

喉頭粘液よりの結核菌の培養

第3報 喉頭粘液よりの結核菌の培養を集団検診に併用する試み

その1 運搬袋の検定, 結核菌, 結核菌以外の抗酸性菌の 検出成績ならびに雑菌の侵入率

小川 辰次・沢井 武・斉藤 直蔵
宮城 小枝子・大谷 典子・立花 嘉子*
遠山 和明・本田 祐**

* 北里研究所付属病院 (院長 宗武藤)

** 篠田病院 林 間 荘

受付 昭和 35 年 7 月 9 日

I 緒 論

結核菌の検査が間接撮影と併用されるようになったのは昭和 15 年前後である。当時は喀痰、咽頭粘液、含嗽水よりの培養がその全員に実施されていたが、戦争後は喀痰を精密検診の一部としてとりあげられている場合が多い。われわれ^{1)~4)}は数年来、喉頭粘液の培養による結核菌の検出について基礎的な研究を行なってきたが、それによれば喀痰や胃液にほぼ匹敵する成績を示したし、かつその方法も容易であつて、喀痰の代用として使用できることが推定できる。実際にわれわれの病院では入院および外来の患者に応用⁵⁾している。喉頭粘液を集団検診にはじめて用いたのは WHO⁶⁾ のようであるが、この場合は患者の発見ということよりも、治療の対象を選ぶということ、すなわち培養の陽性のものに対して治療を行なうということのためである。最近この喉頭粘液の培養を回復者の管理に用いている人⁷⁾もあるし、昭和 33 年度⁸⁾の厚生省の実態調査では、精密検診として実施された 6,617 人の結核菌検査中の 3% に喉頭粘液がとりあげられている。しかし喉頭粘液の培養を集団検診に大きくとりあげた例はない。それでこの喉頭粘液を結核の集団検診に併用し、種々検討したので報告する。

II 検診への併用の計画

足尾町の結核集団検診の一環として一般検診のツベルクリン反応、間接撮影の間に、あるいは精密検診の一部として喉頭粘液を採取し、採取した喉頭粘液はひとまとめにして氷を入れた運搬袋に入れて 1 晩足尾町に保存し、翌日早朝足尾町より汽車で上野駅まで輸送し、さらに研究所付属病院まで持参し、その日のうちに培養を完了

しようというのである。それでこのようなことが実施可能かどうかをひとまず 500 人前後の人員で試験研究として実施し、大体の見当がつけば約 3,000 人の本研究に移して実際にやってみようとして計画した。なお運搬袋の検定も予備実験として実施することにした。

III 実験方法

A. 予備実験

イ. 運搬袋の検定

運搬袋は携帯用の冷蔵庫に準じて作らせたもので、縦 37cm、横 21cm、深さ 25 cm の袋であつて、2 枚のビニールの間に冷却の時間を長びかせるためにスポンジを入れてある。そして中に 400 g 程度の氷を入れたゴム袋を 2 コと粘液を採取した綿棒を入れた中試験管 120 本とを入れることができ、チャックを閉じることによつて外気と遮断できるように作つてある。内容を入れたときの重量は約 8 kg となり、中の温度は上のほうでは約 20°C 前後である。

①対象：喀痰の培養で結核菌が少量に検出できる程度のものを入院中の患者から 20 人選んだ。

②採取：喉頭鏡を使用しないで 1 人につき 2 本宛の喉頭粘液を採取した。採取したものは別々に滅菌中試験管の中に入れた。そして患者の番号を記した。またそのおのおのに採取順序の 1, 2 の番号を付けた。

③培養：培地はすべて製造 1 週間以内のものを使用した。20 人の各 2 本の採取綿棒のうち、1 本は研究室でただちに培養した。この場合 1, 3, 5 といったような奇数番目の患者のものは最初に採取した綿棒を、2, 4, 6 といったような偶数番目の患者のものは後で採取した綿棒を培養した。これは最初に採取したものが、後で採取したものより集落数が多いので、これを平均するためで

ある。残りの1本は氷を入れた運搬袋に入れて、10人のものは1日保存後に、他の10人のものは2日保存後に同様にして培養した。培養の方法は平沢りらに従い、試験管に4% NaOH 1 ccを入れて、綿棒に付いた粘液を洗い落として2本の3% 小川培地に0.1 cc宛接種し、37°Cで斜面台に1昼夜保存し液のほぼ乾燥したのちゴムキャップに変え、立てて培養した。

