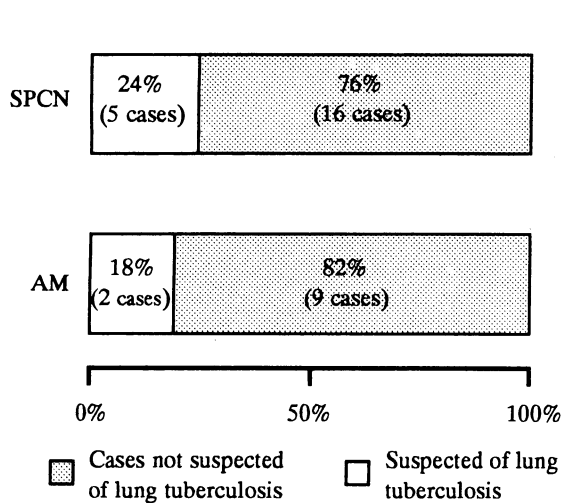


Fig. 4 Chest X-ray findings of the BLF smear-positive cases. SPNC: Smear-positive culture-negative cases. AM: Cases with atypical mycobacterium infection.

み使用していた時のSPCNの比率と、NaOHを加えなかった1994年4月以降のSPCNの比率を示した。抗酸菌の培養陽性率は36%から63%に増加し、BLFのSPCNの中にはアルカリに弱いAMが多く含まれていることが示された。

#### 考案

我々の検討ではBLFの検体にSPCNが多くみられた。喀痰からの抗酸菌検査でSPCNが見られる原因は不活性菌や死菌が検出されるなど<sup>1)</sup>の、化学療法による修飾が考えられてきた。しかし、気管支洗浄は、肺病変の診断を目的に治療前の症例に行われることが多いために、化学療法による修飾は考えにくい。従って、BLFでみられるSPCNには薬剤の効果以外の原因が考えられる。原田ら<sup>2)</sup>は呼吸器疾患1924例の喀痰分離菌の検討で非定型抗酸菌感染症が考えにくい症例からAMが2.8%に同定され、常在化しているAMを塗抹中に認めることによって肺結核症と診断される症例が増加していることを指摘している。また、吉山ら<sup>3)</sup>は初回治療の結核症例のうち、塗抹陽性例を対象とした検討で、5.9%にAMが同定されたことを報告した。AMは通常の結核菌用の培地には、発育しにくいものがあり、BLFの塗抹陽性検体にAMが多く含まれたことがSPCNが多かった原因の1つと考えられる。気管支鏡検査における局所麻酔薬の抗菌作用についての報告がいくつかみられ、Kvaleら<sup>4)</sup>は気管支洗浄の培養で局所麻酔薬が結核菌の増殖を抑制すると報告している。非定型抗酸菌も1~2%のリドカインによって、発育が抑制されるとの報告があ

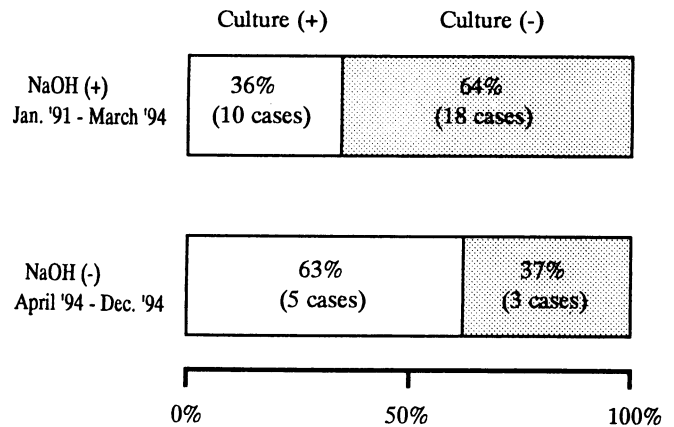


Fig. 5 Results of BLF culture using culture medium with and without NaOH from BLF smear-positive cases. culture (+): culture positive, culture (-): culture negative.

り<sup>5)</sup>、検査の際のリドカインの使用もSPCNの原因となる可能性がある。

抗酸菌培養でSPCNを減少させ抗酸菌の同定率を上昇させるために、培養方法の工夫が試みられている。塩化セチルピリジウムを用いた方法<sup>6)</sup>や、特定の抗酸菌に対して発育阻害作用のあるグリセリンの代わりにTween 80を加えたTween卵培地<sup>8)</sup>等を用いた試みが報告されている。本研究ではBLFの培養に3%小川培地のほかに2%小川培地と小川K培地の併用を試みた。塗抹陽性例の5例で3%小川培地、2%小川培地および小川K培地を併用したが抗酸菌は培養されなかった。

抗酸菌培養の際、抗酸菌が酸、アルカリに抵抗性があることを利用して、抗酸菌以外の増殖を抑制するためにNaOHを加えることが多い。しかし、これにより抗酸菌も障害を受け、AMは結核菌よりもNaOHに対する抵抗力がなく、また、AMの間でもその抵抗力に著しい差があることが知られている。一般にM. fortuitumやM. chelonae等のRunyon IV群菌はNaOHにより強く障害されると報告されている<sup>8)9)</sup>。AMの検出率を向上させるために、NaOHが少ない1%小川培地を使用したり<sup>10)</sup>、NaOHの代わりにスプーアメントゾルを用いたK培地を試みている報告<sup>8)</sup>があるが、M. chelonaeについてはその培地を用いても、分離不十分とされている。岡尾ら<sup>11)</sup>はNaOHの処理を省く試みでM. chelonaeの培養率が上昇しSPCNが減少したと報告し、我々もBLFに関してはNaOH処理を行わずに培養を試みたところSPCNは減少した。NaOH無処理でのBLFの培養では喀痰とは異なり緑膿菌などの雑菌は培養されなかった。

