

抗結核薬に対する耐性結核菌の迅速検査法

小川辰次・長田進・小関勇一

北里研究所付属病院
労働結核研究会
財団法人結核予防会結核研究所

受付 昭和31年2月1日

1 緒 論

迅速法には、Wright¹⁾ (1924) の Slide Cell Culture^{2)~11)}, Pryce¹²⁾ (1941) や Berry, Lowry¹³⁾ (1949) の Slide Culture Method^{14)~16)} および植田教授¹⁷⁾ 等の遠心管内培養法¹⁸⁾¹⁹⁾ 等に基礎をおいたものがある。これらの方法は一長一短があり、同一に論ずることはできないが、操作が容易でなく、かつ要する資材も Slide Cell Culture 法 (S. C. C. と略) では全血液が必要であり、その他の方法では、血清や血漿が必要である。したがって実施できる所は、かなり制限される。われわれは手技が容易で、血清を必要としない迅速法を考案したので、ここに報告する。なおこの一部は昭和27年10月、文部省科学研究費結核研究班細菌科会および昭和28年5月、日本細菌学会総会で発表した。

2 基礎実験

1) Slide Culture Method (以下 S. C. M. と略) と重層培地による培養との顕微鏡的集落の比較

喀痰を滅菌した乳鉢でよく摺り、なるべく均等とし、これを縦に半切した滅菌載物ガラスに、一白金耳宛塗抹、乾燥し、6%硫酸水で20分処理し、さらに滅菌蒸溜水で10分宛3回洗つて、これを5cc宛分注した Kirchner 培地に培養した。残つた喀痰に4%靑性曹達水を加えて約10倍に稀釈し、充分振盪してまぜ、その0.1cc宛を2本の重層培地に培養し、これらを37°Cの孵卵器に入れて2日、3日……9日と載物ガラスをとり出し、また重層培地は、振盪して、1白金耳宛を載物ガラスに、直径1cmの円形になるように塗抹し、両者共、乾燥、固定 Ziehl-Neelsen 氏法で染色、50倍および200倍の乾燥系

表 1 S. C. M. と重層培地の顕微鏡的集落の發育の比較 その一 集落の数

患者番号	方 法	培養期間(日)								
		鏡檢倍率	2	3	4	5	6	7	8	9
(1) G10号	S. C. M.	5 × 10	-	+	+	+	+		+	
		5 × 40	+	+	+	+	+			
	重層培地	5 × 10	-		26.2	53.5	48.0	36.8	35.0	54.4
		5 × 40	2		3.3	6.0	3.2	4.0	2.6	3.0
(2) G3号	S. C. M.	5 × 10	-		+	-	-	-	-	
	重層培地	5 × 10	-		※ 4.0	※ 2.0	※ 5.0	3.8	5.3	
(3) G5号	重層培地	5 × 10	-	-	-	10.0	11.6			
		5 × 40	-	1.0	2.2	3.0	3.3			
(4) G10号	重層培地	5 × 10	-	-	-	※ 3	※ 6			

註 1) S. C. M. の +, +, +, +, 等は、集落数が多くて数えきれないことを示し、+の数の多い程、集落数の多いことを示す。
 2) 数字は、10視野平均の集落数を示す。
 3) ※は全標本中の集落数を示す。
 4) Gはガフキー番号を示す。
 5) 重層培地は、中試験管の底に1% KH₂ PO₄ 培地1cc でかためその上に次のような組成の液体培地を4cc 無菌的に加えたものである。

KH ₂ PO ₄	1.0 g	} これに馬血清を10%に加える。
Na ₂ HPO ₄	0.3 g	
アスパラギン	0.5 g	
寒 天	0.1 g	
グリセリン	2.0 cc	
0.1% マラカイト緑	1.0 cc	
蒸 溜 水	100.0 cc	

