

Routine 法耐性検査の測定誤差について

安 保 孝 ・ 東 村 道 雄

国立療養所大府荘

受付 昭和 35 年 11 月 25 日

緒 言

通常行なっている耐性検査法 (Routine method) は 対照培地と比較して完全耐性, 不完全耐性に分けられている。しかし, かかる方法では判定に主観がかなり入り, 耐性培地の生菌数と対照培地の生菌数に相当の差があつても完全耐性と判定することがある。また, 接種菌量によつてかなり影響されることが知られている^{1)~4)}。したがつて結核菌の耐性度を表示するのに最良の方法は耐性株の Population 構成をもつてする方法であると考えられる。しかし, この方法は実用的な耐性表現法としてはかなり複雑である。そこでわれわれは耐性度を被検 Population を占める大部分の菌の耐性度, すなわち, Actual count 法により表現することを提唱した⁵⁾。本報ではこのような定量的な方法できめた耐性度と Routine 法の耐性度とを比較検討してみた。

検査材料および方法

国立療養所大府荘において昭和 32 年 6 月より昭和 35 年 3 月までに Population 構成を調べた耐性検査例中の 959 例について比較した。

検査方法は 5% KOH を等量加えてパンピングして均等化し, それを生理的食塩水にて 100 倍, 1,000 倍稀釈液を作り, 原液と 100 倍稀釈液, 1,000 倍稀釈液のおのおのから 0.02 ml を渦巻白金耳で 1% 小川培地に接種し, 37°C, 6 週間培養した⁶⁾。判定は対照培地に 10 コロニー以上生育したものをとり, Routine 法では対照と同程度に発育した耐性培地の最高薬剤濃度を完全耐性とした。Actual count 法とは対照培地の集落数が Actual count 可能な程度の接種菌数を用いたときの完全耐性度をとる方法で, いわば「接種生菌数」を比較的一定化したときの完全耐性度である。具体的には対照培地に 10~150 集落を生じる稀釈系列で, 対照培地に発育したコロニー数の 50% 以上の集落が耐性培地に発育した最高薬濃度を完全耐性とした。50% 以上を採用したのはこの方法による測定誤差は危険率 30% で $\pm 30\%$, これが分子および分母にかかるから, 結局菌数の比をだす場合の測定誤差は $\pm 50\%$ と考えられたからである⁷⁾。

実験成績および考察

Routine 法の完全耐性度と Actual 法の完全耐性度を比較した結果は表 1, 2 に一括した。

(1) Routine 法完全耐性度と Actual 法完全耐性度の比較の概観

表 1 に示すように, 一般に Routine 法の完全耐性度は Actual 法の完全耐性度より高くでる。Routine 法と Actual 法とでの完全耐性度の一致率は表 1 のごとく, 薬剤により若干異なる。一致率は SM で 66.5%, I NH で 61.9%, PAS については 53.4% で一致率は PAS でもつとも少ない。

表 1 Routine 法による完全耐性度と Actual 法による完全耐性度との比較

薬剤	一 致 (一致率)	Routine 法 が 高 い	Routine 法 が 低 い	計
SM	630/951(66.5%)	234/951(24.6%)	87/951(9.1%)	951
PAS	497/930(53.4%)	239/930(25.7%)	194/930(20.9%)	930
I NH	590/955(61.9%)	277/955(28.9%)	88/955(9.2%)	955

(2) Routine 法完全耐性度と Actual 法完全耐性度との比較——薬剤耐性度別の観察

(a) SM 耐性

Routine 法の完全耐性度と Actual 法の完全耐性度が一致したのは各耐性度を通じて 52~74% (表 2)。一般に Routine 法の完全耐性度が Actual 法のそれより高いものが, その逆より多い (表 2)。しかし, Routine 法で 10 γ/ml 以下, すなわち, 耐性なしと判定されたものの中で約 1/4 (25.4%) は Actual 法で検すると 10 γ/ml 程度の耐性を示すことがあるのは注目される。

(b) PAS 耐性

Routine 法の完全耐性度と Actual 法の完全耐性度との一致率は 39~58% で SM より若干少なくなる。PAS について注目されるは, Routine 法の完全耐性度が高くなるほど不一致率が増し, Routine 法の完全耐性度が Actual 法の完全耐性度より高くでるものが多いことである (表 2)。一方, Routine 法の完全耐性が低い場合は Actual 法の完全耐性度が高くでる傾向がある。

表 2 Routine 法による完全耐性度と Actual 法による完全耐性度の比較 (各耐性度別の比較)

