

象から分離された異型結核菌の1株に就いて

長崎大学風土病研究所病理部 (主任: 登倉 登教授)

本 村 一 郎
もと ひら いち ろう

A Strain of Tubercle Bacillus of Unknown Type Isolated from an Elephant. Ichirō MOROMURA, Pathological Department (Director: Prof. Noboru TOKURA), Research Institute of Endemics, Nagasaki University.

本編の概要に就いては、1961年6月24日(長崎)、長崎医学会第261回例会に於いて口演発表した。

著者は、近頃、鹿児島市内の動物園で飼育されていた象の1結核症斃死例に遭遇し、型別不明の結核菌の1株を検出した。象の結核症に関する報告は、本邦では皆無であり、世界的にも、仮にあるにしても稀有のものと考えられ、このため分離菌の型別に関する詳細な文献を見出すことは、著者の知る限りでは至難であると云わざるを得ない。

従来、人間と密接な関係をもつ獣類の結核症はかなり知られているが、野生動物については余り知られていない。現在、文化の進歩に伴ない、都会地では多種類の野生動物が動物園に於いて飼育されつつあり、当然人間と接触する機会も多くなり、特に象の如き動物は子供の最も愛好する動物の1種であるが、それが結核症に感染しているとすると、幼児に及ぼす影響も考えられ、公衆衛生上看過ごすことのできない重要な問題であると云えよう。

以下、前記結核症斃死象から分離した1抗酸細菌について、その生物学的性状の調査結果を詳細に報告したい。なお、斃死した象の病理解剖学的並びに病理組織学的所見についての詳細は、他日、鹿児島大学農学部家畜病理学教室河野猪三郎博士によって報告される予定であることを附記する。

実験材料及び実験方法

1. 斃死した象の来歴: 学名—*Elephas maximus indicus*, 長鼻目, 象科, 印度象。産地—タイ国, 推定年齢—30~40才, 性—♀。タイ国北部密林地帯に群棲していたが、1950年雌雄2頭の象が原住民によって捕獲され、約1年間1農家に繋留されていたが、タイ国のウドム・サンカサブ氏の好意によって鹿児島市に

寄贈され、1951年6月8日鹿児島港に到着し、以後1959年5月8日斃死に至る8年間、鹿児島市立鴨池動物園に於いて飼育管理されていた。生前、皮膚の光沢を欠き、食慾不振、体重の減少等が認められており、斃死数日前からカタル性腸炎の診断の下に治療が加えられていた。剖検所見としては、肺、脾、各体表リンパ節に結核症特有の乾酪化した大小無数の結節が認められ、鹿児島大学農学部家畜病理学教室に於いて病性鑑定を行なった結果、結核症であると確認された。

2. 検査材料及び使用培地並びに分離方法: 斃死した象の肺病巣部の1部分を乳鉢内でよくすりつぶし、これに約5倍量の5%硫酸水を加えて20分間放置した後、遠心沈澱(2,500r.p.m.)を行ない、上清を捨て、更に滅菌生理食塩水を沈渣に加えて、同様操作による遠心沈澱を2回繰返し、その沈渣物を2分して、1部を岡・片倉培地に培養し、残部を天竺風3匹に皮下接種した。いづれからかも略々純培養の状態では抗酸性細菌を分離することができたので、これを3%KH₂PO₄小川培地に3~4代継代培養した後、諸実験に使用した。なお、対照標準菌株として、人型結核菌青山B株、牛型結核菌No. 10株及び鳥型結核菌A3717株の3菌株を農林省家畜衛生試験場より分与を仰ぎ、これを実験の対照に使用した。培養性状検査のため、岡・片倉培地並びにグリセリンを除いた岡・片倉培地、3%KH₂PO₄小川培地、Dubos培地、Kirchner培地、Sauton培地、Petraghani培地、Löwenstein培地、7%グリセリン寒天培地、血液寒天培地、普通寒天培地、牛血清凝固培地及びブイヨン等を使用した。

実験成績とその説明

1. 分離菌の形態及び染色

分離菌は、大体に於いて、両端鈍円の細長い桿菌(1.0~4.0×0.3~0.6 μ)で、軽度の彎曲を示すものが多数見られ、単在又は数個集合し、培養上発育過程に従って球菌状から長桿菌状に至るまで種々の形態(Polymorphismus)を示した。鞭毛(西沢・菅原法)、芽胞(Möller法)、莢膜(Hiss法)の形成は認められなかった。

染色性：—Ziehl-Neelsen染色において強い抗酸性を有し、グラム染色は陽性であり、大体に於いて、不平等染色を示す菌体が多かった。

抗酸性：—沸騰石炭酸フクシン溶液中で5分間染色後水洗し、3%塩酸アルコール中に浸漬し、5分間隔において取出し、水洗後4倍稀釈メチレン青液で軽く対比染色を行ない、塩酸アルコールによる脱色時間を求めた。その結果、分離菌は塩酸アルコールの脱色作用に約40分間抵抗し、対照3型菌とはほぼ同じ数値を示すことが知られた。

2. 分離菌の培養

分離当初より各種培地に頗る旺盛な発育(eugonic)を示したが、以下、各種培地並びに諸条件における発育状態を簡単に示す。

酸素要求：—Petraghani培地と3% KH_2PO_4 小川培地に菌を移植し、管口にドライアイスの小片を置いて発生する炭酸ガスと試験管内の空気とを置換した後、綿栓の上部を切断して管内にやや深く押し込み、その上に予め磨砕しておいた結晶炭酸ナトリウムと等量の焦性没食子酸を手早く混ぜ、その適当量を置き、ゴム栓で密封した後、37°Cの孵卵器内に納めて発育の有無を観察した。その結果、分離菌は偏性好気性であって、嫌気状態では発育は完全に阻止されることが判明した。対照3型菌も分離菌と同様に嫌気培養では発育を示さなかった。

グリセリン嗜好性：—分離に当たり、岡・片倉培地とグリセリンを含まない同培地とを併用したところ、分離当初よりグリセリン添加培地上での発育はより良好であって、グリセリンを含まない培地と較べると、発育速度、集落の数、大きさ等で明かに差が認められた。

至適温度：—分離菌をLöwenstein培地に塗抹した後、30°C、37°C、40°Cの各温度で培養を試みた。その結果、分離菌は37°C及び40°Cでは12~14日後に明瞭かつ旺盛な集落の発生を示したが、30°Cでは約1ヶ月を経るに及んで初めて集落の発生が認められた。分離菌は、すなわち、発育温度に関する限り、中間性(mesophylic)であると言うことができる。