表2 S. C. M. と重層培地の顕微鏡的集落の發育の比較 その二 集落の大きさ

方法		S. C. M.		重層培地	
2	日	4 μ 前後	大部分は単個菌 2ヶ程度のものが少々	4 μ × 2 μ 前後	単個菌は少ない 4~5ヶ程度のもが多い
3	日				
4	日	4 μ 前後 7 μ	大部分は単個菌 2~3ヶ程度のもが前者より多い	10 μ × 2 μ 14 μ × 4 μ 16 μ × 2 μ	大部分が顕微鏡的集落
5	日	4 μ 前後 5 μ 7 μ × 2 μ	単個菌が多い 無数の菌群のもが多少	14 μ × 8 μ 16 μ × 16 μ 20 μ × 6 μ 30 μ × 8 μ 30 μ × 10 μ	
6	日	10 μ × 2 μ 12 μ × 2 μ	大部分が顕微鏡的集落	18 μ × 12 μ 20 μ × 14 μ 28 μ × 20 μ 36 μ × 30 μ 50 μ × 20 μ	
7	日			24 μ × 8 μ 30 μ × 10 μ 30 μ × 20 μ 34 μ × 30 μ	
8	日	4 μ × 4 μ 8 μ × 2 μ 10 μ × 2 μ 12 μ × 4 μ	大部分は顕微鏡的集落を作っているが、単個菌も多い	30 μ × 6 μ 30 μ × 14 μ 28 μ × 20 μ 32 μ × 20 μ 40 μ × 20 μ	

註 1) 4 μ 等と記したのは縦の長さのみであつて、横の長さは、測定不可能のものである。
2) 4 μ × 2 μ と記したのは縦の長さ×横の長さである。

で検鏡し、10視野の集落数を数え、1視野平均の数を出した。成績は表1のようである。S. C. M. と、重層培地における集落数は、用いた略痰の量が異なるので比較することは不可能である。それで両方法別々に培養日数と集落数の関係を見た。ただし患者(1)では S. C. M. は集落数が多くて数えることができなかつたし、患者(2)では4日目に1度陽性であつただけなので、培養日数と集落数の関係を見ることは不可能であつた。重層培地では3日以前では、50倍の拡大による検鏡では集落の決定はむづかしく5×40で決定できる程度の大きさである。5日~7日以後では一見して判定できる程度となり、数も増してくる。次に患者(1)の標本の集落の大きさを Micrometer ではかつた。すなわち顕微鏡的集落の最も大きいもの、中等度のもの、最も小さいものの2~3を縦と横の最も広い部分をとつて記載した。その成績は表2のようである。すなわち両方法共に培養日数の増すと共に、次第に大きさを増しているが、培養期間の同一のものではいずれも重層培地の方が大きい。

2) 迅速用重層培地の考案

(i) 2~3の試作培地による迅速法

迅速法では載物ガラスに塗抹して集落を見るのであるからして、集菌してなるべく多くの集落をつかむことが必要である。それでわれわれは中試験管の半分の長さの短い試験管を滅菌し、1% KH₂ PO₄ 培地 1cc で斜面とし、さらに、液体培地 4cc を加えて培養1週後に遠沈して、沈渣を染色して見ることにした。また血液、血清、血漿等を用いれば雑菌の侵入も多いし、また現在のわが国では、血清の入手はなかなか困難である。われわれは先に重層培地における普通培養法では、血清を除去した重層培地でも陽性率において大差なく、肉眼的集落の發育が2~3日おくれる程度にすぎないことを発表した²⁰⁾。それで迅速法においても、血清を除去した培地が使用できるのではないかと思ひ、次のような迅速用培地を試作し比較実験した。

なお重層培地では、表1註に見るように、集落を液中に撒布されたように發育させるために寒天を混入してあるが、迅速法では、集菌するのでその必要はないので除去した。

試作培地の種類

名称	斜面	液	休	培	地
a	全卵を使用した 1% KH ₂ PO ₄ 培地 1cc	KH ₂ PO ₄ 1.0 g Na ₂ HPO ₄ 0.5 g アスパラギン 0.5 g グリセリン 2.0 cc 0.1%マラカイト緑 1.0 cc 蒸溜水 100.0 cc	+血清	10%	4 cc
b	卵黄を使用した 1% KH ₂ PO ₄ 培地 1cc	aより血清を除去したもの 4 cc			
c	全卵を使用した 1% KH ₂ PO ₄ 培地 1cc	aより血清を除去したもの 4 cc			