我々の検討ではBLFから培養された例では非定型抗酸菌の中でもM. chelonaeが多くみられた。M. chelonae

については、坂本ら<sup>12)</sup>の気管支鏡検査での自動洗浄装置の汚染例の報告をはじめ、気管支鏡の汚染のほとんどは*M. chelonae*,あるいは*M. gordonae*によるとの報告が多い。その理由の1つは*M. chelonae*が気管支鏡の洗浄に通常用いられる2%グルタルアルデヒドに対して抵抗性をもつことが考えられる<sup>10)</sup>。水道水からも*M. chelonae*<sup>13)</sup>や*M. gordonae*<sup>14)</sup>が分離、同定されており、洗浄水そのものからの混入も考えられる。我々の施設においても、抗酸菌の塗抹陽性例に使用された気管支鏡を自動洗浄機で洗浄したのち、その気管支鏡の中を通した水を塗抹検鏡、および培養を試みた。複数回の施行においても抗酸菌の検出を認めなかった。内視鏡の洗浄には2%グルタルアルデヒドを用いて自動洗浄機で洗浄する方法が一般的で、我々の施設においても気管支鏡の洗浄は、2%グルタルアルデヒド内に10時間浸した後に、自動洗浄器で50分間洗浄する方法がとられていた。しかし、この方法では*M. Chelonae*が完全に除菌されない可能性があり、*M. Chelonae*の汚染については更なる検討が必要であると考えられた。渡辺ら<sup>15)</sup>は、濃度と消毒時間を工夫したTego-51が有用と報告している。しかし、*M. Chelonae*はTego-51に耐性の菌株がある事も報告されており<sup>10)</sup>、坂本ら<sup>12)</sup>はエチレンオキシサイドガス滅菌の必要性を指摘している。

今回の我々の検討でBLFにおけるSPCNの原因としてAMの関与が示唆され、BLFのSPCNを減らし培養同定率を上昇させるためには、BLFの培養法の工夫が必要と考えられた。また、気管支鏡検査での*M. Chelonae*による汚染についてもさらなる検討が必要と考えられ、*M. Chelonae*が同定された場合には、気管支鏡からの混入の可能性を検討する必要がある。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御協力を頂いた市立土別総合病院検査室の松下明夫先生、松本清光先生に心から感謝致します。

尚、本論文の要旨は第35回日本胸部疾患学会総会(1995年5月、名古屋)において発表した。

## 文献

1) 工藤祐是. 喀痰における抗酸菌塗抹陽性培養陰性—抗酸菌検出における諸問題に関連して—. 結核 1981;56:

291-9

- 2) 原田 進, 井村好文, 原田泰子, ほか. 呼吸器感染症における喀痰分離菌の臨床的検討. 医療 1992;46:75-81
- 3) 吉山 崇, 森 亨. 肺結核罹患率の変化に及ぼす気管支内視鏡検査の疫学的影響. 結核 1992;11:5-9
- 4) Kvale PA, Johnson MC, Wroblewski DA. Diagnosis of Tuberculosis: Routine Cultures of Bronchial Washing Are Not Indicated. Chest 1979;76:140-2
- 5) Schmidt RM, Rosenkranz HS. Antimicrobial Activity of Local Anesthetics: Lidocaine and Procain. J Infect Dis 1970;121:597-607
- 6) 杉山育男. 塩化セチルピリジウムを用いる喀痰の抗酸菌培養における前処理法の検討. 神臨技師 1988;95:145-50
- 7) 土井教生, 黒田俊吉, 岡沢 豊. 塩化セチルピリジウム・コハク酸による前処理と変法小川培地を組み合わせた新しい抗酸菌分離培養法. 結核 1989;64:281
- 8) 高橋 宏. 塗抹陽性培養陰性とその対策. 結核 1990;65:29-33
- 9) 丸茂健治, 青木良雄. 抗酸菌に対するNaOHの殺菌作用1. 生理食塩水中での抗酸菌の生残率. 結核 1983;58:515-20
- 10) 原野由美子, 古賀俊彦, 中村昌弘, ほか. 非定型抗酸菌, 一般細菌によるファイバースコープおよび内視鏡自動洗浄機の汚染とその対策. 呼吸 1991;10:320-7
- 11) 岡尾勇一, 山田美恵子. 気管支肺胞洗浄液の抗酸菌塗抹陽性培養陰性結果とその非定型抗酸菌によるFalse Positive. 新潟県臨床衛生検査技師会誌 1990;30:262-72
- 12) 坂本匡一, 清水孝一, 仲谷善彰, ほか. 自動内視鏡洗浄消毒装置を介した気管支鏡の抗酸菌による汚染. 気管支学 1995;17:583-7
- 13) Nye K, Chadha DK, Hodgkin P, et al. Mycobacterium chelonae isolation from bronchoalveolar lavage fluid and its practical implications. J Hosp Infect 1990;16:257-61
- 14) 古賀俊彦. 非定型抗酸菌による内視鏡および内視鏡自動洗浄機の汚染とその対策. Gastroenterological Endoscopy. 1988;30:1482-9
- 15) 渡辺洋宇, 岩 喬, 泉沢ヨシノ, ほか. 気管支鏡を用いた気管支洗浄検査に伴う細菌の紛れ込み現象—その問題点と対策—. 気管支学 1989;11:232-8