岡・片倉培地；3% KH_2PO_4 小川培地：—発育速度は緩徐であり、初発集落発現までに3~4週の培養を必要とし、淡黄色を呈した乾燥性・粗造な表面をもつR型の集落を形成し、対照に使用した人型及び牛型菌との区別は困難であったが、鳥型菌のS型発育とは著しく異なっていた。

Petraghani培地；**Löwenstein培地**：—初発集落の発生に要する日数は2週以内であって、発育良好、集落の色調は褐色を呈し、湿潤な箇々の集落は互いに融合してやや粘稠な菌苔を形成し、同種培地に継代を繰返して馴化して行くと、基本的性状の一つであったR型集落の形成が次第にS型へと移行し、遂には、鳥型菌と同様に褐色粘稠なS型集落を形成するに至った。これと並行して初め生理食塩水に難溶性を示したのも、S型化するに及んで比較的容易に均等なエマルジョンとなし得た。対照の人型及び牛型菌は、初発集落の発現までに16日を要し、帯黄白色、乾燥R型集落を形成し、継代馴化しても容易にS型化しなかった。特に牛型菌はLöwenstein培地上で良好な発育を示した。鳥型菌については、分離菌同様2週以内に集落の発生が見られ、褐色S型集落を形成した。

7%グリセリン寒天培地：—培養後2週以内に灰白色R型の集落の発生を認めた。対照の鳥型菌では2週以内に灰白色のS型の集落を発生したが、人型菌は3~4週後に初めて灰白色のR型集落の発現がみられ、牛型菌では4週以上を経ても集落の発生を認めなかった。

血液寒天培地：—分離菌は、1~2週後色素を持たない微細な集落を形成、それが陳旧な培養では褐色R型の集落となった。対照の人型、牛型菌は同様のR型集落発生までに約4週を要したが、鳥型菌では分離菌同様1~2週後に灰白色から褐色になるS型集落の発生を見た。

普通寒天培地：—分離菌は発育極めて不良であるが、2~3週後非常に微細な無色或いは淡白色の集落発現が肉眼的に認められ、培養4~6週後にはR型の僅かに黄色を帯びた灰白色の小集落を形成するに至り、同種培地に6代以上継代培養が保たれている。対照の鳥型菌は分離菌よりも若干発育は良好で、S型灰白色の集落を呈したが、人型菌と牛型菌は3~4週以後初めて灰白色の微弱なR型集落の形成が見られたに過ぎない。

牛血清凝固培地：—分離菌は人型菌と同じく、初発集落の発生までに1ヶ月を要し、黄色の色調を帯びたR型集落を形成したが、対照の鳥型菌は2週後に灰白

色泥状の集落がみられ、牛型菌は2週後に淡白色R型の集落を形成した。

7%グリセリン加ブイオン：一分離菌を液面に浮かべて培養すると、2週後より灰白色泥状の湿潤した菌苔が液面より管壁に沿って漸次に広がり、遂には管壁を這上るに至り、管壁周囲にべっとり附着して発育した。対照の鳥型菌は分離菌と同一の発育形体を示したが、人型菌は4週以降よりR型黄褐色の肉厚な皺状皮膜を形成し、次第に発達して液面を覆うようになった。牛型菌では発育は認められなかった。

Dubos 培地；**Kirchner 培地**：一各種培地のうちで最も発育が良好であり、1週後より旺んな増殖がみられ、類白色菌塊が認められ、特に Kirchner 培地では4週以上を経過すると、液面に管壁を這上る薄膜を生じ、更に培養を続けると、薄紙状に発達し、強く振盪しても均等なエマルジョンとはならなかった。また、1週間後より染色鏡検によって著明な蛇行模様の cord 形成が認められ、対照の鳥型、人型及び牛型菌では1週後の染色鏡検では cord 形成は認められなかった。なお、鳥型菌では、Kirchner 培地内で4週以上を経過しても液面に薄膜を生ずることなく、沈澱発育が旺盛で軽く振ると容易に均等なエマルジョンとなし得た。

3. 分離菌の生化学的性状

(1) 糖類分解能

Sauton 培地を基礎培地として使用し、試験管に 5ccm 宛分注し、単糖類より xylose, arabinose, rhamnose, glucose, levulose, galactose, 二糖類より sucrose, maltose, lactose, 多価アルコールより glycerol, dulcitol, mannitol, sorbitol の計13種を選び、すべて 0.5%の濃度に培地に添加した後、0.2% B. T. B. 液を数滴宛滴下して指示薬とした。Sauton 培地に培養して馴致せしめた培養後14日目に菌苔1白金耳量を上記培地に移植浮遊せしめ、37°Cの孵卵器内に収め、その発育状態を毎週観察し、酸形成の有無を検査した。その結果、分離菌の糖分解能は第1表に示したような成績であった。すなわち、分離菌は6週後には sucrose と glycerol を除くすべての糖を利用分解したが、対照の人型菌は arabinose, rhamnose, glucose 及び levulose の4種だけを分解し、牛型菌は glucose, levulose, sorbitol 及び mannitol の4種だけを分解し、その他の糖類は分解しなかった。鳥型菌では sucrose, maltose, lactose 及び glycerol の4種を除くすべての糖類を分解した。また、培養日数が進

むにつれて、人型、牛型両菌は液面に鮮かな黄色を呈するR型菌膜を形成し、分離菌及び鳥型菌は管底発育が旺盛で液面上面に菌膜を形成せず、全液の混濁を見た。Glycerol 単独に入っている Sauton 培地は、4供試菌株とも、みな著明なアルカリ性に傾いた。

(2) 中性紅反応

DUBOS & MIDDLEBROOK (1948) 等の方法に従い、neutral red との結合能力を検査した結果、牛型菌は強陽性(卍)、人型菌は中等度陽性(卅)、分離菌は弱陽性(卅)であり、鳥型菌は陰性(-)であった。

(3) 抗煮沸性

PREIS 法を改良した戸田(1926)の变法に従い、K. f. 値を求めた結果、分離菌はかなり強い抗煮沸性を示し、K. f. 値は8'~10'であった。対照の人型、牛型菌のそれは15'~20'であり、鳥型菌のそれは3'であった。

(4) ナイアシン・テスト

今野・岡(1957)の方法に従って、anilin-BrCN 法及び benzidine-BrCN 法を併用した定性法によってナイアシン・テストを行なった結果、分離菌は陽性であり、対照株では人型菌のみが陽性であり、牛型菌と鳥型菌とは陰性であった。