方法：略痰を4%苛性曹達水で10¹, 10², 10³倍等に稀釈してその0.1cc宛を、a, b, cの迅速培地に1本宛対照として3% KH₂PO₄培地、あるいは重層培地に2本宛培養し、a, b, cの培地では、1週後に1,500廻転で10分遠心し沈渣を塗抹、染色、前実験のようにして50倍で検鏡し、集落数を数え、また大きさはかつた。3% KH₂PO₄培地、重層培地では4週目に発育した集落数を数え平均した。

成績：集落数の比較は、表3のようであつて、患者(7)(8)のa培地の陰性は、恐らく技術的な誤差かと思われる。集落の数えられない程多いところでは、著明の差はないものようであるが数えられるところでは、集落数がa, b, cの3培地で同じと考えられるものは、患者(4) 5×40, (7) 5×40, (9) 5×40, (11) 5×10, 5×40であつて

表3 迅速用重層培地の検討 その一 集落数

患者番号	顕微鏡の拡大倍率 迅速用培地の種類 略痰の稀釈倍率	5 × 10			5 × 40			3% KH ₂ PO ₄ 培地 あるいは 重層培地
		(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)	
(1) G 5号	10 ¹	■	■	■	■	■	■	■
(2) G 8号		■	■	■	90.5	■	■	■
(3) G 0号		■	■	■	■	■	■	■
(4) G 0号		■	■	■	14.6	15.0	25.0	■
(5) G 0号		150	■	■	10.0	19.0	80.0	■
(6) G 0号		■	■	■	40.0	28.5	19.5	■
(7) G 0号		-	16.6	52.0	7.3	6.2	8.6	■
(8) G 0号		-	15.2	56.0	-	1.8	9.0	■
(9) G 10号	10 ²	13.3	45.4	52.0	7.5	5.8	3.8	■
(10) G 8号	10 ³	■	■	■	48.5	9.3	34.0	■
(11) G 6号		5.0	4.0	4.0	5.2	1.3	3.2	3

註 1) 迅速培地の下の欄は集落数を示す(1週間培養)。■, ■, ■, 等は集落数が多くて、数え切れないことを示し、+の多い程、集落数の多いことを示す。数字は、10視野平均の集落数を示す。
2) 3% KH₂PO₄培地、あるいは重層培地の欄は、3% KH₂PO₄培地では4週目、重層培地では3週目の集落数を示す。
3) Gはガフキー番号を示す。

表4 迅速用重層培地の検討 その二 集落の大きさ

迅速培地の種類 患者番号	(a)	(b)	(c)
(4) G 0号	9μ × 2μ	10μ × 2μ	18μ × 4μ
	9μ × 9μ	55μ × 4μ	18μ × 18μ
(5) G 0号		18μ × 10μ	20μ × 4μ
		30μ × 4μ	24μ × 14μ
		40μ × 10μ	30μ × 4μ
		60μ × 8μ	32μ × 6μ
(6) G 0号	20μ × 20μ	24μ × 6μ	10μ × 4μ
	26μ × 6μ	30μ × 10μ	20μ × 6μ
	30μ × 10μ	30μ × 20μ	30μ × 14μ
	30μ × 16μ	40μ × 20μ	20μ × 20μ
(8) G 0号		17μ × 2μ	20μ × 2μ
		35μ × 2μ	35μ × 4μ
		35μ × 4μ	52μ × 4μ
		52μ × 4μ	
(10) G 0号	10μ × 2μ	6μ × 6μ	8μ × 4μ
	11μ × 2μ	10μ × 2μ	10μ × 4μ

