

結核菌培養に関する研究

第1報 主として岡・片倉培地の1回

滅菌と3回滅菌の比較

国立療養所天竜荘 (荘長 中村健治)

伊 藤 善 朗
 北里研究所 水 之 江 公 英
 宮 川 秋
 反町診療所 高 成 田 二 郎

(受付 昭和 29 年 10 月 29 日)

I 緒 言

われわれの研究目的は、如何にして簡単な方法で、陽性率高く且つ早く、喀痰等可検材料より結核菌を培養できるかという点である。われわれは先に前処置の問題を取り上げ、予報的に第7回厚生省医務局研究発表会において、逆性石鹼オスパンを使用して、硫酸処置に比較して、その陽性率が幾分劣るようであるが、遠心沈澱と云う煩雑な操作なしに簡単に行いうる点で有利であり且つ又陽性率も今少しの工夫すなわちオスパンの濃度の問題及び前処置の時間等の工夫で使用し得るのではあるまいかと述べてきた。ここでは分離培養基について、現在日本の各地で使用されている岡・片倉培地を土台として、主として滅菌の問題特に1回滅菌と通則として行っている3回滅菌の比較を、5000余例について行い、幾分統計的考察を加えたので、ここに報告して御批判を得たいと思う。

II 実験材料並びに方法

実験に供した可検材料は病院及び開業医から依頼されたすなわち患者と思われる者の喀痰、尿又は尿であつて、その大部分は喀痰である。その詳細は第1表の通りで1ヵ月最少で昭和26年9月の約250件から最大は昭和27年6月の436件で、昭和27年7月及び8月の872件及び748件の中には或大工場の集団検診の喀痰が含まれている。岡・片倉培地の製法は原液に硫酸マグネシウムを1lに対し0.6gを加える以外は成書に記載の通りに作製、滅菌は滅菌器内の水温と被滅菌試験管内の温度が同温度になるような特殊滅菌器で最初56°C 30分の後85°Cに上昇させ、85°C 30分保たせ取り出す。これを1回滅菌培地とし、3回滅菌とは、2回及び3回目の滅菌は85°C 30分で仕上げた。前処置は4%硫酸を用い、前処置20分の後、3000回転20分遠沈し、その沈渣を1回及び3回滅菌培地の各々1本宛計2本に平等に塗抹培養し、毎週火曜に観察して成績を読み、2ヵ月観察して結核菌集落の認められないものを陰性とした。

第1表 可検件数及び陽性並びに汚染率

	培養件数	陽 性		汚 染	
		件 数	百分率 (%)	件 数	百分率 (%)
昭 ²⁶ 9	257	52	20.2	14	5.4
10	322	64	19.8	37	11.8
11	324	42	12.9	58	17.9
昭 ²⁷ 12	317	70	22.0	13	4.1
1	273	57	20.9	9	3.3
2	334	72	21.5	3	0.9
3	348	66	19.0	7	2.0
4	305	82	26.8	3	1.0
5	363	105	28.9	9	2.5
6	436	97	22.2	2	0.5
7	872	131	15.0	9	1.0
8	748	118	15.8	21	2.8
9	196	57	29.0	5	2.5
(1~12日)					
合 計	5,095	1,013	19.8	190	3.7

III 成 績

1) 全般に亘る成績

a) 陽性率：平均陽性率は19.8%であるが、後述の汚染率の高かつた昭和26年10月及び11月又集団検診の可検物のはいつた昭和27年7月、8月を除いてみると、最低は昭和27年3月の19%、最高が昭和27年5月の28.9%及び9月の29%で平均23.4%であつた。4月及び5月は26.8%及び28.9%でともに他の月に比較して高率のように思われる。集団検診の可検物のあつた7月は15%、8月は15.8%でともに他の月に比し低率であつた。

b) 汚染率：平均値は3.72%であるが、昭和26年9月の後半から12月初旬迄、卵の消毒に昇汞を用いずオスパンを使用したので、消毒不充分的為、その期間、特に10月及び11月の汚染率は高率であつた。この期間の汚染率を除いてみると、昭和27年1月の3.3%が最高であつて、6月の0.5%が最低、平均値1.8%で