(5) カタラーゼ反応

MIDDLEBROOK (1954) の方法にならう、分離菌のカタラーゼ活性を検査した結果、分離菌はカタラーゼ陽性であった。泡沫の発生に要した時間及びその強弱の程度、並びに、泡沫の持続時間等を調べたところ、鳥型菌(卍) > 分離菌(卅) ≧ 人型菌(卅) > 牛型菌(+) の順であった。

(6) ウレアーゼ試験

戸田(1949)の方法に従って分離菌のウレアーゼ活性を検査したが、その結果、分離菌はウレアーゼ試験陽性であり、対照の人型、牛型両菌は陽性、鳥型菌は陰性であった。

(7) テルル酸カリウム還元能

林(1950)の記載する方法に従って分離菌のテルル酸カリウム還元能を調べた結果、分離菌は陽性であったが、各菌型との区別は見られなかった。

(8) メチレン青還元能

佐々木(1959)の記載する方法にならう、分離菌のメチレン青還元能を検査したが、分離菌は陰性であり、対照3型菌もすべて陰性であった。

この他、分離菌はインドールを形成せず、硝酸塩の還元能は陰性であり、硫化水素の産生を認めず、M. R 反応、V. P. 反応はいづれも陰性であった。0.2%

第1表 分離菌の培養及び生化学的性状

菌型	分離菌	人型菌	牛型菌	鳥型菌	
性状					
グリセリン嗜好性	発育佳良	発育佳良	発育阻害	発育佳良	
岡・片倉培地 小川培地	黄白色乾燥 R型 4~5週	黄白色乾燥 R型 4~5週	黄白色乾燥 R型 4~5週	黄白色湿润平滑 S型 3~4週	
PETRAGNANI 培地 LÖWENSTEIN 培地	褐色湿润粘稠菌 苔 1~2週	黄白色乾燥 R型 2~3週	黄白色乾燥 R型 2~3週	褐色湿润粘稠菌 苔 1~2週	
牛血清凝固培地	黄褐色 R型 4~5週	黄褐色 R型 4~5週	白色乾燥 R型 2~3週	灰白色泥状 S型 3~4週	
7%グリセリン 寒天培地	灰白色乾燥 R型 2週	灰白色乾燥 R型 3~4週	4週後も集落の 発現を見ず	灰白色泥状 S型 2週	
7%グリセリン ブイヨ	灰白色泥状菌苔 S型 2週後	黄褐色乾燥皺状 皮膜R型 4週後	発育を認めず	灰白色泥状菌苔 S型 2週後	
DUBOS 培地 KIRCHNER 培地	1週後より旺盛 な発育, 液上面 に薄膜形成	分離菌同様	分離菌同様	4週以上経過し ても薄膜形成せ ず	
中性紅反応	+	+	+	-	
抗煮沸試験	K.f.値 8'~10'	15'~20'	15'~20'	3'	
ナイアシンテスト	+	+	-	-	
カタラーゼ	+	+	+	+	
ウレアーゼ	+	+	+	-	
CORD 形成能 (DUBOS-1 週後)	+	-	-	-	
解糖作用 (ソートン培地, 6週後)	xylose	+	-	-	+
	arabinose	+	+	-	+
	rhamnose	+	-	-	+
	glucose	+	+	+	+
	levulose	+	+	+	+
	galactose	+	-	-	+
	sucrose	-	-	-	-
	maltose	+	-	-	-
	lactose	+	-	-	-
	sorbitol	+	-	+	+
mannitol	+	-	+	+	
dulcitol	+	-	-	+	
glycerin	alkaline	alkaline	alkaline	alkaline	

備考：(1) 解剖所見における記号は次の如く区別記載した。

- ① 肉眼的に全然変化なきもの〔-〕, ② 結節が1ヶ以上5ヶまで存在したものの〔+〕,
③ 結節が10ヶ以上存在したものの〔++〕, ④ 結節が15ヶ以上存在し乾酪様変性の高度な
ものの〔+++〕, ⑤ 結節極めて多数で臓器全体を覆うもの〔++++〕。

(2) 臨床所見におけるリンパ腺欄中, +は腫大を示し, -は無変化を示す。

(3) 還元培養における+は成功を示し, -は不成功を示す。

齧って各種動物の実験的結核症に関する報告を展望しながら(主として TOPLBY (1955) 及び柳沢・橋本 (1957) の論文から引用した), 以下, 今回行なった動物試験の成績を記述する。

A. 家 兎

牛型菌を家兎に 0.1~1.0mg 皮下接種すると, 広汎な結核症を起し, 2~3ヶ月で死亡する。剖検すると, 局所性乾酪性変性を起こした所属リンパ腺並びに肺に中央壊死を示す無数の小さい灰色の結節, 或いは更に大きい不定形の結節が多数見られる他, 腎皮質に多数の半球状の結節および時に脾と肝にそれを見ることが出来る。COBBETT (1917) によれば, 0.000, 000, 001mg という微量を腹腔内に注射しても, 2~3ヶ月後に死に致らしめたという。しかるに, 人型菌 1~100mg の皮下接種に於いては, 牛型菌の場合とちがって致命的な結核症をおこすことはないが, 肺は常に少数の小さい灰色の結節を示し, 腎には少数の粟粒結節がみられる。鼠型菌の感染には家兎はかなりの抵抗力を持っているといわれている。WELLS (1946) によると, 1~10mg の鼠型菌の皮下接種では, 接種部位に膿瘍をつくることはあるが, 決して進行性の病変をおこさないということである。この局所膿瘍からは長期間に亘って次第に退行する菌を培養できる。しかし, 0.1~1.0mg の静脈内注射を行なうと, 急性粟粒結核症をおこして死亡する家兎もみられるという。WELLS は, 5mg を静脈内に注射された家兎は, 結核性肺炎をおこして, 2.5~3.5週後に死亡したといっている。しかし, 静脈内注射でも接種菌量が少ないと(例えば 0.01mg), 大量皮下注射の場合と同じく著しい病変をおこさず, 菌は次第に死滅することがみられている。BROOKE (1941) も腹腔内接種の場合について同様の知見を述べている。鳥型菌は, 家兎に対しては, 牛型菌よりも弱毒であるが, 人型菌よりはずっと強毒であるという。鳥型菌の皮下接種を受けた家兎は, 慢性感染経過を執り, 接種量の如何を問わず, 特徴ある病巣の分布を示し, 大体において, 慢性哺乳動物型感染症に似ている。すなわち, 接種部位および所属リンパ腺には乾酪化をおこした病変がみられることがあ

