

喀痰中結核菌培養にさいしての渦巻白金耳接種とメスピペット 接種との比較ならびに 5% KOH 処理と 8% NaOH 処理との比較

東 村 道 雄 ・ 河 西 栄 文

国立療養所大府荘 (荘長 勝沼六朗博士)

受付 昭和 35 年 10 月 7 日

われわれは前報¹⁾で喀痰中結核菌培養にさいして、同一喀痰液から 1% 小川培地に渦巻白金耳で 0.02 ml 接種してただちにゴム栓をし、孵卵器に納める方法と、3% 小川培地にメスピペットで 0.1 ml 接種して 1 日後にゴム栓をし、孵卵器に入れる方法とを比較したところ、両者に菌検出率 (陽性率=総検査患者中の菌培養陽性者の率) に有意差がないことを報告した。0.02 ml 接種する渦巻白金耳接種法と 0.1 ml 接種するメスピペット接種法との間に菌検出率の差がないという一見意外な結果の起こる理由についてはそのとき考察を加えたが、この所見は重要と思われたので、さらに検査回数を増して追試を重ねたところ、やはり前報と同じ結果が得られたのでここに報告する。また喀痰の処理方法として常用される 8% NaOH 法と 5% KOH 法との比較を行なつて若干の知見を得たのであわせて報告する。

検査材料および方法

検査材料は国立療養所大府荘入院中の患者の喀痰で、検査方法は前報¹⁾のとおりである。今回は次の 2 点について検討した。

(1) 喀痰処理法の検討

次の 2 法を比較した。

(a) 8% NaOH 法: 小川辰次^{2)~4)}により記載されたごとく、喀痰に等量の 8% NaOH を加え (終末濃度 4%)、15~20 分間パンピングした。

(b) 5% KOH 法: 小川政敏⁵⁾が 1% 小川培地用 (ただし小川は 0.1 ml 接種を用いた) に報告したもので、著者¹⁾はこの 5% KOH を 1% 小川培地と渦巻白金耳接種と組み合わせて使用し、昭和 30 年秋より今日まですでに 5 年間実用に供している。5% KOH を等量加えて 15~20 分間パンピングする。

この 8% NaOH 法と 5% KOH 法の優劣の比較はまだ報告されていないので、本報ではこの比較検討を行なつた。

(2) 接種方法の検討

(a) ピペット接種法

全国に常用されている方法で、喀痰液をメスピペットにより 0.1 ml 接種し、1 日間綿栓のままにしておいたのち、ゴム栓にかえる。

(b) 渦巻白金耳法

喀痰液を渦巻白金耳で 0.02 ml 培地面に塗抹接種する。接種後ただちにゴム栓をして培養する点、前者より

表 1 菌検出率 (陽性率)

同一喀痰処理法のさいの「3% 小川培地、ピペット接種法」と「1% 小川培地、渦巻白金耳接種法」の比較

喀痰処理法	実験	培地および接種法	菌検出率 ($\frac{\text{培養陽性者数}}{\text{被検患者総数}}$)	
8% NaOH 法	A	3% 小川培地ピペット接種法	74/128	57.8%
		1% 小川培地渦巻白金耳接種法	70/128	54.6%
	B	3% 小川培地ピペット接種法	74/115	64.3%
		1% 小川培地渦巻白金耳接種法	72/115	62.5%
5% KOH 法	A	3% 小川培地ピペット接種法	86/128	67.2%
		1% 小川培地渦巻白金耳接種法	74/128	57.8%
	B	3% 小川培地ピペット接種法	75/115	65.2%
		1% 小川培地渦巻白金耳接種法	64/115	60.0%

同一患者同一喀痰で比較した。 判定……両者に有意差なし。

手数が省ける。

(3) 培地

3%小川培地, 1%小川培地^{2)・4)}とも中試験管(170×17~18 mm)に分注し, 90°C 1時間滅菌した。分注量はおのおの記載に従つて, 3%小川培地は 5ml, 1%小川培地は 8 ml とした。結核菌の発育の観察は 37°C 6 週培養後に行なつた。