註 1) 集落の大きさは、最も大きいもの、最も小さいもの、およびその中間程度のものあげた。
2) 9μ × 2μ等は縦の長さ×横の長さを示す。
3) Gとはガフキー番号を示す。

cが最も多いものは、(5) 5×40, (7) 5×10, (8) 5×10であり、(10) 5×40ではbが最も少なく、(6) 5×40ではaが最も多い等であつて、一定の傾向をつかむことはできない。表4は、表3の患者の一部、すなわち、(4)(5)(6)(8)(10)のa, b, c培地の集落の大きさをはかつたものであつて、この場合でも3培地における傾向をつかむことはできない。

(二) 試作迅速用培地による普通培養

(イ)におけるa, b, cの培地に寒天を0.1%に加えて培地を作り、略痰を前同様4%苛性曹達水で10¹~10⁴倍に稀釈して各稀釈毎に2本の培地に0.1cc宛培養し16日後に肉眼的集落数を数えた。成績は表5のようである。

すなわち集落の数えられないところでは、b, cにおいて集落の小さいものもあつたが、集落の数えられるところでは、a, b, cの3培地間に著明の差はない。

(イ) 迅速用培地の液体の部分の組成

(イ)(二)の実験からc培地、すなわち液体培地には、血清を除去した培地でも使用できるし、斜面は全卵でもよいことが証明された。それで液の組成は、

表5 迅速用重層培地の検討 その三
迅速用培地を普通培養に応用した実験

患者番号	稀釈倍数 培地	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
		(1) G5号	(a) Ⅲ Ⅲ Ⅲ Ⅲ	(b) Ⅲ Ⅲ Ⅲ ※+	(c) Ⅲ Ⅲ Ⅲ ※+
(2) G10号	(a)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	31.0
	(b)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	23.0
	(c)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	17.5
(3) G7号	(a)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	62.0
	(b)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	54.0
	(c)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	49.0
(4) G7号	(a)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	+
	(b)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	+
	(c)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	※+

註 1) 欄中の数字は集落数を示しⅢ, Ⅲ, Ⅲ, Ⅲ, Ⅲ, 等は数が多くて数えられないことを示し, +の数の多いもの程集落数が多いことを示している。
2) ※集落が多少小さいことを示す。
3) 培養成績の判定は16日である。
4) Gはガフキー番号を示す。

$\left\{ \begin{array}{l} \text{KH}_2\text{PO}_4 \quad 1.0 \text{ g} \\ \text{Na}_2\text{HPO}_4 \quad 0.3 \text{ g} \\ \text{アスパラギン} \quad 0.5 \text{ g} \\ \text{グリセリン} \quad 2.0 \text{ cc} \\ 0.1\% \text{ マラカイト緑液} \quad 1.0 \text{ cc} \\ \text{蒸溜水} \quad 100.0 \text{ cc} \end{array} \right.$

となつたわけであるが, Na_2HPO_4 は, 血清が混入される時は液が濁ってくるのを阻止するの必要であるが, われわれのように血清を除去した培地では, 恐らく必要

表6 迅速用重層培地の再検討

患者番号	稀釈倍数	培地の種類 検鏡倍率	(a)	(b)
			(1) G5号	10倍
		5 × 40	42.0	45.8
(2) G5号	5倍	5 × 10	Ⅲ	Ⅲ
(3) G6号		5 × 10	Ⅲ	Ⅲ
(4) G4号		5 × 10	150.0	123.0
(5) G5号	10倍	5 × 10	Ⅲ	Ⅲ
(6) G2号		5 × 10	2.0	4.0

註 1) 培地の種類は次のようである。
(a) ……従来の迅速用培地
(b) ……従来の迅速培地より Na_2HPO_4 を除去したもの
2) 数字は1視野中の平均の顕微鏡的集落を示す。Ⅲ, Ⅲ, は集落が多くて数え切れないことを示す。

なからうと思ひ, 従来の培地と Na_2HPO_4 を除去した培地を作り, 前同様にして喀痰を前処理して 0.1 cc 宛を培養し集落数を比較した。成績は表6のようであつて, 両者間に集落数において差を認めなかつた。