るが, 脾, 肝は殆ど変化がない。腎は時によって多数の乾酪化した結節を示すことがあるが不定である。肺には散在した乾酪化結節が認められる。しかし, 最も特徴ある病像は, 骨と関節の慢性病変である。関節は腫脹, 肥厚し, 関節腔内は筋肉の間にまで広がる軟い乾酪性物質で充満している。YERSIN (1888) によれば, 鳥型菌を家兎に静脈内注射すると, 所謂, “Yersin type of disease” を起こして, 2~4週間に死亡するもので, 体重の激減と脾の腫大が著明であり, 肉眼的には各臓器に結節は見られないが, 顕微鏡的に観察すると, 各臓器に極微細な結節が多数に見られるという。

分離菌の家兎に対する病原性は次の如くであった。

臨床所見：一分離菌の湿菌量 10mg を腹部皮下に接種した実験成績では, 注射後 1~2 週後より注射局所は発赤腫脹し, 2.5×2.0cm に及ぶ半球大の硬結を生じ, 左右の腋窩及び浅鼠蹊リンパ腺の腫大が触知された。4 週後に行なったツ反応では, 1.5cm 径以上の硬結を生じ, 著明な陽性を示した。体重は, 注射後 1 時増加したが, 日数の経過と共に漸次減少した。注射局所は 3~4 週後より潰瘍に転じ, クリーム様膿汁を排出し, 染色鏡検によって抗酸菌を多数認めた。しかるに, 注射局所の潰瘍は, 12~15 週後には次第に治癒に向かい, 硬結は殆ど消散した。対照に用いた人型菌接種家兎は同様の所見を呈したが, 牛型菌接種家兎は注射局所の潰瘍がなかなか治癒せず, 15 週後もクリーム様膿汁を排出し, その中に多数の抗酸菌が証明された。

解剖所見：一分離菌 10mg を腹部皮下に接種した家兎を 15 週後に解剖したところ, 肺に限局して粟粒大の結節が数箇認められたが, 他の各臓器には全く変状を認めなかった。対照に用いた人型菌接種家兎では肺に僅かに肺炎像を呈した外は, 各臓器共全く変状を認めず, 牛型菌接種家兎では肺に全葉を覆うほどの密発した結節が認められ, 他の臓器には変状が見られなかった。ここで興味ある所見として, 接種部位の変状と, 剖検時における肺の病変の程度とが略々平行していた点を指摘したい。すなわち, 牛型菌接種家兎では注射部

位の潰瘍は頑固であり、斃死寸前まで抗酸菌を含む膿汁を排出していたが、分離菌接種家兎の注射部位の潰瘍は次第に治癒して行き、人型菌接種のものは治癒に要した日数が分離菌接種のものよりも更に短縮されたことである。

B. 天竺鼠

天竺鼠は人型及び牛型菌に対して高度の感受性を有しており、すでに WAMOSCHER (1927) 等及び DOERR (1932) 等は、ただ1箇の結核菌によって結核症を惹起することができたとのべているが、最近、GRAY (1952) 等は鋭敏な培地によって集落の証明されない程の稀釈菌液を筋肉内に接種しても、病変を発現する動物が認められたことを報告している。鍋島・菅原 (1951) も微量の結核菌の皮下又は皮内接種によって結核性病変の進展することを認めている。これに反して、鼠型菌の天竺鼠に対する病原性は、人型、牛型の両菌型よりも遙かに少ないことが幾多の研究者によって報告されている。すなわち、BROOKE (1941) によれば、1.0~0.001mg の鼠型菌の皮下接種では、接種部位に乾酪病巣をつくるが進行性の病変をおこすことはないといい、WELLS (1946) は0.1~10.0mg の皮下接種の場合少数の動物は進行性の病変を起こして死亡したが、大部分は18ヶ月迄観察しても病変を起こさず、所属リンパ腺と脾から菌が分離培養できたのも接種後8ヶ月までであったといっている。室橋等 (1951) は1mg、BRKHAUG (1946) は5mg を皮下に注射して同様の所見を得ているが、室橋等によると、BCG にくらべて病変の程度がやや強く、分離菌数も多く、菌の臓器滞留期間もやや長いということである。また、BRKHAUG (1946) は、1mg を静脈内注射すると、動物は肺、肝、脾および腎に急性の粟粒結節を示して死亡するとのべているが、これに対して室橋等 (1952) は BCG より僅かに強い程度で、人型菌接種の場合よりは遙かに軽いと報告している。鳥型菌は天竺鼠に対して哺乳類型菌よりもはるかに菌力が低いことは周知の事実であって、GRFFTH (1930) によると、鳥型菌 100mg 迄の量を皮下に接種しても、全身性の進行性結核症を惹起することはない。BRETEY 等 (1935) は鳥型菌を 0.01~0.1mg 皮下に接種すると、局所膿瘍、所属リンパ腺の腫脹のような限局性の病巣をつくるのみであるが、同量を静脈内に注射すると、広汎な結核症をおこすとのべている。すなわち、極めて強毒な菌株を 1mg 静脈内注射した場合には、約3週で致命的な感染症をおこし、家兎の場合のような YERSIN 型の結核症がみられる。大量の腹腔内注射

でも数週間で死亡をおこすということである。しかし、鳥型菌接種によって死亡する動物も、生存をつづける動物も、剖検において何ら結核症の肉眼的病変を示さないとすることが多数の研究報告の一致している点である。

分離菌の天竺鼠に対する病原性は次の如くであった。

臨床所見：一分離菌 10mg を後肢皮下に接種した天竺鼠は、注射後1~2週後より注射局所は腫大硬結を生じ、次第に膿瘍に転じ、6週後には漸次治癒に向かって軟腫となり、また、1~2週後には跛窩及び鼠蹊リンパ腺の腫大が触知された。6週後に行なったツ反応は陽性であった。

解剖所見：一分離菌接種天竺鼠は、肺、脾の各臓器に粟粒大の結節が散在し、特に脾の変状が著しかった。脾は腫大し、黄色の粟粒大結節が全面にわたって散在し、融合したものは大豆大の結節を形成し、肺は粟粒大結節が全葉にわたって密発し、健全な部分は僅かに見られたに過ぎない。肝も腫大し、硬度を増し、脂肪変性がみられ、粟粒大結節が散在していた。腎の腫脹はなく、大きさは正常と変わらなかったが、数箇の粟粒大結節が認められた。腸間膜リンパ腺及び鼠蹊リンパ腺は腫大して内部にクリーム様膿汁を貯留していた。人型菌接種天竺鼠では、脾は腫大し、粟粒大結節が多数形成され、牛型菌接種天竺鼠よりもやや強い病変を呈した。鳥型菌接種の場合は各臓器に全く変状を認めなかった。第3表に示すように、分離菌 10mg を皮下に接種した天竺鼠では、脾の重量は9倍に増し、肺及び肝の重量は共に約2.5倍に増加していた。