④観察：毎週1回ずつ観察し、2ヵ月まで継続して発育した結核菌の集落数を数えた。

ロ. 試験研究

④対象：足尾、古河鋳業所の坑内に活動している492人であつて、5月に実施された一般集検の中にとり入れられたものである。

④採取：坑内より出てきて間接撮影の実施後に屋内で1人につき1本宛採取した。

④運搬：採取終了後に氷を入れた運搬用の袋に入れて1晩保存し、翌日氷を入れ直して汽車で上野駅まで輸送しさらに病院まで運んだ。

④培養：材料が病院へ到着すると、その日のうちに4〜5人で培養を完了した。方法は「イ」の培養の場合と同じである。

④観察：「イ」の場合とほぼ同じであるが、観察はこれを2分して2人があたつた。この場合は結核菌だけでなく、結核菌以外の抗酸性菌、雑菌の侵入等についても観察した。

B. 本実験

④対象：足尾町民であつて、8月中に実施した8,524人の集検の一部である。この中には学校の生徒は入っていない。なお4才以下の小児は採取から除外された。

部落単位に11日間(11回)にわたつて実施されたものであつて、一般集検としては8回合計2,425人、精密検診としては3回合計119人である。この精密検診とは直接撮影後、相談に訪れた人を対象としたものであるから、普通の意味と異なり精密検診の一部ということになる。

④採取：大部分は屋内で、一部は屋外で、一般集検の場合は間接撮影の後で、精密検診の場合は直接撮影の結果の説明の前に、前同様1本宛採取した。

④運搬：予備実験の場合と同様である。

④培養：培地は前述のように製造後1週間以内のものを使用するようにしたが、本実験では時により2週間経過したものもある。このとき凝固水のないものには滅菌蒸溜水を0.1〜0.2 cc宛混入した。その他は予備実験の場合と同様である。

④観察：観察にはこれを4分して4人があたつた。他は予備実験の場合と同様である。

IV 実験成績

1. 運搬袋の検定

1日保存と2日保存の影響を10人ずつ実施したが、第1群の1日保存の実験では8人、第2群の2日保存の実験では6人に集落が認められた。成績は表1にみるように、1日保存では即日のものと集落数のうえにはほとんど差がなく、2日保存のものでは集落の減少するもの、あるいは発育しないものがみられた。すなわち1日保存では影響はないが、2日保存では影響することが分かつた。

2. 結核菌の検出成績

表1 氷を入れた運搬袋の検定

患者番号	保存の有無 観察週				即日				1日保存				患者番号	保存の有無 観察週				即日				2日保存			
	II	IV	VI	VIII	II	IV	VI	VIII	II	IV	VI	VIII		II	IV	VI	VIII	II	IV	VI	VIII	II	IV	VI	VIII
(1)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	(9)	+	冊	冊	冊	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
(2)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	(10)	120.0	冊	冊	冊	冊	140.0	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
(3)	75.0	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	(11)	20.5	42.5	43.0	43.0	—	1.5	3.0	3.5	—	—	—	—	—	—	—	
(4)	33.5	41.0	45.0	冊	冊	冊	冊	冊	(12)	—	1.5	2.0	2.0	—	1	3.5	3.5	—	—	—	—	—	—	—	
(5)	11.5	12.5	12.5	冊	冊	冊	冊	冊	(13)	—	12.0	37.0	37.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
(6)	0.5	1.5	3.0	冊	冊	冊	冊	冊	(14)	—	—	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
(7)	—	0.5	0.5	冊	冊	冊	冊	冊																	
(8)	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊																	

注：表中記載は集落数を示す。
冊…培地全面に発育し、融合して培地表面を完全に蔽つたもの。
冊…培地全面に発育しているが集落の孤立しているもの。
冊…培地斜面の約1/2に発育したもの。
冊…培地斜面の約1/3に発育したもの。
数字…集落数を示す。
—…陰性を示す。

表2 結核菌の検出成績

研究の種類 集団 検診の別 化学療法の有無 結核病学会の病型 分類	試 験 研 究				本 研 究								合 計	
	一 般				一 般				精 密					
	あ り		な し		あ り		な し		あ り		な し			
	検査 例数	陽性 例数	検査 例数	陽性 例数	検査 例数	陽性 例数	検査 例数	陽性 例数	検査 例数	陽性 例数	検査 例数	陽性 例数	検査 例数	陽性例数 (陽性率)
I (広 汎 空 洞 型)	0	0	0	0	1	0	1	0	3	1	0	0	5	1 (20 %)
II (非広 汎 空 洞 型)	0	0	0	0	2	0	5	1	6	2	3	3	16	6 (37 %)
III (不安定非空洞型)	0	0	0	0	10	0	50	2	41	1	6	2	107	5 (4.7 %)
IV (安定 非 空 洞 型)	16	0	10	0	2	0	58	0	28	0	6	0	120	0 (0)
V (治 癒 型)	0	0	8	0	0	0	14	0	7	1	1	0	30	1 (3.3 %)
特 殊 型	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0 (0)
0 (無 所 見)	0	0	456	0	0	0	2,271	2	3	0	6	0	2,736	2 (0.07%)
計	18	0	474	0	16	0	2,399	5 (0.2 %)	88	5 (5.7 %)	22	5 (23 %)	3,017	15 (0.5 %)