実験結果

I. 結核菌検出率(陽性率)の比較

(1) 同一処理法での「1%小川培地渦巻白金耳接種

法」と「3%小川培地ピベット接種法」の比較

ここにいる菌検出率とは同一患者群についての培養陽性率を意味し, 発育量または集落数の多少を問わない。

実験結果は表1のとおりであつて, 喀痰処理を 8% NaOH で行なつても, また 5% KOH で行なつても検出率に差はない。すなわち, 0.1 ml 接種するピベット法と 0.02 ml 接種する渦巻白金耳法では, 接種法が5倍である前者でやや率が高い傾向がみられたが両者の間には危険率 10~75% でも有意の差はない。とくに 8% NaOH 処理のさいには危険率が大きい傾向がみられる(表1)。

表2 菌検出率(陽性率)

「8% NaOH 処理, 3% 小川培地ピベット接種法」と「5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法」の比較

実験	喀痰処理法および接種法	菌検出率(陽性率)	
A	8% NaOH 処理, 3% 小川培地ピベット接種法	69/118	58.5%
	5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法	70/118	59.2%
B	8% NaOH 処理, 3% 小川培地ピベット接種法	4/115	64.3%
	5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法	69/115	60.0%

同一患者で異なる日に採取した喀痰で比較した。 判定……両者に有意差なし。

表3 菌検出率(陽性率)

「8% NaOH 法」と「5% KOH 法」の比較

培地および接種法	実験	喀痰処理法	菌検出率(培養陽性者数/被検患者総数)	
3%小川培地 ピベット接種法	A	8% NaOH 法	69/118	58.5%
		5% KOH 法	80/118	67.9%
	B	8% NaOH 法	74/115	64.3%
		5% KOH 法	75/115	65.2%
1%小川培地 渦巻白金耳接種法	A	8% NaOH 法	66/118	55.9%
		5% KOH 法	70/118	59.2%
	B	8% NaOH 法	72/115	62.5%
		5% KOH 法	69/115	60.0%

同一患者で異なる日に採取した喀痰で比較した。 判定……両者に有意差なし。

(2) 小川(辰次)原法^{2)~4)}の「8% NaOH 処理, 3% 小川培地ピベット接種法」とわれわれの「5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法」の比較 この両者では危険率 50% でも検出率に有意の差はない(表2)。

(3) 同一接種方法での「8% NaOH 法」と「5% KOH 法」との比較

表3に示すように, 接種法がいずれであつても, 処理法によつて菌検出率の差はない。(ただし, 「3%小

川培地ピベット接種法」では, 「5% KOH 法」のほうが「8% NaOH 法」より検出率が高い傾向がみられたが, 差は危険率10%で有意ではなかつた(表3)。

II. 雑菌混入率

「8% NaOH 処理法」と「5% KOH 処理法」とを比較すると, 表4のように, 「5% KOH 法」のほうがやや雑菌混入率が高い傾向がみられたが有意の差(危険率 10%)ではなかつた。

III. 結核菌の発育量ないし集落数の比較

表 4 雑菌混入率
「8% NaOH 法」と「5% KOH 法」の比較

培地および接種法	実験	喀痰処理法	雑菌混入率
3% 小川培地 ピペット接種法	A	8% NaOH 法	0/128 <0.8% } $\chi_0^2 = 2.17$
		5% KOH 法	4/132 3.0% } 10% < P < 25%
	B	8% NaOH 法	0/115 <0.9% } $\chi_0^2 = 2.30$
		5% KOH 法	4/115 3.5% } 10% < P < 25%
1% 小川培地 渦巻白金耳接種法	A	8% NaOH 法	0/123 <0.8% } $\chi_0^2 = 2.17$
		5% KOH 法	4/132 3.0% } 10% < P < 25%
	B	8% NaOH 法	1/115 0.9% } $\chi_0^2 = 0.000$
		5% KOH 法	2/115 1.7% } 99% < P < 100%