第3表 天竺鼠の脾、肺、肝の比較

番号	接種菌株	斃の死体時重 kg	脾			重量 g	肺 g	肝 g
			長径 cm	短径 cm	厚さ cm			
G.4	分離菌	0.57	5.5	3.0	0.8~1.0	9	18	54
G.5	牛型菌	0.54	2.5	1.2	0.2~0.3	1	7	24
G.8	人型菌	0.47	3.0	1.5	0.3~0.5	2	7	23
G.9	鳥型菌	0.55	2.5	1.2	0.2~0.3	1	7	23

C. 鶏

鶏の人型菌及び牛型菌に対する感受性に就いて、FELDMAN (1938) は次のように総括している：(1) 鶏は人型菌及び牛型菌による感染に対して極めて抵抗力が強い。(2) 人型菌又は牛型菌の静脈内接種を行なうと、肺、肝、脾に限局された結核感染をおこすことは

稀でない。(3)しかし、その病巣は初め進行するが、後に停止し、結局は消失する傾向をもっている。前田等(1934)も鶏に人型又は牛型菌を腹腔内、筋肉内又は静脈内に接種し、結核性病変のないことを報告している。これに反して、鶏は鳥型菌に対して高度の感受性を示し、鳥型菌 1mg の静脈内注射を受けた鶏は平均33日生存するが、接種量がそれより更に少量になると、結核性病変は一層慢性の形をとって来るようになる。常に見られる変化は、削瘦、貧血、肝及び脾の腫大である。極めて微量の菌の静脈内注射でも、鶏はすべて結核症を発し、94日後に殺してみると、肝と脾には乾酪病巣が認められた。0.000,0001mg ほどの微量を皮下に接種した場合、接種部位に病巣をつくらなくても、脾にかなりの数の結節と肝には少数の結節をつくることがあったという。

分離菌の鶏に対する病原性は次の如くであった。

臨床所見：一分離菌を 10mg 翼下静脈に注射した鶏 F. 2 は、注射後 4 週後より食慾癡絶し、起立不能に陥入り、30日後に斃死した。鶏 F. 1 鶏も40日以後起立不能に陥入り、42日後には瀕死の状態になったので、殺処分して解剖に附した。分離菌を10mg 皮下注射した鶏は、臨床的に全く異常を認めず、むしろ、体

重は増加の方向を辿った。

解剖所見：一肉眼的検査の結果、全例共各臓器に1箇も結節を認めず、肝の腫大を認めた以外は、格別著しい変状はみられなかった。しかしながら、直接塗抹染色並びに還元培養の結果、各臓器から抗酸性菌の検出が可能であった。この事実から推測されることは、分離菌 10mg の静脈内注射によって斃死した2例の鶏は、いずれも剖検所見の肉眼的観察では各臓器に1箇も進行性の結核結節を示さず、還元培養によって各臓器から菌の検出が可能であったことは、所謂、“Yersin type of disease” を惹起し、全身性の敗血症が致命的な原因となったのではなからうかと考えられる。

D. 猫

猫は牛型菌に対して高度の感受性をもつが、鳥型菌には感受性が低く、人型菌に対しては抵抗性を示すことは周知の通りである。牛型菌を 0.1mg 猫の皮下に注射すると、常に全身性結核症をおこして、速かに死亡する。桑原(1939)は各株の人型および牛型結核菌を猫に接種して次の知見を得ている。大量の人型菌(10mg)を猫の静脈内に注射しても、肉眼的および顕微鏡的に結核性病変を証明することができず、体

第 4 表 耐 性 検 査 成 績

薬 劑	菌 株	分 離 菌			人 型 菌 青 山 B 株			鳥 型 菌 A 3717株		
		2 w	3 w	4 w	2 w	3 w	4 w	2 w	3 w	4 w
S ・ M	0r	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅
	10r	+	+	+	-	-	-	卅	卅	卅
	100r	-	-	-*	-	-	-	-	+	+
P ・ A ・ S	0r	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅
	1r	卅	卅	卅	-	-	-	卅	卅	卅
	10r	-	-	-*	-	-	-	+	+	卅
I ・ N ・ A ・ H	0r	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅
	1r	卅	卅	卅	-	-	-	卅	卅	卅
	5r	+	卅	卅	-	-	-	卅	卅	卅

備 考 + : 1~200ヶの結核菌集落

卅 : 201~500ヶ

卅 : 501~2,000ヶ

* : 菌を多量に接種した場合は (+) となる。

重、臨床所見にも変化がない。しかし、牛型菌の場合には、少量(0.005mg, 0.001mg, 1.0mg)でも3週以後は発熱と同時に食欲不振、全身衰弱が甚しくなり、3ヶ月迄生存する猫は甚だ少ない。いずれの接種群も肺、肝、脾に肉眼的、組織学的に結核結節を証明し、多数の抗酸性菌が認められるという。

分離菌の猫に対する病原性は次の如くであった。

臨床所見・解剖所見：一分離菌接種の猫に於いては、いずれも格別の変状を認めなかった。

5. 抗菌性薬剤に対する耐性試験

厚生省の結核菌検査指針に従い、3%第1燐酸カリウム培地にデヒドロストレプトマイシン(以下S. M.と略す)、パラアミノサリチル酸ナトリウム(以下P. A. S.)、イソニコチン酸ヒドラジド(以下I. N. A. H.)の規定量を正確に含有させた培地(栄研)を使用した。培養法は所定の方法に準拠して行なった。その結果、分離菌は前頁の第4表に示すごとき成績を示した。

ここで興味ある事実は、第4表に見るように、第1に、分離菌が比較的高濃度までも抵抗したこと、第2に、対照に用いた鳥型菌A3717株が分離菌同様高い薬剤耐性を示したことである。分離菌及びA3717株がこのような薬剤耐性を先天的に獲得したものか、或いは、それを後天的に獲得したものか不明であるが、いずれにもせよ、鳥型菌の代表的標準株として保存されているA3717株にこのような高度の耐性が認められたことは、将来、この種の試験に供用する場合、当然上記の事実も考慮されなければならない問題であると思う。

考 察 と 要 約

人間と密接な関係をもつ動物の結核自然感染に関しては、現在までに数多の報告を見ているが、人間と余り接触する機会のない野生動物に就いては殆ど知られていない。就中、象の結核症に関する報告は、本邦においては今迄に皆無であり、欧米諸国においても有るとしても極めて稀であろうと考えられる。