表2に示すように、試験研究では化学療法の有無にかかわらず1例も陽性例はない。本研究として行なった一般検診では、化学療法をやっていた16例には陽性のもはなく、化学療法をやっていない2,399例中5例(0.2%)に陽性を認めた。これを病型のうえからみると、2例は無所見であり、他はII、III型であつた。陰性例の中で病型不明のものが10例あつた。精密検診では化学療法をやっていた88例中5例(5.7%)に、化学療法をやっていなかった22例中5例(23%)に陽性を認めた。これを病型からみると前者では1例は治癒型であり、他はI、II、III型であり、後者ではII、

III型のものであつた。陰性例中の9例は病型がはつきりしていない。これを総計すると、検査例数3,017例中結核菌陽性例は15(0.5%)であつて、大部分はI、II、III型のものであつたが、V型や無所見のものから少数例検出されている。

3. 結核菌以外の抗酸性菌の検出

試験研究では化学療法をやっていないもの3例に、本研究では同様のものに8例認めたが、病型のうえではいずれも無所見のものであつた。

4. 雑菌の侵入率

表3に示すように、5月末の室温25.5~26°Cのと

表3 雑 菌 の 侵 入

研究の種類	培養の期日	室 温	発育するまでの期間(週) 使用培地総数	I	II	III	IV	VI	VIII	合 計
試験研究	5月29日~30日	25.5~26°C	984	2	0	2	1	0	0	5 (0.5 %)
本 研 究	8月4日~24日	23~34°C (大部分30°C以上)	5,088	51	42	18	31	20	8	170 (3.3 %)

注：表中数字は培地数を示す。

きに行なった試験研究では、培地984本中5本(0.5%)に、8月の室温の高い23°C~34°Cにおいて行なった本実験では培地5,088本中170本(3.3%)に雑菌の侵入を認めた。

V 総括および考察

足尾町の結核集団検診の場合は、採取した当日に足尾町で培養を完了することは設備のうで不可能であるため、どうしても東京まで運んで採取翌日に培養すること

になる。それで培養の成績が落ちないようにするためには、材料の保存や運搬について考慮する必要がある。それでアイスクリームを運搬するのに使用する袋に準ずるものを作つて、それに氷あるいはドライアイスを入れて採取した材料を保存、運搬しようとしたがドライアイスがなかったので氷を用いた。この袋を用いると、1日保存ではほとんど成績が低下しないことを認めた。また雑菌の侵入も少なく、5月中の室温25°C前後で実施された試験研究では0.5%であり、8月中の大部分が室

温 30°C 以上で実施されたものでも 3.3 % であつた。この成績はわれわれの検査室で行なわれている喀痰の採取即日培養の場合の雑菌侵入率に比して少ないし、北本ら⁹⁾ (昭和 16 年) の 1,049 人の含嗽水による培養のときの雑菌侵入率 5 % 弱に比しても少ない。また喀痰を材料とした熊谷ら¹⁰⁾ (昭和 16 年) の 9 月中旬に採取 3 日後に培養した 2,000 人では 40 %, 10~11 月中旬に採取 1 日半後に培養した 5,000 人では 22 % であるから昭和 15 年ごろのこれらに比較すると著明に少ない。