(イ) われわれの迅速法と 3% KH_2PO_4 培地による普通培養法との比較

(i) (イ) の実験から, われわれの使用する培地は表7のようになる。

表7 迅速用重層培地の組成

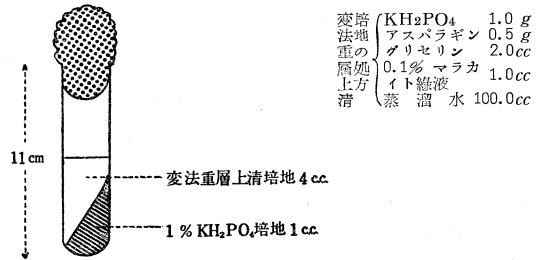


表8 迅速法と 3% KH_2PO_4 培地による培養との比較

患者番号	方法	稀釈倍数			
		10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
(1) G5号	3% KH_2PO_4 培地	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ
	迅速法	Ⅲ	Ⅲ	34	-
(2) G10号	3% KH_2PO_4 培地	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	17.5
	迅速法	Ⅲ	Ⅲ	+	-
(3) G7号	3% KH_2PO_4 培地	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	49.0
	迅速法	Ⅲ	Ⅲ	+	-
(4) G7号	3% KH_2PO_4 培地	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	+
	迅速法	Ⅲ	Ⅲ	+	-
(5) G7号	3% KH_2PO_4 培地	Ⅲ	Ⅲ	50.0	4.7
	迅速法	45.0	12.3	3.0	-
(6) G5号	3% KH_2PO_4 培地	Ⅲ	Ⅲ	65.0	7.3
	迅速法	74.0	14.0	7.5	-
(7) G0号	3% KH_2PO_4 培地	5.5	0.3	0.3	-
	迅速法	-	-	-	-

註 1) 欄中の数字は, 迅速法では10視野の平均集落数を示し, 3% KH_2PO_4 培地では, 肉眼的集落数を示す。
2) +, Ⅲ, Ⅲ, Ⅲ, Ⅲ, 等は, 集落が多くて, 数えられないことを示す。
3) 判定迄の期間は, 迅速法は7日, 3% KH_2PO_4 培地は5週間である。

すなわち 1% KH_2PO_4 培地を 1 cc 入れて血清凝固器で 90°C 1時間 で固め, あるいはコッホ釜で, 適當の斜面にして固めてもよい。これに処方のような液体培地をコッホ釜で1時間滅菌し無菌的に 4 cc 宛分注し, 37°C

に1昼夜放置して雑菌試験の上使用する。われわれの迅速法による検出と、3% KH_2PO_4 培地使用の普通培養による検出と、どの程度の差があるかと思ひ、喀痰を4%苛性曹達水で $10^1 \sim 10^4$ 倍に稀釈して、その0.1cc宛を迅速用培地1本3% KH_2PO_4 培地4本に培養し、迅速法では前同様7日後に遠沈、沈渣を塗抹、染色し50倍の拡大で検鏡して集落数を出し、3% KH_2PO_4 培地では、3週後の集落数を計算した。成績は、表8のようであつて、3% KH_2PO_4 培地で平均集落が10以下のもは、迅速法ではすべて陰性を示し、3% KH_2PO_4 培地の50前後の集落で、迅速法が漸く陽性を示す程度である。

3 本 実 験

1) 耐性検査の方法

耐性の検査を実施するには、この培地4~5本を用意する。

喀痰の前処理および培養：塗抹陽性の喀痰は、4%苛性曹達水を5cc宛分注した中試験管に、膿様の部分を、なるべく多く加え、塗抹陰性の喀痰では、8%苛性曹達水を喀痰に等量に加えて充分に均等化し、直ちにこれを1ccのメスピベットで0.1cc宛培養し、軽く振盪してまぜる。

薬液の作り方および混入の仕方：SM, PAS, INAHは滅菌蒸溜水で、 TB_1 は $\frac{1}{2}n$ のKOHで、無菌的に所定濃度の50倍の濃度の溶液を作る。すなわち1ccにつき、