著者は、たまたま、鹿児島市内の動物園で觀賞用として飼育中の象1頭の結核症斃死例に遭遇し、これより略々純粹状態に1株の抗酸性細菌を分離することができた。この分離菌の生物学的性状に就いては、種々の検査を行なった結果、岡・片倉培地；3%KH₂PO₄小川培地上では、分離当初より乾燥性R型黄色集落を形成し、その他多くの固形培地上でも一般にR型集落の形成がみられた。しかしながら、PETRAGNANI培地

では、箇々の集落が相融合して発育し、斜面全体に湿润した粘稠な、著明に褐色を呈する菌苔へと発達し、同種培地に数代継代培養を行なうと、遂にはS型集落を形成するに至った。

初代分離時よりグリセリンを含まない培地よりも、グリセリン添加培地の方が発育は一層良好であり、多くの培地にeugonicな発育を示した。主な性状に就いて、対照に用いた人型、牛型及び鳥型菌と比較すると、第5表に示す通りである。

第5表に示す如く、分離菌は培養性状においては、対照3型菌のどれとも完全に一致しないが、牛型、人型菌よりも鳥型菌と近似した性状がみられ、生化学的性状においては、糖類分解能試験では人型、牛型菌と明瞭に区別せられ、抗煮沸性試験の結果では鳥型菌と哺乳動物型結核菌との中間値を示した。

DUBOS(1952)及び戸田(1960)等によれば、結核菌菌型の最終的鑑別は、如何なる場合においても動物に対する病原性によって決定されるべきものであると記述されている。著者の行なった動物接種試験においては、分離菌は天竺鼠に対して強い病原性を有し、皮下接種で毎常確実に感染発症せしめ、肺、脾に多数の結節を形成し、特に脾の変状が著明であった。家兎に対してもかなり強い病原性を有し、牛型菌と比較して幾分弱いという程度の差はあるが、家兎の肺に数箇の結節を形成せしめ、人型菌が格別の変状を惹起しなかったことからみて、分離菌の家兎に対する病原性は、牛型菌よりも弱く人型菌よりも強いことが窺われた。鶏に対しては、進行性結核性病変を全く示さず、猫に対しても同様に全く変状を認めなかった。要するに、動物接種試験の結果においても対照3菌型のいずれとも完全な一致は見られなかった。

なお、血清反応による哺乳動物型結核菌の型別は不確実であると一般に云われているので、著者も今回の実験ではこれを実施しなかった。また、鼠型菌(vole bacillus)に就いては、WELLSを筆頭とする欧米研究者の一群及び本邦の室橋一派等の貴重な研究報告があり、これらを見ると、鼠型菌は分離菌と比較して発育速度、グリセリン嗜好性、動物試験その他多くの点で、明かに性状を異にするものであると考えられる。近頃、注目を集めて来た非定型抗酸性菌の問題は、本邦では占部・河合(1957)、佐々木(1959)、長田(1960)等多数の研究者によって研究され、現在一般に認められていることは、天竺鼠に病原性が弱く、抗結核剤に対して強い抵抗力を有し、cord形成能も弱いということである。最近、武谷(1961)は、野犬分離抗酸性菌

第 5 表 性 状 の 比 較

菌 型	分 離 菌	人 型 菌	牛 型 菌	鳥 型 菌	
性 状					
固形培地上での集落	(基本的) R型 4~5週	R型 4~5週	R型 4~5週	S型 3~4週	
グリセリン添加	eugonic	eugonic	dysgenic	eugonic	
牛血清凝固培地	黄褐色 R型 4~5週	黄褐色 R型 4~5週	白色乾燥 R型 4~5週	灰白色泥状 S型 3~4週	
7% グリセリン プイヨン	灰白色泥状 S型 菌苔	黄褐色乾燥皺状 皮膜	発育を認めず	灰白色泥状 S型 菌苔	
中 性 紅 反 応	+	+	卅	-	
抗 煮 沸 性 (k. f.)	8'~10'	15'~20'	15'~20'	3'	
ナイアシンテスト	+	+	-	-	
カ タ ラ ー ゼ	卅	卅	+	卅	
ウ レ ア ー ゼ	+	+	+	-	
cord 形 成	DUBOS-1 週後 +	-	-	-	
解 糖 作 用	xylose	+	-	-	+
	arabinose	+	+	-	+
	rhamnose	+	-	-	+
	galactose	+	-	-	+
	maltose	+	-	-	-
	lactose	+	-	-	-
	sorbitol	+	-	+	+
	mannitol	+	-	+	+
dulcitol	+	-	-	+	
動 物 試 験	家 兎	卅	-	卅	
	天 竺 鼠	卅	卅	卅	-
	鶏	-			
	猫	-			
耐 性 試 験	S.M. 10r 100r	+ -*	- -		卅 +
	P.A.S. 1r 10r	卅 -*	- -		卅 卅
	I.N.A.H. 1r 5r	卅 卅	- -		卅 卅

註) * 印は多量に接種した場合 (+) となる。

を中心とした非定型抗酸菌について、その各種性状のうちウレアーゼ・テスト陰性によって簡単かつ明確に人型菌と鑑別し得ると報告している（第34回日本細菌学会総会演説抄録より引用）。著者の実験に於いては、鳥型菌のウレアーゼ陰性に対して、分離菌は人型及び牛型菌と等しくウレアーゼ陽性であった。XALABARDER (1961) は、“atypical”又は“unclassified”結核菌の問題を検討し、この言葉について厳しく批判しているが、遺憾ながら、現在までの所では、非定型抗酸菌に関して未解決の面が多いので、著者も今回の実験では定型結核菌のみを型別の対照とした。

以上、著者の実験成績からは、分離菌は人型、牛型、鳥型のいずれとも一致せず、文献を参照すれば鼠型とも異なるものである。

結 語

要するに、結核症によって斃死した象の1例から分離された抗酸細菌の1株は、人型、牛型、鳥型又は鼠

型のいずれとも同定されない。それが唯一例の象から得られたに過ぎないので、象特有の結核菌の1新種であるということは、後年、同様の例が追加されるまでは断言されない。また、既知病原3菌型のいずれかが、偶然、象に感染して、象体内で変異 (variation) を起こしたのかも知れないが、それを実験的に証明するには多数の象に接種試験を行わなければならないのであって、そのようなことは経済的に許されない。しかし、それが結核象から分離されたので、登倉教授の提案に従い、一応、*Mycobacterium elephantis* と命名しておきたい。あるいは、広義の結核菌 = *Mycobacterium tuberculosis* の変種又は型として、*varietas elephantina* または *tybus elephantinus* と呼んでもよい。