同一患者で異なる日に採取した喀痰で比較した。 判定……両者に有意差なし、ただし、「8% NaOH 法」のほうが雑菌混入率が少ない傾向がみられる。なお、本表の A および B は同一患者同一喀痰から接種法を変えて接種したものである。

表 5 菌発育量または集落数の比較
同一喀痰処理法のさいの「3% 小川培地ピペット接種法」と
「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」の比較

喀痰処理法	実験	接種法および成績	
8% NaOH 法	A	「3% 小川培地ピペット接種法」が多い例	44/128 34.4% } $\chi_0^2 = 14.5$
		「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」が多い例	17/128 13.3% } P < 0.1%
	B	「3% 小川培地ピペット接種法」が多い例	25/76 32.9% } $\chi_0^2 = 1.58$
		「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」が多い例	17/76 24.4% } 10% < P < 25%
5% KOH 法	A	「3% 小川培地ピペット接種法」が多い例	39/128 30.5% } $\chi_0^2 = 32.3$
		「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」が多い例	4/128 3.1% } P < 0.1%
	B	「3% 小川培地ピペット接種法」が多い例	44/74 59.5% } $\chi_0^2 = 53.1$
		「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」が多い例	2/74 2.7% } P < 0.1%

同一患者同一喀痰で比較した。 判定……「3% 小川培地ピペット法」のほうが発育量が多い。

表 6 菌発育量または集落数の比較
「8% NaOH 法」と「5% KOH 法」の比較

培地および接種法	実験	喀痰処理法および成績	
3% 小川培地 ピペット接種法	A	「5% KOH 法」が多い例	42/118 35.6% } $\chi_0^2 = 15.6$
		「8% NaOH 法」が多い例	16/118 13.6% } P < 0.1%
	B	「5% KOH 法」が多い例	45/84 53.6% } $\chi_0^2 = 12.0$
		「8% NaOH 法」が多い例	22/84 26.2% } P < 0.1%
1% 小川培地 渦巻白金耳接種法	A	「5% KOH 法」が多い例	35/118 29.7% } $\chi_0^2 = 5.90$
		「8% NaOH 法」が多い例	19/118 16.1% } 1% < P < 2.5%
	B	「5% KOH 法」が多い例	23/79 29.1% } $\chi_0^2 = 1.78$
		「8% NaOH 法」が多い例	32/79 40.5% } 10% < P < 25%

同一患者で異なる日に採取した喀痰で比較した。 判定……「5% KOH 法」が勝る。

表7 菌発育量または集落数の比較
 「8% NaOH 処理, 3% 小川培地ビベット接種法」と
 「5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法」の比較

実 験	喀痰処理法および接種法			
A	「8% NaOH 処理, 3% 小川培地ビベット接種法」が多い例	25/118	21.2 %	} $\chi^2_0 = 0.0222$ 75% < P < 90%
	「5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法」が多い例	27/118	22.9 %	
B	「8% NaOH 処理, 3% 小川培地ビベット接種法」が多い例	32/79	40.5 %	} $\chi^2_0 = 1.78$ 10% < P < 25%
	「5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳接種法」が多い例	23/79	29.1 %	

同一患者で異なる日に採取した喀痰で比較した。 判定 … 両者に有意差なし。

(1) 同一処理法での「3% 小川培地 ビベット 接種法 (接種量 0.1 ml)」と「1% 小川培地渦巻白金耳接種法 (接種量 0.02 ml)」との比較

発育量または集落数はやはり接種量の多い「ビベット法」のほうが大である (表5), すなわち, 検出率では「ビベット法」と「渦巻白金耳法」との間に差はないが, 発育量は「ビベット法」のほうが多かつた。

(2) 同一接種方法での「8% NaOH 法」と「5% KOH 法」の比較

表6のごとく, 「5% KOH 法」のほうが「8% NaOH 法」よりも菌の発育量ないし集落数が大きい。この結果は「3% 小川培地ビベット接種法」を用いても, 「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」を用いても同じである。