SM……50,000 γ , 5,000 γ , 500 γ , 50 γ

PAS	} 5,000 γ , 500 γ , 50 γ , 5 γ
TB_1	
INAH	

のようである。

もし無菌的でなかつたと思つたら、濃度の最も濃い部分を重湯煎で10分前後滅菌してから順次10倍宛に稀釈して溶液を作る。そして濃度の低いものの方から培地に0.1cc宛加える。1本の培地は対照として抗結核薬を加えない。すると培地5ccにより抗結核薬が約50倍に稀釈されることになり、抗結核薬の濃度は培地1ccにつき、約

SM……1,000 γ , 100 γ , 10 γ , 1 γ

PAS	} 100 γ , 10 γ , 1 γ , 0.1 γ
TB_1	
INAH	

となる。これを軽く振盪して封蠟しないでそのまま37°Cの孵卵器に培養する。

沈渣の塗抹、染色：1週間の培養後、1,500~2,000回転で5~10分遠沈し、上清を軽く棄て、卵白液(卵白を滅菌蒸溜水で5倍に稀釈し濾紙で濾したもの)を直径2mm前後の小さな白金耳で予め1滴たらした載物ガラスの上に、沈渣を塗抹してまぜる。沈渣はなるべく多く塗抹するために、4~5mm前後の直径の大きな白金耳

を作り、これに充分ふくませて、2~3白金耳宛塗抹する。注意してやれば1枚の載物ガラスに、4~5本の培地の沈渣を塗抹することができる。塗抹したら火焰の遠火で充分乾燥すると共に固定する。乾燥が不充分だと染色操作の途中ではくりする。次にZiehl-Neelsen氏法で染色する。この際の後染色は瞬間的でよい。

検鏡および判定：顕微鏡は50倍の弱拡大の乾燥系で見る。10視野数えて集落の平均値を出す。対照と同じ程度の集落の発育した濃度をもつて耐性とする。あるいは集落の発育した最高の濃度をもつて耐性とする。集落数を数えると、耐性菌の量的関係も知ることができる。対照が集落数の少ない時は全標本の集落数を合計して、耐性の量的関係をきめてもよい。全標本中の集落数の合計が、10以下だつたら間接法によつて再検査する。

2) 普通培養法および2~3の迅速法とわれわれの迅速法との比較

われわれは同一材料につき、われわれの迅速法と小川等の重層培地による普通法、S.C.M. および馬場、二村氏(昭28)の迅速法とを比較した。なお耐性は、菌の発育した最高の濃度をもつて表わした。

方法：イ. 重層培地による普通法

重層培地は、表1註のようである。方法はわれわれの迅速法と全く同じであつて、3週目終で判定する。

ロ S.C.M.

基礎実験。1)のようであつて1週間培養し、Ziehl-Neelsen氏法で染色し50倍で検鏡する。

ハ. 馬場、二村氏法

喀痰を4%硫酸水で30分処理し、遠沈して上清をすて沈渣にKirchner培地を0.5cc加え、駒込スピベットでまぜ、3cc宛分注しこれに予め所定の抗結核薬の混入したKirchner培地に1滴宛加え、1週後に上清を棄て沈渣を塗抹して染色し50倍の拡大で見ると。

成績：表9、表10のようである。普通法とは、PASと TB_1 は例数は少ないが、完全に一致し、SMとINAHでも大部分は一致するが、不一致のものは一桁の差であつて、迅速法において耐性が低いものが多い。次に迅速法馬場、二村氏法との比較でも、大部分は一致するが不一致のものでは、馬場、二村氏法が、一桁低くなるものが多い。殊にINAHではこの傾向をはつきり認めることができる。S.C.M.との比較は、例数は少ないのではつきり言えないが、SMでは大部分は一致するが、INAHではS.C.M.の方が一桁低くなるものがあつた。しかしいずれにせよ、これらの方法の間には、耐性の表れ方においては著明の差はないものと考えられる。なおこれらの方法による検出率は、表10のようにほとんど差はない。これは可検材料28例中26例が塗抹陽性のものであつたためと思われる。また雑菌の侵入率を同一の材料の比較でなしに、個々について集計してみると、表10