擧筆に当たり、恩師登倉登教授の御懇篤な御教示と御校閲を感謝するとともに、御指導、御鞭撻を賜わった鹿児島大学農学部新美大四郎教授、河辺昌保助教授、河野猪三郎博士、御援助を頂いた林薫講師及び釘田芳文技師に深謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) BIRKHAUG, K. : Immunization with the vole bacillus. The protective value of the vole bacillus (WELLS) as compared with BCG against tuberculous infection. Am. Rev. Tuberc., 53 : 411, 1946.
- 2) BRETEY, J. & LAPORTE, R. : Infection des cobayes par le bacille tuberculeux aviaire inoculé par voie veineuse. c. r. Soc. Biol., 120 : 316, 1935.
- 3) BROOKE, W. S. : The vole acid-fast bacillus. I. Experimental studies on a new type of *Mycobacterium tuberculosis*. Am. Rev. Tuberc., 43 : 806, 1941.
- 4) COBBETT, L. : The Causes of Tuberculosis. J. Path. Bact., 35: 681, 1917.
- 5) DOERR, R. & GOLD, E. : Zur Frage der Virulenz der Tuberkelbazillen. Z. Immun. Forsch., 74 : 7, 1932.
- 6) DUBOS, R. J. & MIDDLEBROOK, G. : Cytochemical reaction of virulent tubercle bacilli. Am. Rev. Tuberc., 58 : 698-699, 1948.
- 7) DUBOS, R. J. : Bacterial & Mycotic Infe-

ctions of Man. 3. edit., Philadelphia and Montreal, 1958.

8) FELDMAN, W. H. : Avian tuberculosis infections. Baltimore, 1938.

9) GRAY, D. F. & MATTINSON, M. W. : Detection of small numbers of tubercle bacilli from dispersed cultures, using mice, guinea pigs, and artificial media, Am. Rev. Tuberc., 65, 572. 1952.

10) GRIFFITH, A. S. : Acid-fast Bacteria. A System of Bacteriology. London, 1930.

11) 林 治 : 各種抗酸性菌の発育に対するテルル酸カリの影響について、(第1報) 特に人型菌並びに牛型菌の鑑別について。日本細菌学雑誌, 5 : 441-445, 1950.

12) 今野 淳, 岡 捨己 : 抗酸菌の生化学的分類。日本細菌学雑誌, 15 : 10, 968, 1960.

13) 桑原忠義 : 結核菌に対する猫の感受性について。結核, 17 : 614, 1939, 19 : 530, 1941.

14) 前田三郎, 小林諒雄 : 結核菌に対する家鶏の感受性に就いて (第1回報告)。結核, 12 : 484, 1934.

15) MIDDLEBROOK, G. : Isonizid-resistance and catalase activity of tubercle bacilli. A

- preliminary report. Am. Rev. Tuberc., 69 : 471-472, 1954.
- 16) 室橋豊穂, 関 又蔵, 高野袈裟男: Vole Bacillus (WELLS)に関する研究, (第1報) 毒力に関する研究. 結核, 26 : 329, 1951.
- 17) 室橋豊穂, 関 又蔵, 高野袈裟男, 吉田幸之助: Vole Bacillus (WELLS)に関する研究, (第3報) 毒力について. 結核, 27 : 144, 1952.
- 18) 鍋島秀雄: 極微量の結核菌に因る海狸における結核性病変の実験的研究. 結核, 17 : 455, 1939.
- 19) 長田富香: 結核患者より分離された抗酸性菌. 日本細菌学雑誌, 15 : 74-79, 1960.
- 20) 佐々木 諭: 牛乳から分離した抗酸性菌に関する研究, (第1報) 分離菌の生物学的性状. 日本細菌学雑誌, 14 : 138-143, 1959.
- 21) 菅原庸雄: モルモットにおける実験的結核症, (第1報) A. 感染菌量の問題 I. 感染量と注射部位, 所属リンパ腺及び「ツ」「ア」との関係, II. 剖検時肉眼的臓器所見. 抗酸菌病研究雑誌, 7 : 97, 1951.
- 22) 戸田忠雄: 色素の見知より為せる抗酸性菌の研究 (第1回及び第2回報告). 日本微生物学雑誌, 20 : 2663, 1926.
- 23) 戸田忠雄: 結核菌と, B. C. G., 東京, 1949.
- 24) 戸田忠雄: 戸田新細菌学. 東京, 1960.
- 25) 占部 薫: 結核を疑われた患者の喀痰及び切除肺より続けて分離された非定型抗酸菌. 医学と生物学, 42 : 33-35, 1957.
- 26) WILSON, G. S. & MILES, A. A. : Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 4 edit., London, 1955.
- 27) 柳沢 謙, 橋本達一郎: 実験的結核症. 日本結核全書, 第2巻, 東京, 1957.
- 28) XALABARDER, C. : The so-called problem of unclassified Mycobacteria. Am. Rev. Resp. Dis., 83 : 1, 1961.

Summary

There is no report of infection with the tubercle bacillus of the elephant, so far as the author knows, up to date.

Recently, the author met with a female Indian elephant which died of tuberculosis pathologically confirmed on May 8th in 1959, after she had been kept for admiration for about 8 years at the Kagoshima Municipal Zoo.

A strain of an acid-fast, non-motile, spore- and capsule-nonforming, aerobic and mesophilic bacillus, *Mycobacterium*, was successfully isolated by means of culture of lung pieces and inoculation into guinea-pigs with them.

Morphology and biochemistry of the organism, in comparison with the human type Aoyama B, bovine type No. 10 and avian type A 3717, were in detail studied. The organism had certain points of resemblance to the avian type, but the differed from the latter in the fact that the organism showed yellowish-white colonies of R type on solid egg medium, while the avian type showed same-coloured colonies of S type on the same medium. In 7% glycerol broth the organism, similarly to the avian type, enveloped a greyish-white muddy jelly-like mass on the surface of the fluid and along the tube wall, with turbidity and deposit. On coagulated cattle serum, however, the organism showed a yellowish-brown growth of R type, while the avian type showed a greyish-white and muddy growth there. On Petragnani's medium the organism formed brown colonies which were originally of R type and finally, after generations of culture, of S type like the avian type. "Cord" formation was seen already after 7-day cultivation in Dubos' albumin medium. Neutral red reaction, niacin test and urease test were all positive for the organism, but all negative for the avian type.