次に結核菌の検出率であるが、試験研究では陽性例は 1 例もない。この対象は坑内で仕事に従事している人たちであつて、病巣はあつたにしても病巣が安定しているものがその全部であつたから、陽性例がないのは不思議ではない。本研究においては、一般検診では化学療法を実施していないものから 5 例 (0.2%), 精密検診では化学療法実施中のものからは 5 例 (5.7 %), 実施していないものからは 5 例 (23 %) 陽性である。われわれの一般検診の成績は、昭和 15~16 年ごろに喀痰で実施した貝田¹¹⁾ の 2 %, 今村¹²⁾ の 1.8 %, 武田¹³⁾ の 3.4 % の陽性率に比しても、間接撮影有所見者の約半数から結核菌が検出されたことと称している多くの研究者^{13)~15)} の成績と比較しても率のうえではかなり劣るように思われる。しかし精密検診では当然のことながら検出率はよい。この成績は喀痰を検査材料にした厚生省の昭和 28 年¹⁶⁾, 33 年⁸⁾, 34 年¹⁷⁾ の実態調査の有所見者の約 5 % 前後の成績と比して遜色がない。次にわれわれの成績では、無所見者に 2 例、治癒型に 1 例の菌陽性者があつたほかは、I, II, III 型のように活動性を推定される病巣をもっているものからのみ検出されている。この傾向は厚生省の実態調査においてもみられるところであるが、昭和15年ころ^{12) 13) 18) 19)} には X 線で異常のない人や、初感染や肺門リンパ腺結核のような早期のものから高率に証明されている。このように戦後のわれわれの成績と戦前 (昭和15年前後) の成績との間に開きがあるのは、技術的に方法が劣るということではなくて、現在の結核の状態が以前と変わつてきていることを暗示するものであろう。なおわれわれは非病原性と推定される抗酸性菌を 11 株みている。これはいずれも X 線写真で病巣のない人たちから検出されたものであるが、検査例数 3,017 例からみると 0.36%であり、貝田¹¹⁾ の 1,564 人中の 3 人 (1.9 %), 北本⁹⁾ の 1,049 人中の 1 人、占部¹⁹⁾ の 574 人中の 3 人 (0.52 %) と、この間に率においては多少の差があるが、結核の様子が変わつてきている今日においても、このような非病原性とみられる菌株が見出だされていることは興味のあるところである。

VI 結 論

喉頭粘液よりの結核菌の検出を集団検診の一環として

併用することを実験した。

1) 氷を入れた運搬袋に採取した喉頭粘液を 1 日、2 日保存して培養してみると、1 日保存では集落数のうえには影響はないが、2 日保存では集落数が減少すること、あるいは発育しないものもあることを認めた。

2) 結核菌は一般検診では 2,425 例中 5 例 (0.2 %), 精密検診では 119 例中 10 例 (8.4 %) 検出され、大部分は結核病学会の I, II, III 型のように空洞のあるもの、空洞がなくとも不安定な病巣からであつたが、無所見、治癒型のものからも検出された。

3) 結核菌以外の抗酸性菌を 3,017 例から 11 例に検出した。これらは X 線写真のうえでは所見はなかつた。

4) 雑菌侵入率は 5 月に実施 (25°C 前後) の試験研究では 0.5 %, 8 月実施 (大部分 30°C 以上) の本研究では 3.3 % であつた。

5) 以上の成績から喉頭粘液よりの結核菌の検出は集団検診、とくに精密検診に併用すれば能率的であることを知つた。

本研究は結核無菌化研究会 (会長田宮猛雄) よりの多大の援助によつて実施されたものである。材料の輸送は、国鉄東京保健管理所長千葉博士の御厚意を受けた。なお予防衛生研究所副所長柳沢博士、同所結核部長室橋博士より種々の助言を頂いた。これらのことに対して深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 平沢 他: 結核, 30: 579, 昭30.
- 2) 齊藤 他: 結核, 32: 410, 昭32.
- 3) 齊藤 他: 結核, 33: 200, 昭33.
- 4) 小川 他: 日本細菌学雑誌, 14: 375, 昭34.
- 5) 小川 他: 日本医事新報, 1858: 20, 昭34.
- 6) WHO: 結核文献の抄録速報, 4: 45, 昭28.
- 7) 大道: 結核研究の進歩, 17: 119, 昭32.
- 8) 昭和33年実態調査: 結核予防会, 昭35.
- 9) 北本 他: 日結, 2: 38, 昭16.
- 10) 熊谷 他: 日結, 2: 465, 昭16.
- 11) 貝田: 結核, 19: 843, 昭16.
- 12) 今村: 第11回日本医学会会誌, その1, 236, 昭17.
- 13) 武田 他: 結核, 20: 319, 昭17.
- 14) 小松 他: 結核, 20: 176, 昭17.
- 15) 河盛: 結核研究の進歩, 7: 46, 昭26.
- 16) 昭和28年実態調査: 結核予防会, 昭30.
- 17) 昭和34年実態調査: 第35回日本結核病学会総会特別報告, 昭35.
- 18) 岡 他: 結核, 16: 585, 昭13.
- 19) 占部: 日結, 4: 570, 昭18.