表9 普通法と迅速法との比較

比較の方法 抗結核薬 濃度 γ/cc	普通法(重層培地)と余等の迅速法との比較								普通法(重層培地)と迅速法(小川等, 馬場等)の比較					
	SM		PAS		TB ₁		INAH		SM			INAH		
	普	迅(O)	普	迅(O)	普	迅(O)	普	迅(O)	普	迅(O)	迅(B)	普	迅(O)	迅(B)
1000	6	3							2	0	0	0	0	0
100	3	7	2	2	1	1	6	1	1	3	3	2	1	0
10	9	9	0	0	0	0	18	11	5	5	2	10	1	3
1	19	11	2	2	0	0	5	9	8	3	8	2	4	5
0.1			3	3	3	3	3	7				2	7	2
1或いは0.1 γ 以下	8	10	1	1	0	0	4	8	2	2	5	2	5	8
検査人員	45		8		4		36		18			18		

比較の方法 抗結核薬 濃度 γ/cc	普通法と迅速法(小川等, 馬場等, S.C.M.)の比較							
	SM				INAH			
	普	迅(O)	迅(B)	S.C.M.	普	迅(O)	迅(B)	S.C.M.
1000	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0
10	3	3	3	4	5	1	0	0
1	3	3	4	3	1	0	1	2
0.1					1	6	1	2
1或いは0.1 γ 以下	1	1	0	0	0	0	5	3
検査人員	7				7			

註 1) 欄中の数字は例数を示す。
 2) Oとは小川等の方法を, Bとは馬場等の方法を S.C.M. とは Side Culture Method を示す。

表10 迅速法における陽性率と雑菌侵入率の比較

比較の種類	方法		普通法と迅速法の比較			
	実験番号	検査例数	普通法(重層培地)	馬場, 二村	S.C.M.	小川等
陽性例数の比較	(1)	16	16	14		12
	(2)	12	11	10	11	11
	合計	28	27	24		23
雑菌侵入の比較	使用培地数			203	64	213
	雑菌侵入培地数(侵入率)			20 (10%)	12 (20%)	8 (4%)

註 実験(1)の検査例数中の2例は, 塗抹陽性であるが, その他は陰性である。

のようであつて, S.C.M. が最も多く, 次に馬場, 二村氏法であり余等の方法では4%で最も少ない。

4 総括および考察

われわれの方法は重層培地による普通法と一致するし, また馬場, 二村氏法やS.C.M. などとも, 50倍の拡大で見ると大部分は一致する。これは M. Cummings, C. Drummond 等 (1959) の SM 耐性の検査の実験で, S.C.M. と Löwenstein-Jensen 培地による普通法とが 88%において一致したことや, 馬場, 二村氏 (昭27) が SM の耐性検査で氏等の迅速法と 3% KH_2PO_4 培地によ

る普通法とが大部分一致したことや小川政敏氏 (昭28) が氏の迅速法と鶏卵培地による普通法とが一致したという一連の成績をさらに裏書きするものである。しかしわれわれの実験では, 馬場, 二村氏法やS.C.M. は雑菌が多い。これは培地に色素の混入していないためと思われる。なおS.C.M. では, 塗抹の仕方や, 乾燥の程度により, 発育にできふできがあり, 染色操作の途中ではくりすることも多い。また同一量の菌を, 載物ガラスに塗抹することも不可能と思われる。最近山本氏 (昭28) により集菌して培養するように改良されているが, 手技は決して容易ではない。S.C.C. は技術的にはS.C.M. に比してさらに細かく, 一定の成績を出すには十分に習熟することが必要であり, かつ油浸装置により検鏡し発育した個々の集落の菌数を数え, 菌数の百分率を作る等, 判定は必ずしも容易でない。その成績も弘末, 堀本氏 (昭25) が Youmans 培地による SM 耐性の普通法との比較において74例中67例が一致したという成績を除くと, 一般に高い耐性を示しているものが多い。また抗結核薬の投与前の耐

