

結核菌の抗結核剤に対する抵抗性

測定法の比較試験成績に就いて

第2報 塗抹陰性喀痰に就いて

神戸市衛生研究所(所長 堀 道紀博士)

慶応義塾大学医学部細菌学教室(指導 牛場大蔵教授)

小沢 敦・滝井督三・川本 昭

(受付 昭和 29 年 10 月 4 日)

緒 言

前報において塗抹陽性喀痰 500 例について小川法(種々なる濃度に薬剤を混入した 3% KH_2PO_4 培地に 8% NaOH にて前処置した喀痰の 0.1 cc を接種する方法)と Berry and howry によつて始められたスライド・カルチュア法(S. C 法)とを併用して抗結核剤に対する耐性試験成績を比較検討した成績を報告したが、今回は塗抹陰性喀痰 500 例について S. C 法と小川法とを SM, PAS, INAH の 3 種の抗結核剤につき比較した成績を報じ御批判を仰ぎ度い。

A 実験方法

1) 小川法: 供試培地は種々なる濃度(1, 10, 100 τ/cc)に各薬剤を混入した小川氏 3% KH_2PO_4 培地に、8% NaOH にて前処置した喀痰 0.1 cc を接種し、4 週で成績を判定した。SM 加 3% KH_2PO_4 培地は Dihydrostreptomycin-sulfate を予め所要濃度の 2.5 倍量加え、85°C 45 分間加熱滅菌した。INAH, PAS を加えた 3% KH_2PO_4 培地は最初から所要濃度に加え加熱滅菌した。

2) S. C 法: Berry and howry に従い、縦切スライドに喀痰の粘稠部を比較的広範囲に塗抹、孵器内で充分乾燥後 4% H_2SO_4 中に 20 分間孵器内で前処置した後、滅菌蒸溜水にて 2 回洗滌し、各薬剤を種々なる濃度(1, 10, 100 τ/cc)に混入した 12 万倍マラカイト緑加 Kirchner 培地(10% の割合に牛血清を加えてある)に各濃度毎 2 枚ずつ縦切スライドを入れ、1 週間培養後取り出し、火焰固定後 Ziehe-Neelsen 染色、弱拡大(10×20)にて鏡検、成績を判定した。

3) 判定方法: 小川法の場合は培地上に発育した菌集落数により次の 3 段階に区分記載した。

+…集落数 1 コから 100 コ迄

++…集落数 100 コから 300 コ迄

+++…集落数 300 コ以上で培地全面に発育を認めたもの

S. C 法の場合は菌の発育増殖程度に応じて次の 4 段階に区分記載した。

±…抗酸性菌は認められるが増殖形の認められないもの

++…繩状、塊状の増殖形が各視野に僅かながら認められるもの

+++…更に増殖形が増加し繩状、塊状の増殖形が各視野を満たしているもの

判定方法の基準は、対照培地と同程度に発育した最高濃度を以つて耐性を判定した。対照培地に菌の発育が少ない場合は判定不能とした。

B 実験成績

(I) 塗抹陰性喀痰 500 例について S. C 法と小川法とを併用した場合の菌の発育を示した最高濃度件数の比較(3 種薬剤の合計)

第 1 表 500 例の S. C 法と小川法との比較成績

(表中の数字は菌の発育を示した最高濃度における件数を示す)

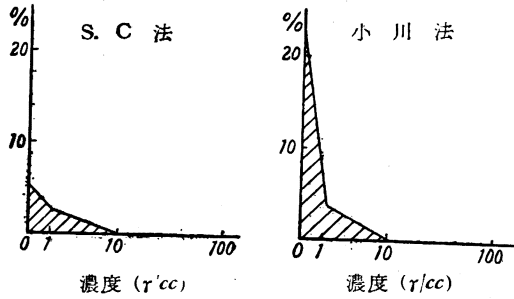
方法	濃度 τ/cc	0	1	10	100	計	%
S. C 法		18	8	9	2	31	6.2%
小川法		107	31	10	4	152	30.4%

備考: 0 τ とは対照培地を示す

両法の比較成績は第 1 表の如く、塗抹陰性喀痰 500 例を通じ対照培地及び 1 τ 以上に菌の発育を示したもの S. C 法においては 31 例(6.2%)であり、小川法においては 152 例(30.4%)で、小川法は S. C 法に比して高値を示したが、500 例中対照培地及び薬剤 1 τ 含有培地に菌の発育を示したもの S. C 法では 26 例(5.2%)小川法では 138 例(27.6%)で、その測定値にはかなり懸隔が認められるが、10 τ 以上 100 τ 含有培地に菌の発育を示したもの S. C 法では 5 例(1%)小川法では 14 例(2.8%)で著差は認められなかつた。換言すれば S. C 法、小川法両法において 500 例を通じ 10 τ 以上の濃度含有培地に発育を示すものは少ない。なお塗抹陰性喀痰 500 例中、対照培地の菌の発育の有無により S. C 法と小川法とを比較すると次の如くである。

