

結核菌培養早期証明法の考案

その Ⅱ 湿室内 Slide culture 法, 遠心管内培養法 (山田・岡田) による膿, 滲出液及び尿中結核菌の培養早期検出について

京都大学結核研究所細菌血清学部 (主任 植田 三郎教授)

岡 田 博

(昭和 27 年 5 月 27 日 受 付)

緒 言

さきに余等¹⁾は喀痰から結核菌を培養によつて早期に検出する 2 種の改良法を考案し報告したが, 今回は引続き同様の方法により, 膿, 滲出液及び尿からの結核菌早期検出を試みたのでその成績を報告する。

実験材料並びに方法

塗抹染色陰性の膿 22 例, 滲出液 23 例, 尿 22 例を供試した。

(上記実験材料の入手に種々御協力をいただいた京都大学附属病院整形外科, 内科, 小児科, 泌尿科及び結核研究所臨牀部の各位に厚く感謝する。)

方法は, 前回の報告¹⁾と同様であるが, なおその概略を述べると, まず 4 本の滅菌遠心沈澱管にそれぞれ 1 cc 宛の検査材料をとり, それに 5 倍量の 4% 苛性曹達溶液を加えて強く振盪し, 20 分間強く遠心沈澱して上清を棄て, 沈渣に適当量の滅菌蒸留水を加えて, 攪拌・振盪・混和し, さらに 20 分間遠心沈澱を繰返して洗滌した。かくの如くして得た沈渣の 1 白金耳宛を 2 本の卵培養基 (上坂・友田)²⁾に培養して対照とした。

湿室内培養法としては, 残りの沈渣に等量乃至倍量のキルヒナー培養基 (血清を 10% に含有する) を混和し, その 1 滴を滅菌スライド硝子上に滴下し, 直ちに固定染色して, 100 視野を検鏡し, 集菌陰性であることを確かめて後, 混和液の残部 1 滴宛をそれぞれ 4 枚の滅菌スライド硝子上に滴下し, 湿室内のスライド棚¹⁾に納めて 37°C に培養した。培培 1, 2, 3, 及び 5 日後にスライド硝子を 1 枚宛湿室から取りだし, 孵卵器内に放置, 乾燥した後, 火焰固定, チール・ネールゼン染色し, その 100 視野を検鏡した。

遠心管内培養法としては, 残りの 3 本の遠心沈澱管の洗滌沈渣に, 等量乃至倍量のキルヒナー培養基 (血清を 10% に含有する) を混和して密栓し, そのまま 37°C に培養した。2, 3 及び 5 日後に, 1 本宛の遠心沈澱管を取りだし, 遠心沈澱して上清を棄て, 沈渣の 1 白金耳宛をスライド硝子に塗抹し, 乾燥, 固定後, チール・ネールゼン法で染色して, それぞれ 100 視野を検鏡した。

実験成績

膿 22 例中 4 例, 滲出液 23 例中 2 例, 尿 22 例中 3 例は培養直前のスライド硝子を染色, 検鏡して既に集菌陽性を示したので除外し, 残りの膿 18 例, 滲出液 21 例, 尿 19 例について培養を試みた。

〔I〕湿室内 Slide culture 法

(a) 培養成績

その結果は第 1 表に示す如く, 膿 18 例中 17 例, 滲出液 21 例中 10 例, 尿 19 例中 9 例が陽性であつた。その詳細は, 膿では培養 1 日後に陽性のもの 1 例, 2 日後に 10 例, 3 日後に 6 例であつた。滲出液では培養 2

第 1 表 培養日数と陽性例数

材 料	培 養 日 数				陽 性 計
	1	2	3	5	
膿 18 例	1	10	6	0	17
滲出液 21 例	0	6	4	0	10
尿 19 例	0	6	3	0	9

日後に 6 例, 3 日後に 4 例が陽性となり, また尿では 2 日後に 6 例, 3 日後に 3 例が陽性であつた。しかしながら 3 日後になお陰性の材料で, それ以後の観察において初めて陽性に転じたものはなかつた。

(b) 染色所見

第 2 表は培養 2 日後の標本 100 視野中の集落数を数えたものであるが, 大多数は単菌及び 2, 3 個の菌体か

第 2 表 培養 2 日後の集落数 (100 視野中)

材 料	集 落 数			
	1	~ 10	~ 20	~ 30
膿 11 例	8	2	1	0
滲出液 6 例	5	1	0	0
尿 6 例	5	0	1	0

ら成り, 少数は数個の菌体から成る集落であつて, その

配列状態は、開指状或いは多少とも樹枝状を呈するものが多かった。又極めて少数のものにおいては、多少とも不規則な網目状や球形を成したものも見られた。しかし、これ等の菌は、多少程度の差はあつたがすべて赤染した。

(c) 雑菌汚染頻度

本法において、雑菌による汚染は、膿2例、滲出液1例、尿4例あつた。しかしそれらのものにおいても、結核菌の検出には何等障碍にはならなかつた。

(d) 本法と卵培養基培養法との比較

第3表 検出例数及び検出日数の比較

材 料	湿室内Slide culture法		卵培養基培養法	
	陽性例数	検出日数 (平均)	陽性例数	検出日数 (平均)
膿 18例	17	2.2	17	20.0
滲出液21例	10	2.4	11	24.1
尿 19例	9	2.3	10	23.3