薬 劑	Routine 法による完全耐性度	Routine 法が Actual 法と一致	Routine 法が Actual より高い	Routine 法が Actual 法より低い	計
SM	<10 γ/ml	153 (74.6 %)	0 (0.0 %)	52 (25.4 %)	205 (100 %)
	10	161 (57.2 %)	97 (34.6 %)	23 (8.2 %)	281 (100 %)
	100	67 (52.0 %)	50 (38.7 %)	12 (9.3 %)	129 (100 %)
	1,000	249 (74.1 %)	87 (25.9 %)	0 (0.0 %)	336 (100 %)
PAS	< 1 γ/ml	140 (58.3 %)	0 (0.0 %)	100 (41.7 %)	240 (100 %)
	1	204 (53.2 %)	101 (26.4 %)	78 (20.4 %)	383 (100 %)
	10	150 (52.4 %)	102 (41.2 %)	16 (6.4 %)	248 (100 %)
	100	23 (39.0 %)	36 (61.0 %)	0 (0.0 %)	59 (100 %)
INH	<0.1 γ/ml	69 (56.1 %)	0 (0.0 %)	54 (43.9 %)	123 (100 %)
	0.1	321 (66.8 %)	127 (26.5 %)	32 (6.7 %)	480 (100 %)
	1	179 (60.4 %)	116 (39.2 %)	2 (0.7 %)	297 (100 %)
	10	21 (38.2 %)	34 (61.8 %)	0 (0.0 %)	55 (100 %)

(c) INH 耐性

Routine 法と Actual 法の一致率は 38~67 % であつて、PAS と同様 SM より若干少なくなる。また、不一致率の傾向も PAS の場合とよく似ている(表 2)。

(3) 不一致の原因

Routine 法の完全耐性度が Actual 法の完全耐性度 (Population 構成を調べて得た“真の耐性度”) より高くすることはすでに前から想像されたことで、東村ら¹⁾が頻々に指摘したことである。その原因については、たとえば、対照培地に 10^6 生菌単位が発育する場合、対照培地の発育生菌単位が $1/100$ に減じていても、 10^4 生菌単位となるから、この程度の生菌単位があると培地の全面発育となつて対照培地の発育と同一と判定されることが容易に考えられる。

一方、Routine 法で耐性なしと判定された場合でも、Population 構成を調べて Actual 法の完全耐性度をとると実は SM $10 \gamma/ml$ 、PAS $1 \gamma/ml$ 、INH $0.1 \gamma/ml$ などの耐性と判定されることがある。この場合の説明としては次の可能性が考えうると思われるが、いずれの要因が主であるかは現在のところ明らかではない。

(a) 不可抗力的な実験条件の変動——たとえば元来同一発育を示すはずのものが、なんらかの実験誤差的要因により発育に不同を示す場合

(b) Actual 法の判定は上述のように測定誤差を考慮して、対照培地の集落数の 50 % 以上の集落数を耐性培地に示すものを完全耐性と定義した。この 50~100 % の中には実際に(測定誤差ではなくて)対照培地の 50 % の集落数を示すものも含まれているわけであるから、このような場合には接種生菌数の程度によつては(おそらく対照培地にかろうじて全面発育をもたらす程度の接種生菌数の場合)、Routine 法で耐性培地の発育が対照

培地の発育より減少するはずである。

(c) 耐性菌といえども耐性培地で発育速度が多少とも減少することがある²⁾。このような場合、Routine 法では耐性培地の発育が減少する。一方、Actual 法では集落の大きさを考えないで、一応集落数のみを目標としたので、集落が小さくても、数さえ対照培地の 50 % 以上あれば完全耐性と判定されるわけである。

しかし、このような現象は試験管内実験か間接法のと看はともかく、われわれの経験では喀痰中の結核菌を直接法で検討するときにはあまり著明ではないように思う。したがつて、現実起こりうる可能性としては、(a) および (b) とくに (a) のほうのウエイトが大きいのではないかと想像する。

結 論

喀痰中結核菌の耐性度を直接法で検査する場合、非定量的な Routine 法の完全耐性度と接種生菌数を比較的同一量に統一し、かつ少接種菌量を用いたときの完全耐性度 (Actual 法の完全耐性度) とを比較した結果次の結論を得た。

- 1) 一般に Routine 法の完全耐性度は Actual 法の完全耐性度より高くすることが多い。
- 2) Routine 法と Actual 法の一致率は SM 66 %、INH 62 %、PAS 53 % であつた。
- 3) Routine 法での完全耐性度が Actual 法の完全耐性度より高くである場合は Routine 法で測定して耐性度の高い場合に多い。この傾向はとくに PAS および INH について著明である。

御校閲ならびに御指導賜つた国立療養所大府荘長勝沼六郎博士、名古屋大学医学部第一内科講座日比野進教

授に深甚の謝意を捧げます。

文 献

- 1) 東村道雄・河西栄文：Chemotherapy, 4：227, 1956.
- 2) 内田誉：臨床病理, 4：296, 昭31.
- 3) 佐藤直行：臨床病理, 4：283, 昭31.
- 4) 東村道雄：結核, 33：815, 昭33.
- 5) 東村道雄・安保孝・勝沼六郎：結核, 34：625, 昭34.
- 6) 東村道雄：結核, 35：397, 昭35.
- 7) 東村道雄・山本昌邦・林光男・中村栄一：Chemotherapy, 6：65, 1958.
- 8) 東村道雄：結核研究の進歩, 27：185, 昭34.