あつた。

c) 集落数：第2表のように、両培地に出て来る集

第2表 両培地上の集落数並びに相関関係

(1)	0	1~10	11~20	21~30	31~40	41~50	51~100	101以上	汚染例	(3) 計
0		126	5	6	1	0	1	1		140
1~10	94	162	17	6	1	1	1	0	12	294
11~20	3	14	13	16	5	1	2	0	2	56
21~30	2	1	13	10	6	6	10	0	4	52
31~40	0	1	2	8	4	1	9	0	4	29
41~50	0	1	0	0	2	11	11	0	3	28
51~300	0	1	4	4	3	1	204	15	8	240
301以上	0	0	0	0	0	0	3	102	4	109
汚染例		16	5	7	3	5	23	6		65
計(1)	99	322	59	57	25	26	264	124	37	1013

第3表 集落発現日数一覧表

集落番号	(1)	(3)	1	16	21	26	31	36	41	46	51	計	片方のみ	片方のみ	汚染	合計
			15	20	25	30	35	40	45	50						
26	(1)	0	5	6	13	8	2	1	1	0	36	9	7			52
	(3)	0	5	8	14	9	2	0	0	0	38	11	3			
10	(1)	0	3	13	17	10	6	1	0	1	51	10	3			64
	(3)	0	5	13	13	11	5	0	0	0	47	14	3			
11	(1)	0	6	8	7	2	4	1	1	2	31	1	10			42
	(3)	0	3	11	8	2	5	1	1	2	33	3	6			
12	(1)	2	2	19	13	20	3	2	6	1	62	6	2			70
	(3)	2	0	15	10	20	4	1	0	0	52	6	12			
27	(1)	0	2	11	10	9	7	6	5	2	52	3	2			57
	(3)	0	1	10	9	8	3	7	4	2	44	8	5			
2	(1)	3	18	9	12	5	9	2	0	1	59	9	4			72
	(3)	3	19	10	10	6	6	5	0	0	59	8	5			
3	(1)	0	5	11	10	14	10	3	2	1	56	8	2			66
	(3)	0	6	12	12	13	3	2	3	2	53	10	3			
4	(1)	1	20	15	18	15	3	0	1	2	75	6	1			82
	(3)	1	20	14	16	9	1	2	2	2	67	7	8			
5	(1)	3	10	29	22	28	1	1	2	0	96	7	2			105
	(3)	2	9	31	17	23	0	1	3	0	86	13	6			
6	(1)	2	20	34	18	9	6	1	0	0	85	12	0			97
	(3)	2	17	30	12	10	9	0	1	0	81	13	0			
7	(1)	0	10	43	34	17	8	4	3	1	120	11	0			131
	(3)	0	9	41	30	11	3	2	5	2	103	20	8			
8	(1)	1	22	36	27	16	4	1	0	1	108	8	2			118
	(3)	1	22	33	24	15	2	2	0	1	100	16	2			
9	(1)	0	12	18	7	1	4	2	1	1	46	9	2			57
	(3)	0	12	16	8	1	2	1	0	5	45	11	1			
計		23	263	496	386	292	112	49	35	29	1685	239	102			202
百分率		1.4	15.6	29.4	22.9	17.3	6.7	2.9	2.1	1.7						

落数の中最も多いのは1~10個の所で全体の約30%、次が51~300個の約25%であつた。

d) 集落発現日数：第3表のように、最短のものは15日以内に発育の認められたもので全体の1.4%、最も長いものは50日以上60日の間に認められたもので1.7%で、2カ月の観察は是非行わねばならないことを示している。最も多数発現したのは21~25日の所で29.4%、次が26~30日の22.9%で、1カ月間に約70%が、35日迄には86%の発育が認められた。