(3) 「8% NaOH 処理, 3% 小川培地, ビベット (0.1 ml) 接種法」と「5% KOH 処理, 1% 小川培地, 渦巻白金耳 (0.02 ml) 接種法」(東村)¹⁾の比較

表7に示すように両者に有意の差 (危険率 10~75%) はない。これはおそらく, 前述の発育量に関する「ビベット法」の優越性と「5% KOH 処理法」の優越性とが相殺したためであろう。

考察ならびに総括

以上の実験結果を要約すれば次のごとくになる。ただし「接種法」に関する比較は同一患者同一喀痰を用いて行なつたものであるが, 「喀痰処理法」に関する比較は同一喀痰を用いえないので同一患者で異なる喀痰 (第1日目と第2日目) について行なつたものである。

1) 検出率 (培養陽性率) は「8% NaOH 処理法」でも「5% KOH 処理法」でも差はない。また「3% 小川培地ビベット接種法」でも「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」でも差はない。

2) 雑菌混入率では, 「5% KOH 処理法」のほうがやや高い傾向がみられたが, 有意差はない。

3) 菌発育量ないし集落数については, 処理法は「5% KOH法」が優れ, 接種法は「3% 小川培地ビベット接種法」が優れている。しかし「3% 小川培地ビベ

ット接種法」は前報¹⁾したように操作がやや面倒で, 生菌数を過小評価する可能性が多い。(接種量は「ビベット法」0.1 ml, 「渦巻白金耳法」0.02 ml で, 前者は後者の5倍であるが, 同一喀痰液から得る集落数は後者よりやや多い程度にすぎない。)

4) 「3% 小川培地 ビベット 接種法」と「1% 小川培地渦巻白金耳接種法」の比較

菌検出率 (陽性率) は両者の間で差がない。菌発育量ないし集落数の点では接種量 0.1 ml の前者が0.02 ml の後者より勝っている。しかしその差は比較的僅少であつて, 「ビベット法」では生菌数を過小評価する可能性が多い。(文献1, また本報の表5にもそれが部分的にうかがわれる。すなわち, 少数例は「渦巻白金耳法 (0.02ml 接種)」のほうが「ビベット法 (0.1 ml 接種)」より集落数が多くなつている。)

5) 「8% NaOH 処理法」と「5% KOH 処理法」の比較

雑菌混入率の点では前者がやや優れている傾向がみられたが差は有意ではない。菌発育量の点では明らかに後者のほうが優れている。これは5% KOH のほうが8% NaOH より作用が mild なためであろう。雑菌混入率が高い傾向があつたといつても, 表4のように, かなりの症例で比較しても有意差とならない程度であるから, 5% KOH を喀痰処理に使用する方法は使用する価値があると思われる。

6) 「8% NaOH 処理, 3% 小川培地ビベット (0.1 ml) 接種法」と「5% KOH 処理, 1% 小川培地渦巻白金耳 (0.02 ml) 接種法」の比較

この両者では, 菌検出率, 菌発育量ともに差はない。

結局, やや雑菌混入率が高いかもしれないが, 検出率, 発育量とも優れているのは, 「5% KOH 処理, 3% 小川培地ビベット接種法」であるといえるが, 「渦巻白金耳接種法」は操作も簡単であるし, 菌検出率で「ビベット法」に等しいから十分実用に供しようと思われる。

- 1) 東村道雄：結核, 35 : 397, 昭35.
- 2) 小川辰次・佐波薫・石井和夫：結核, 24 (2) : 13, 昭24.
- 3) 小川辰次・佐波薫・鈴木つき：結核, 25 : 207, 昭25.
- 4) 厚生省編：衛生検査指針, I. 細菌血清学的検査指針 (VI), 9, 昭33.
- 5) 小川政敏：医療, 10 (増刊号) : 105, 昭31.