- (1) S. C 法陰性で小川法陰性なもの……348 例
 - (2) S. C 法陰性で小川法陽性なもの……121 例
 - (3) S. C 法陰性で小川法陰性なもの…… 0
 - (4) S. C 法陰性で小川法陽性なもの…… 31 例
- なお第1表の成績を図示すると第1図の如くである。
第1図において両法における山の形は近似した様相を示

第1図 500 例の S. C 法と小川法の比較成績
(菌の発育を示した最高濃度における件数の比較)



したが、その高さにおいて懸隔が認められるのは両法における測定値の懸隔を示すものであろう。特に第1図よりわかるように、対照培地及び 1^r 含有培地に菌の発育を示すものの件数は小川法は S. C 法に比しかなり優位を示した。

(II) 薬剤別に見た S. C 法と小川法との比較 塗抹陰性喀痰 500 例を薬剤別に S. C 法と小川法とを菌の

第2表 SM 272 件について
(表中の数字は菌の発育を示した最高濃度における件数)

方法	濃度 r/cc	0	1	10	100	計	%
S. C 法		11	4	3	2	20	7.3%
小川法		50	20	10	4	84	30.8%

発育を示した最高濃度における件数を比較した成績は第2, 3, 4 表の如くである。SM 272 例における成績は第

第3表 PAS 188 件について S. C 法と小川法との比較
(表中の数字は菌の発育を示した最高濃度における件数)

方法	濃度 r/cc	0	1	10	100	計	%
S. C 法		5	3	0	0	8	4.2%
小川法		49	7	0	0	56	29.7%

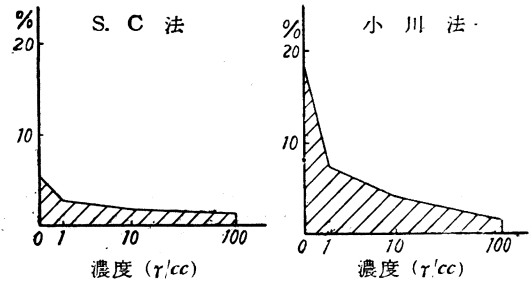
第4表 INAH 40 件について S. C 法と小川法との比較
(表中の数字は菌の発育を示した最高濃度における件数)

方法	濃度 r/cc	0	1	10	100	計	%
S. C 法		2	1	0	0	3	7.5%
小川法		8	4	0	0	12	30%

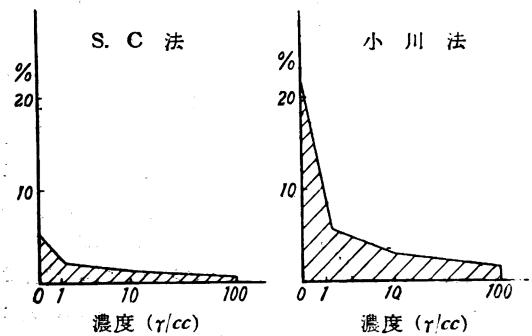
2 表の如く、0^r (対照培地) 以上 100^r迄に菌の発育を示した件数は S. C 法においては 20 例 (7.3%)、小川法においては 84 例 (30.8%) で小川法は S. C 法に比

し高値を示した。1^r 迄の濃度に菌の発育を示した件数は S. C 法においては 15 例、小川法においては 70 例で両法における懸隔は甚だしいように思われるが、10^r 以上 100^r 迄に菌の発育を認めた件数は S. C 法においては 5 例 (1.8%) で小川法においては 14 例 (5.1%) で著明な差を認め得なかつた。PAS 188 例における成績は第 3 表における如く、1^r 以上に菌の発育を示した件数は S. C 法では 3 例小川法では 7 例で著差なく、10^r 以上 100^r 迄の濃度に発育する菌は両法とも認められなかつた。INAH 40 例における成績は第 4 表における如く、1^r 以上に菌の発育を認めたもの S. C 法では 1 例、小川法では 4 例で著明な差は認められなく、10^r、100^r の濃度に菌の発育を認めたものはなかつた。第 2, 3, 4 表を図示すると第 2, 3, 4 図の如くである。第 2,

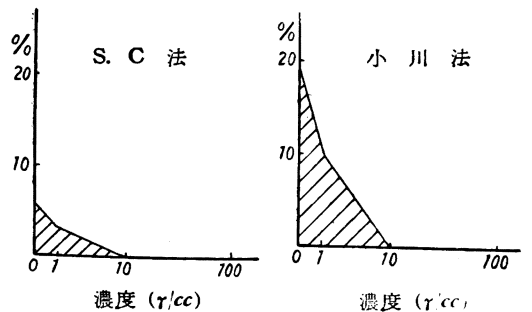
第2図 SN 272 件について S. C 法と小川法との比較
(菌の発育を示した最高濃度における件数の比較)