On the fermentation test in SAURON'S with addition of BTB as indicator, xylose, arabinose,

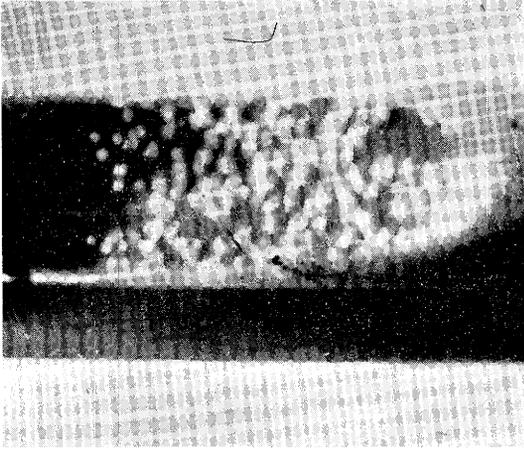


图 1

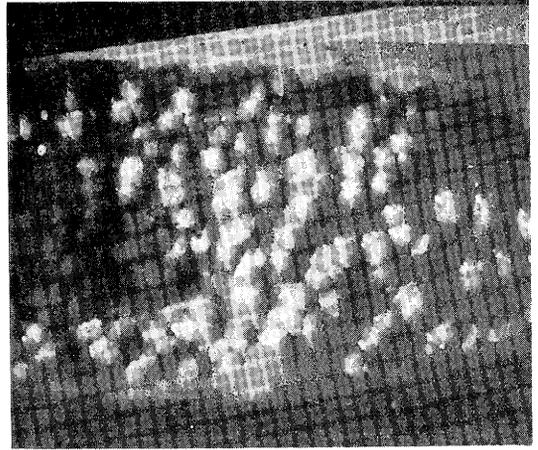


图 2

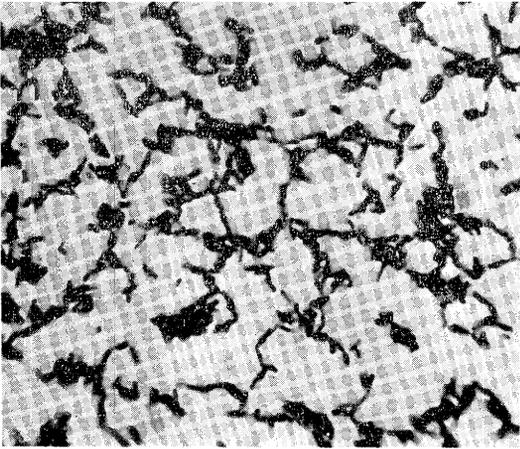


图 3

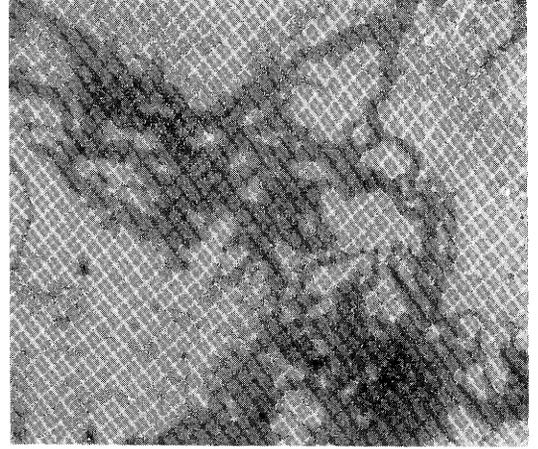


图 4

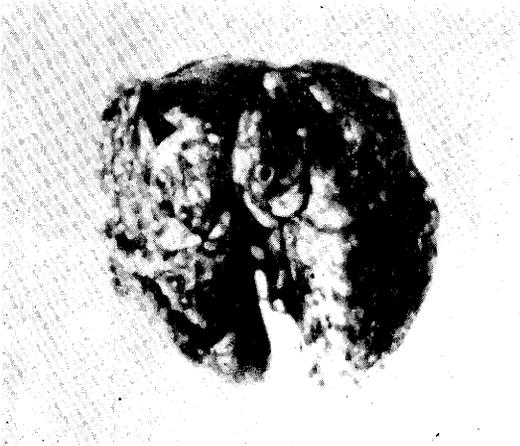


图 5

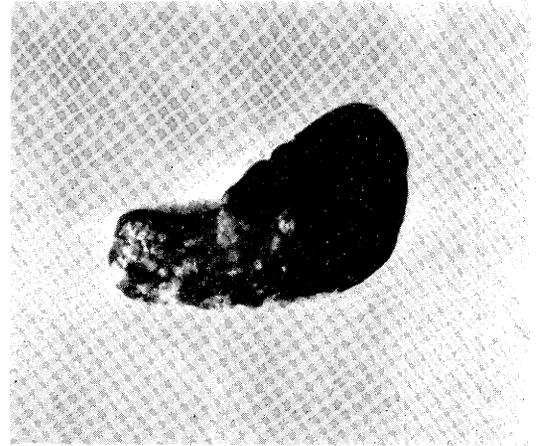


图 6

附 図 説 明

- 図 1 3% KH_2PO_4 小川培地1ヶ月後の分離菌の集落。
- 図 2 上記集落の拡大。淡黄色R型集落。
- 図 3 Petraghani 培地1ヶ月後の分離菌の Ziehl-Neelsen 染色顕微鏡標本。×5000。
- 図 4 Dubos 培地10日後の分離菌の cord 形成。Ziehl-Neelsen 染色顕微鏡標本。
- 図 5 分離菌接種天竺鼠 (G.4) の肺。
- 図 6 同じく脾。

rhamnose, galactose, maltose, lactose, sorbitol, mannitol and dulcitol were all fermented without gas formation, by which the organism was distinguished from the 3 other types. SAUTON'S medium with glycerol only, however, became alkaline in all strains on the contrary.

It is important to notice that the organism developed tuberculous nodules localized on the lungs of the rabbit, and a generalized tuberculosis on the guinea-pig, being avirulent for the domestic fowl and cat, by which the strain was definitely distinguished from 3 other types. The organism, furthermore, proved to be resistant to 10~100/1.0ccm of MS, 1~10⁷/1.0ccm of PAS, and 1~5/1.0ccm of INAH.

Consequent on the results so far achieved from a series of these examinations, a conclusion that the organism isolated from the tuberculous elephant was none of the known virulent types of the tubercle bacillus was obtained. The organism was with facility differentiated from the murine type, vole bacillus, by referring to many records about it. It is not permitted to affirm the organism to be a new species of *Mycobacterium* peculiar to the elephant, because it has been isolated from a only case of this animal. On the other hand, it is possible that any one of the known virulent types might infect the elephant by chance, resulting in occurrence of a variation of the phenotype in the body. But, until further notice, the appropriate name for this strain would be *Mycobacterium elephantis* sp. n., on the suggestion of the author's honourable teacher Prof. Noboru TOKURA. Occasionally it can be also called *var etas elephantina* or *typus elephantinus* of the tubercle bacillus *lato sensu*.

(Author)