2) 両培地の比較

a) 陽性率の比較：その詳細は第4表の通りで、どちらかの培地に陽性を示したものは1013件で、内両方

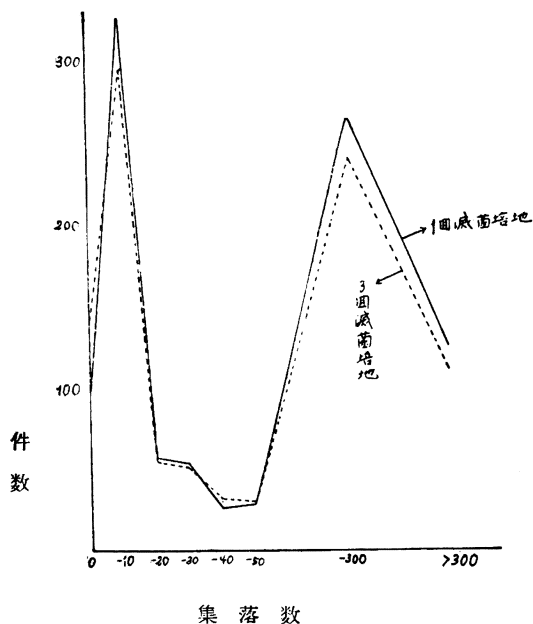
第4表 陽性一覧表

集落番号	陽性	両培地共陽性		片方培地のみ陽性			片方陽性(他方汚染)			
		件数	%	(1)	(3)	%	(1)	(3)	%	
25	9	52	22	44	11	9	39	3	7	21
	10	64	34	53	14	10	88	3	3	9
27	11	42	22	50	3	1	14	6	10	36
	12	70	44	63	6	6	17	12	2	20
1	1	57	39	68	8	3	19	5	2	13
	2	72	46	64	8	9	24	5	4	12
4	3	66	43	65	10	8	27	3	2	8
	4	82	60	73	7	6	16	8	1	11
5	5	105	77	73	13	7	18	6	2	9
	6	97	63	31	13	12	26	3	0	3
7	7	131	92	63	20	11	25	8	0	6
	8	118	90	76	16	8	20	2	2	4
9	9	57	34	60	11	9	35	1	2	5
	(1~12日)									
合計		1,013	672	66.3	140	99	23.9	65	37	9.8

の培地共陽性のものは672件、66.3%、どちらか片方の培地にのみ陽性だったものは23.9%、片方が陽性で他方が汚染されたものは9.8%であつた。この1013件を菌排泄者とみなし、両培地の陽性を比較してみると、1回滅菌培地では陽性件数877件、86.3%、3回滅菌培地では808件、79.7%で1回滅菌培地が6.6%(統計学的に0.3%の危険率で有意義)陽性率の高いことを示している。片方陽性で他方汚染の例で、若し汚染が起らなかったら陽性になり得る可能性があるとして、この両者の例数を、両方の陽性数から引いて比較してみると、1回滅菌培地の陽性件数812件、80%、3回滅菌培地は771件、76%で1回滅菌培地が4%(統計学的に3%の危険率で有意義)陽性率の高いことを示している。

b) 集落数の比較：集落数の度数曲線は第1図に示す。すなわち陰性の部分では1回滅菌が3回滅菌に比較して低いが、1~10個の所で1回滅菌高く、41~50個の所迄はほとんど同じで、51~300個の所で高く、301以

第1図 集落数の度数曲線



上の所もお且つ高い成績である。すなわち1回滅菌の方が集落数の多いものが多かつたことを示している。これを X^2 Test を行つてみると1%の危険率で有意なことが証明された。又第2表をみると、1回滅菌培地で陰性のもので、3回滅菌培地に陽性のものの集落数は大体1~30個のものであるが、逆に3回滅菌培地で陰性のもので1回滅菌培地で陽性のものの集落数は、勿論1~10個のものが大多数であるが、51~300個のもの又は301個以上のものも各々1件宛あつた。