第3図 PAS 188 件について S. C 法と小川法との比較
(菌の発育を示した最高濃度における件数の比較)



第4図 INAH 40 件について S. C 法と小川法との比較
(菌の発育を示した最高濃度における件数の比較)



8, 4 図から SM, PAS, INAH のそれぞれの場合において両法の山の形の近似性を認め得るが、山の高さにおいて比較的著しい懸隔が認められる。これは小川法が S. C 法に比し高値を示す結果を物語るものと思われる。

すなわち、全体を通じて 1^r 迄菌の発育を示す件数では小川法は S. C 法に比し優位にあつたが、 10^r 以上 100^r 迄の濃度に菌の発育を示す件数では特に SM の場合やや懸隔があるように思われるが、PAS, INAH の場合では両法共に 10^r 以上に発育する菌を認め得なかつた。以上 I, II の実験成績を総括して塗抹陰性喀痰 500 例につき、S. C 法と小川法とを併用し両法の耐性測定値（対照と同程度に発育を示した最高濃度）を比較した成績は次のようであつた。

- (1) 両側定値が完全に一致したもの…366 件 } 98.8%
 (2) 両側定値が殆んど一致したもの…126 件 }
 (3) 両側定値に著明な差が生じたもの…6 件—1.2%

著明な差を生じた 6 件はいずれも小川法が S. C 法に比し高値を示した。6 件中小川法では 100^r 完全耐性株 1 件、 10^r 完全耐性株 5 件であるのに反し、S. C 法では全く菌の発育を認めなかつた。

総括並びに考按

従来 S. C 法が含菌量の少ない場合その価値が高く評価されていないが、われわれは塗抹陰性喀痰 500 例について S. C 法と小川法とを比較検討した。その比較成績は前述の如く塗抹陰性喀痰 500 例中菌の発育を示した最高濃度における件数において小川法は S. C 法を凌駕する成績を示し、かなりの懸隔が認められたが、この傾向は対照培地ならびに 1^r 含有培地に発育を示す件数において特に著明で、 10^r , 100^r 含有培地に発育を示す件数においては著明な差が認められなかつた。水溜²⁾は塗抹陰性喀痰 225 例について S. C 法と岡・片倉培地を用うる方法とは比較し、前者は 8.4% 後者は 15.1% に陽性例を証明している。われわれは 500 例の塗抹陰性喀痰について S. C 法、小川法両法を対照培地より 100^r 迄の濃度に菌の発育を示す件数によつて比較し、前者では 6.2%、後者では 30.4% の陽性例を証明した。すなわちわれわれの実験においては小川法は S. C 法を遙か

に凌駕する結果を示したと言えよう。しかしその耐性値（対照と同程度に発育を示した最高濃度）を両法について比較すると、98.8% は殆んど一致した測定値を示し、1.2% にのみ著明な差を認めた。この事は 10^r 以上 100^r 迄の濃度に菌の発育を示した件数においては、両法の間に著明な懸隔が認められなかつたためと思われる。

結 論

われわれは塗抹陰性喀痰 500 例について、小川法とスライド・カルチュア法（S. C 法）とを併用して抗結核剤に対する耐性検査を行なつて、次の如き結論を得た。

1) 500 例を通じ両法の耐性値（対照培地と同程度に発育を示した最高濃度）を比較すると、98.8% において一致した成績を示し、1.2% に著明な差を生じた。

2) 塗抹陰性喀痰 500 例につき両法を菌の発育を示した最高濃度における件数（ 1^r 以上 100^r 迄）について比較し、S. C 法において 13 例（2.6%）、小川法においては 45 例（9%）の陽性例を証明した。

3) 塗抹陰性喀痰 500 例について対照培地に菌の発育を認めた件数につき S. C 法及び小川法を比較し、前者では 31 例（6.2%）、後者では 152 例（30.4%）の陽性例を証明した。

4) SM, PAS, INAH 各薬剤を通じて対照培地ならびに 1^r 迄の濃度に菌の発育を示す件数では小川法は S. C 法を遙かに凌駕する成績を示したが、 10^r 以上 100^r 迄の濃度においては両法の間に著明な差を認め得なかつた。特に PAS 及び INAH においては 10^r 以上の耐性菌が両法を通じて全く得られなかつたことは、注目に値する。

擧筆に当り御指導、御校閲を賜つた牛場教授並びに堀所長に深謝し、御協力の労を惜しまれなかつた同僚各位に感謝する。

文 献

- 1) Berry, J. W. and Lowry, H.: Am. Rev. Tuberc., 60: 51, 1949.
- 2) 水溜章: 慶応医学, 31: 169, 昭 29 (1954).