性の価が広い分布を示していることは、芦野氏(昭26)、河盛、弘末氏(昭25)、藤村氏(昭26)、小野塚氏(昭25)、海老名氏(昭25)、遠藤氏(昭25)等の成績に徴しても明らかである。

われわれの培地は固形と液体を加えた混合培地であるので、培地製作に多少の難点があり、また遠心する等の手技の複雑さがある。この点はさらに改良すべく研究中である。しかし血清を必要としないし、マラカイト緑が培地に混入されているために、失敗が少ない。またわれわれの方法は普通培養において、50コ以下の集落の所では、検出することは不可能であるから、塗抹で陽性のものであるのみ実施の方がよいと思われる。なお集菌法あるいは中和したものを多量に植える等のことにより、さらに検出率を高めうるか否かについては別に発表した。なおわれわれが50倍の弱拡大で見えるようにしたのは、基礎実験で示されたように、1週間前後で判定するならば、この程度の拡大でも容易に判定できると、耐性の表れ方が、重層培地による普通法とほぼ一致するからである。もし200倍等の拡大で判定すれば、恐らく耐性が多少高くであるであろうし、視野が狭くなるため、集落の少ない場合には、探すのに骨が折れるであろうと思われる。

5 結 論

1) 余等の迅速用重層培地に4%苛性曹達水で処理した喀痰を0.1cc宛培養し、これにSM, P A S, T B₁, INAH等の一列の稀釈液を0.1cc宛加え、1週間37°Cに培養後遠心、洗渣を塗抹、染色して50倍の弱拡大で検鏡し、対照と同一程度に発育した、最高の濃度あるいは菌の発育した最高濃度により耐性を知ることができる。

2) 余等の迅速法による耐性の値は、重層培地による普通法、迅速法のS.C.M.や馬場、二村氏法などと大部分は一致する。不一致のものを見ると、重層培地では一段高くであるものの方が、低くであるものよりも多い。またS.C.M.や馬場、二村氏法では低くであるものが多い。

この研究に要した費用の一部は、文部省科学研究費より補助を受けた。厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) Wright.
- 2) 佐伯：結核，25巻，567頁，昭和25年.
- 3) 河盛，弘末：臨床，3巻，3号，177頁，昭和25年.
- 4) 弘末，堀本：文部省科学研究費，結核研究班，昭和25年度研究業績，451頁.
- 5) 海老名：同上，451頁.
- 6) 遠藤：同上，475頁.
- 7) 小野塚：抗研誌，6巻，3号，183頁，昭和25年.
- 8) 芦野：抗研誌，7巻，4号，242頁，昭和26年.
- 9) 藤村：日結，10巻，17頁，昭和26年.
- 10) 河盛，堀本，弘末：臨床，4巻，4号，395頁，昭和26年.
- 11) 堂野前，河盛：文部省科学研究費，結核研究班，昭和25年度研究業績，476頁.
- 12) Pryce : J. Patho. & Bact., 53, 327, 1941.
- 13) Berry & Lowry : Am. Rev. Tuberc., 60, 51, 1949.
- 14) 田坂，松本：診断と治療，38巻，8号，17頁，昭和25年.
- 15) M. Cummings, Drummond and Schwutz : Disease of Chest, 18, 202, 1950.
- 16) 山本：臨床病理，1巻，1号，58頁，昭和28年.
- 17) 植田，上坂：日結，11巻，2号，112頁，昭和27年.
- 18) 小川(政敏)：日結，12巻，2号，81頁，昭和28年.
- 19) 馬場，二村：臨床病理，1巻，1号，82頁，昭和28年.
- 20) 小川，高倉，上野：日本細菌学会総会，昭和26年発表.
- 21) 長田：結核の臨床，2巻，3号，293頁.