IV 考 案

1) 陽性率：病院及び開業医からの検査物は自覚症状のある患者からのものであるが、このような材料からの陽性率は19%から29%で平均23.4%、これは小川²⁾氏及び金沢³⁾氏等の報告よりは低率である。集団検診のはいつた7, 8月では約15%位に下つているが、これは自覚症状を訴える患者と異つて、レントゲンで異状を認めた者の喀痰であることが陽性率の低下に出てきているのではないだろうか。又昭和26年4月及び5月の高率なのは、臨床上春になつて症状の悪化する時期と一致する成績に興味ある事実と云わねばならない。

2) 汚染率：0.5%から3.3%迄で、時期的に関係があるような成績は得られなかつた。卵の消毒にオスパンを用いてかなり高い汚染率が出てきたが、この事実は卵の消毒を嚴重に実施すべきことを物語っている。

3) 集落数：1~10個迄が約30%、51~300個迄が25%で二つの山を作つているようだが、51~300個の間隔は前者の間隔の25倍になるためであつて、後者の

大きい山は10⁷個宛の小さい間隔でゆけばなくなつて来ると思う。すなわち一番多く出る集落数は1~10個であつて、陽性の30%はこの集落数のものであつた。

4) 集落発現日数：最も多く発現した日数は26~30日で、約30%であつた。21~30日間に約50%、又1ヵ月以内に発現するものは約70%、35日迄に発現するものは約86%で大半が35日以内に発現することを示しているが、又51~60日の間に発現する1.7%のある事に注意せねばならないと思う。すなわち培養を観察して打切る期間は少なくとも60日の観察が必要であると思う。

5) 1回滅菌培地と3回滅菌培地の陽性率の比較：いずれの培地にしろ陽性に出た1013件を菌排泄者とみなし、両培地に陽性に出た数の百分率及び両培地の陽性数から、他方汚染の陽性例を引いた数の百分率を比較して、統計学的に有意な差で1回滅菌の方が陽性率の高いことを示している。

6) 両培地の汚染率の比較：汚染の記載が不充分のため、両者の汚染統数の比較はできないが、一方陽性一方汚染の例をとつてみても、1回滅菌培地の汚染件数37件、他方汚染件数67件で前者が約半数であることをみても、前者の汚染例が後者の汚染例より多いとは云い得ないと思う。両者の間に大した差がないとみるのが順当ではないだろうか。

7) 両培地の集落数の比較：3回滅菌培地で陰性のもので、1回滅菌培地に集落数が多く認められたものあるに反し、前者が陽性で後者の陰性のものは、その集落数も少なく認められた点又集落数の度数曲線を書き、 X^2 Test を行つてみると1%の危険率で有意なことが判つた。すなわち1回滅菌培地の方が集落数の多い陽性例が多いことを示している。

8) 両培地の集落発現日数の比較：両者の間に差を認めることはできなかった。

9) 以上の結果からして、1回滅菌培地は3回滅菌培地に比較して、陽性率及び集落数の点で優れているとい得よう。その原因は有用易熱性物質の破壊によるものか又は加熱による物理的の条件の為によるものか、前者ではVC, VB₁及びVB₆が、後者では加熱により培地が堅くなる為であろうか、一応追求するつもりでいる。

V 結 論

1) 病院及び開業医依頼の可検物の結核菌陽性率は19%から29%迄で平均23.4%で、汚染率は平均1.8%に認められた。集落数は1~10個のものが最も多く陽性者の30%はこの集落数を示した。集落発現日数は35日迄に86%が認められたが、なお50日以上で認められる例もあるから60日の観察期間は是非必要であると思う。

2) 1回滅菌培地は3回滅菌培地に比し、陽性率及び集落数の点において優っている。

欄筆に臨み統計的觀察に御助言を頂いた公衆衛生院立川、白井両先生に深く謝意を表します。

~~~~~