

原 著

結核菌培養早期証明法の考案

(その2) 遠心管内培養法

京都大学結核研究所細菌血清学部

(主任 植 田 教 授)

山 田 修 ・ 岡 田 博

(昭和 26 年 4 月 27 日受付)

緒 言

前回の報告¹⁾においては、湿室内 Slide culture 法によつて、染色陰性の喀痰中少数例は培養 24 時間後に、大多数例は培養 48 乃至 72 時間後に結核菌の検出が可能であることを知つた。

しかし乍らこの方法では操作が稍々複雑であり、且つ、特殊な容器を必要とするので、余等はこの方法から知り得たことを基礎として、更に簡易な方法で結核菌を早期に検出しようとして、下記の如き新しい培養法を試みた。

1 実験方法並びに材料

(1) 培養材料は当結核研究所臨床部の外来及び入院患者の喀痰であつて、塗抹標本をチール・ネールゼン法で染色して陰性のもの 89 例を供試した。

(2) 3本の遠心沈澱管に同一の喀痰 1c.c 宛を分配し、それぞれに 4% 苛性曹達溶液 5c.c 宛を加えてよく振盪混和した。孵卵器内に 20 分間静置した後 3000 回転 20 分間遠心沈澱した。上清を捨て、滅菌蒸留水 5 c.c 宛を加えて振盪混和し、再び 3000 回転 20 分間遠心沈澱した。上清を捨て、白金耳で沈澱を攪拌し、3本の遠心沈澱管の沈澱を 1 本に集めた。更に 3000 回転 20 分間遠心沈澱後上清を捨て、沈澱に等量乃至増量のキルヒナー液を加え、よく振盪混和した後、3本の遠心沈澱管に等量宛を分配した。それぞれの遠心沈澱管はゴム栓で密栓して孵卵器内に斜位に保つた。2, 3, 7 日後にそれぞれ 1 本宛の遠心沈澱管を取り出し、3000 回転 20 分間遠心沈澱した。上清を捨て、沈澱の 1 白金耳をスライド硝子に塗抹し、乾燥、火焰固定後チール・ネールゼン法で染色してそれぞれ 100 視野を鏡検した。

(3) なお、キルヒナー液を混和する直前の沈澱の 1 白金耳宛を、2本の卵培養基(上坂一友田)に培養して遠心管内培養法と検出率を比較した。

2 実験成績

喀痰 89 例中上記遠心管内培養法によつて陽性と成つ

第 1 表 遠心管内培養法によつて各培養日数に陽性となつた例数

	2 日	3 日	7 日	計
陽 性	37	6	0	43
陰 性				46
計				89

たものは 43 例であつた。その内訳は第 1 表の如く、2 日後に既に陽性のもの 37 例、3 日後に始めて陽性になつたものが 6 例あつた。3 日後に未だ陰性であつたものは 7 日後にもまた陰性に留まつた。

次に上記遠心管内培養法と卵培養基培養法とを比較す

第 2 表 遠心管内培養法と卵培養基培養法との比較

喀 痰 例 数	遠 心 管 内 培 養 法	卵 培 養 基 法
37	+	+
6	+	-
3	-	+
43	-	-
計 89		

るに、第 2 表の如く被検喀痰 89 例中陽性数は遠心管内培養法では 43 例、卵培養基では 40 例であつた。その中遠心管内培養法、卵培養基共に陽性のもの 37 例、遠心管内培養法でのみ陽性で卵培養基では陰性のもの 6 例

反対に卵培養基にのみ陽性のもの3例、又両者共に陰性のものは43例であつた。すなわち検出率において遠心管内培養法は卵培養基に比し稍々優秀な結果を与えた。

而もその検出に要した日数は、第3表の如く、遠心管

第3表 検出日数の比較

	被検例数	陽性例数	平均 検出日数
遠心管内 培養法	89	43	2.2
卵培養基 培養法	89	40	20.1

内培養法では2乃至3日間(平均2.2日)で決定し得たのに対し、卵培養基では平均20.1日を要し、両者の間には著しい懸隔があつた。

因みに雑菌による汚染は遠心管内培養法では4例(4.5%)あつたが、結核菌の検出には障碍にはならなかつた。対照の卵培養基においてもまた4例の雑菌汚染をみた。

3 総括並びに考按

遠心管内培養法は簡単な方法であつて、2乃至3日間(平均2.2日)という在来の培養法とは比較にならない短時日中に結核菌の有無を決定し得る。しかも結核菌の検出率においてもまた遠心管内培養法は卵培養基培養法に比肩する。この事は、遠心管内培養法においては、材料中の微量の結核菌を発育せしめ、その初期集落を観察することができる結果にほかならない。

上記観察中には遭遇しなかつたが、もし万一検査材料中に唾液その他に由来する非病原性ミコバクテリウムが混入した場合には、結核菌とまぎらわしい所見を与えるであろうことが考えられる。この点に鑑みスメグマ菌、A1, D10, 小杉、藤井の5株の非病原性ミコバクテリ

ウムを用いて別に吟味を試みた。

その結果から見れば結核菌の集落は上記の時間には、2, 3個乃至数個の赤染菌体から成るが、非病原性ミコバクテリウムは一般に集落はより多数の菌体から成り、往往10, 20, 30個或はそれ以上の数の菌体から成る。又長大な或は短小な形、配列及び集落中に青染菌体を混じる点等に注意すれば、結核菌との鑑別は困難ではない。

なお、念のために5乃至7日培養後の標本を観察すれば上記の特徴は一層顕著である。

結 論

次の如く培養することにより結核菌の早期検出が可能である。

喀痰約1c.cを遠心沈澱管に取り、4%苛性曹達液5c.cを加え、よく振盪混和する。孵卵器に20分間静置後3000回転20分間遠心沈澱し、上清を捨てる。1回滅菌蒸溜水を加えて洗滌した沈渣に等量乃至培量のキルヒナー培養液を混加しゴム栓で密栓し、よく振盪混和した後孵卵器に斜位に保つ。3日後遠心沈澱し、分離した僅少の上清を捨て、沈渣の1白金耳をスライド硝子に塗抹する。乾燥し、火焰で固定した後、チール・ネールゼン法で染色し100視野を鏡検する。

遠心管内培養法は従来の卵培養基培養法及びS.C.法に比較して、検出率において優るとも劣らない。しかも遠心管内培養法によれば検出に要する日数は更に著しく短縮することができるのみならず資材の節約にも資し得る。

文 献

- 1) 山田修・岡田博：結核27巻，3号，117頁（昭和27年）