第3表は本法と卵培養基培養法の検出例数及び検出日数(平均)を比較したものであるが、この中膿では両方法ともに17例が陽性であつた。滲出液及び尿では陽性例は、本法では卵培養基培養法に比しそれぞれ1例宛少なく、10例及び9例であつた。これを詳細に検討すると、膿における陽性の17例は2方法共通であつたが、滲出液においては、2方法いずれにも陽性のものは9例、本法で陽性で卵培養基で陰性のものが1例あり、逆に卵培養基で陽性で本法において陰性のものが2例あつた。尿では、2方法いずれにも陽性のもの9例、卵培養基にのみ陽性のものが1例あつた。すなわち検出率においては、本法は卵培養基培養法にほぼ比肩し得る。しかも検出に要した日数をみると、本法では平均2.3日であつたのに比べ、卵培養基培養法では22.5日を必要とし、両者の間には著しい懸隔が認められた。

〔Ⅱ〕 遠心管内培養法

(a) 培養成績

第4表に示す如く、陽性に現われたものは、膿18例中17例、滲出液21例中11例、尿19例中9例であ

第4表 培養日数と陽性例数

材 料	培 養 日 数			陽 性 計
	1	3	5	
膿 18例	15	2	0	17
滲出液21例	7	4	0	11
尿 19例	7	2	0	9

つた。その詳細は、膿では2日後に15例が、3日後に2例が陽性に現われた。滲出液は2日後に7例、3日後に4例が陽性であつた。また尿では2日後に7例、3日後に2例が陽性であつた。この場合も亦、いずれの材料においても、3日以後の観察において初めて陽性となつた例はなかつた。

(b) 染色所見

第5表 培養2日後の集落数(100視野中)

材 料	集 落 数			
	1 ~ 10	10 ~ 20	20 ~ 30	30 ~
膿 15例	9	4	2	0
滲出液 7例	6	1	0	0
尿 7例	5	2	0	0

第5表は培養2日後の標本100視野中の集落数を数えたものであるが、その集落は上述の湿室内 Slide culture 法の場合と近似したものであつた。

(c) 雑菌汚染頻度

遠心管内培養法において、雑菌汚染を見たものは、膿2例、滲出液1例、尿2例、あつたが、この場合も湿室内 Slide culture 法と同様、結核菌の検出には何等障碍にはならなかつた。

(d) 遠心管内培養法と卵培養基培養法との比較

第6表 検出例数及び検出日数の比較

材 料	遠 心 管 内 培 養 法		卵培養基培養法	
	陽性例数	検出日数 (平均)	陽性例数	検出日数 (平均)
膿 18例	17	2.1	17	20.0
滲出液21例	11	2.4	11	24.1
尿 19例	9	2.2	10	23.3

第6表の陽性例数の中、膿及び滲出液では両方法ともに17例及び11例が陽性であつたが、尿では遠心管内培養法は1例少なく9例が陽性であつた。但し膿における陽性の17例は、2方法共通であつたが、滲出液では2方法いずれにも陽性のもの10例、遠心管内培養法で陽性で、卵培養基培養法で陰性のものが1例、逆の場合が1例あつた。又尿では2方法いずれにも陽性のもの9例、卵培養基培養法にのみ陽性のものが1例あつた。すなわち検出率においては両者の間には殆んど優劣はなかつた。しかも検出日数においては、遠心管内培養法では平均2.2日に過ぎないのに比べ、卵培養基培養法では22.5日を必要とし、両者の間には著しい懸隔が認められた。

考 察

前回の喀痰¹⁾及び今回の膿、滲出液及び尿を使用した実験により、上述の2種の改良培養法は、従来の卵培養基培養法に比較して、殆んど劣らない検出率を挙げ得、しかも結果の判定は、1例においては24時間後に既に可能であつたが、大多数は48乃至72時間後に可能であつて、平均20日乃至はそれ以上を要した卵培養基培養法に比較すれば著しい短縮であつた。蓋しこのような結果を得たのは、余等の方法によれば、材料中の微量の結核菌を集菌し、しかもそれを発育せしめ、発育初期の集落を観察することが可能であるにほかならない。ただ余等の方法では、発育初期の結核菌を染色、観察して判定するのであるから、万一何等かの原因により非病原性

ミコバクテリウムが混入した場合の鑑別¹⁾には一応留意せねばならない。

結 論

- 1) 上記2種の改良培養法によつて、結核菌の早期検出が可能である。
- 2) 2種の方法は、従来の卵培養基培養法乃至 Slide-culture 法に比較して、検出率において劣らず、しかも検出に要する日数を著しく短縮し得る。

文 献

- 1) 結核, 27 巻, 3 号, 同 4 号 (昭和 27 年); 結核研究, 7 巻, 1 号, 5 頁 (昭和 26 年); *Acta Tuberculosea Japonica*, 1:1, 1951.
- 2) 結核研究, 1 巻, 3 号, 244 頁 (昭和 17 年).