

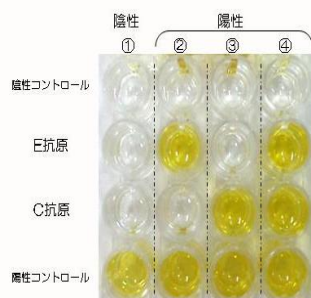
結核菌、抗酸菌培養 — 菌種同定

2016.4

結核菌は増殖が遅く、細胞壁にミコール酸(脂質)を多量に含有、グラム染色では染まりにくくグラム不定と呼ぶ。ただし細胞壁の構造と加温グラム染色からはグラム陽性菌に分類。抗酸菌のうち、ヒト型結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、ウシ型結核菌(*M. bovis*)、マイコバクテリウム・アフリカナム(*M. africanum*)、ネズミ型結核菌(*M. microti*)の4種が**結核菌群**(*M. tuberculosis* complex)。結核菌群と癩菌以外の抗酸菌を**非結核性抗酸菌**(非定型抗酸菌)として区別。結核菌は咳で空気中に飛散し、**空気感染**を引き起こす(正確には**飛沫核感染**、 $1-5\mu\text{m}$ と小さいので長時間空気中に滞留し同室者に感染、**結核、ハシカ、水痘**)。**飛沫感染**は1-2mの距離で感染しない(乾燥で失活する**インフル・おたふく・風疹**)。**喀痰検査** 喀痰の塗抹染色、抗酸菌培養、DNAポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、RNA増幅(Direct TBなど)などにより菌の存在を確認する(DNA-PCRでは死菌も検出するため確定診断ではない)。培養は岡・片倉培地を改良した小川培地(雑菌殺菌剤としてマラカイト緑を含む、4-8週)や、MGIT(Mycobacteria Growth Indicator Tube)法(2-3週、密閉培養容器内の液体培地の酸素の減少を蛍光で検出)。培養結果は抗酸菌というだけで、非結核性抗酸菌との鑑別に今野の**ナイアシンテスト***を行った。ナイアシンテストはヒト型結核菌のみ自分の産生したナイアシンを代謝する能力を欠くことから病原性を判定する(ナイアシン検出に青酸を使用)。現在はPCRやReal Time-PCR(TaqMan法)、LAMP法、MTD(Mycobacterium Tuberculosis Direct; 菌体に含まれる16S rRNAを増幅、Direct TB)法が主流。ただし**血液、去痰剤混入でPCR阻害**が起きると偽陰性となる。この場合、古典的な塗抹染色、培養と菌種の決定をおこなう**。ナイアシンテストにかえてPB64(Mycobacterial protein fraction from BCG of Rm 0.64、結核菌群に特異的な蛋白)に対する抗体検出をする**キャピリア TB**で病原性を判定。抗酸菌同定はDNA-DNA Hybridization(DDH)法でもおこなわれ結核菌群と非結核菌群17種の一重らせんDNAにPCRで増幅した検体DNAを入れ、2重らせんDNAの形成をみる。**感染の検査** **クオンティフェロン(QFT)**、**T-SPOT TB: QFT**は従来のツベルクリン反応にかわり新

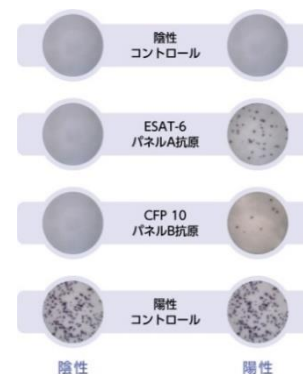


QFT検査結果(酵素免疫測定法)



しく確立された検査法で、血液を結核菌特異抗原(ESAT-6とCFP-10)とともに20時間培養し、特異抗原により刺激を受けたTリンパ球の産生するインターフェロン- γ (IFN- γ)の量を測定する。**T-SPOT**はIFN- γ 産生リンパ球の数をカウント。**60歳以上の高齢者はQFT陽性者が多いと予想されたが10%程度であった、逆にIFN- γ 産生がない場合もありQFT(-)で結核否定できない(小児も)***。**

牛型(BCG)で+となるツ反と異なりヒト型結核菌のみ検出する。



*当時、抗酸研助教授の今野淳先生は"Science"に論文を発表、僕ら学生の憧れでした。

**北大「結核ガイドライン」H27年版、TaqManRT-PCRではPCR阻害が起きにくい(長崎大)。

***QFTは20-30歳から49歳までは極めて精度の高い結核感染の検出法である。