

3% 小川培地を用いての結核菌の分離培養時に おける雑菌の侵入について

第1報 雑菌侵入率の統計的観察

小川 辰次・宮城 小枝子・立花 嘉子

北里研究所附属病院 (院長 福住定吉)

受付 昭和 37 年 3 月 27 日

I 緒 論

化学療法は結核症の様相を変えたばかりでなく、可検材料の中に含まれている結核菌、および一般細菌の性状や生活力にも大きな変化をもたらしていることは周知の事実である。したがって化学療法は結核菌の分離培養時における雑菌の侵入の点についても影響を及ぼしているのではないかと推定されたので、われわれは雑菌の侵入率を統計的に観察するとともに、さらに雑菌の種類についても研究を進めた。このことは単に化学療法の影響を知るだけではなく、さらに結核菌の分離培養にあつての雑菌阻止の研究の手がかりをつかむことができるだろうし、ひいては種々の化学療法剤のますます広く使用されると思われる将来において、この種の研究を志す人にはなんらかの参考になるかと思われる。

ここに第1報として雑菌侵入率の統計を記し、雑菌の種類については第2報に記すことにする。

II 方 法

① 対象：入院および外来の肺結核症の患者であつて、昭和34年度および昭和35年度の期間中に喀痰、胃液、喉頭粘液、その他の種々の可検材料より結核菌の分離培養を実施したものである。

② 分離培養の方法：すべての材料は NaOH で処理し、喀痰、喉頭粘液、膿、組織は遠心せず、均等化したものをそのまま、胃液、尿、穿刺液、分泌液、洗滌液、便等は、遠心して得た沈渣を用いた。接種するときの NaOH の最終濃度は容量にして4%であつて、これを中和しないで、前処理の時間をおかずにただちに1cc のメスピペットで0.1cc宛を2本の3%小川培地¹⁾に接種した。接種したら培地をゆり動かして接種物を斜

面全体に広げ、斜面を上にして水平に斜面台におかし、これを37°Cの孵卵器に保存し、液のほぼ乾燥した1~2日後に綿栓をゴムキャップに変えて、たてて培養した。

③ 雑菌侵入培地の判定：2カ月の観察期間中に培地に発育した結核菌以外の菌はすべて、培地の腐蝕の如何を問わず雑菌の侵入培地とした。判定には、非抗酸性の雑菌は肉眼の集落の性状によつて判定できるものはそのまま、できないものは載せガラスに塗抹してチールネールゼン法によつて染色、抗酸性でないことを確かめた。また抗酸性の雑菌と推定されたものは、チールネールゼン法で染色してみるとともにさらに継代培養して、ナイアシントテストを実施し陰性であることを確かめた。

④ 統計のとり方：すべての統計は各月ごとに侵入率を計算した。なお培地の破損したものおよび乾燥したものは統計より除いた。

III 成 績

① 可検材料別による統計

昭和35年度において実施された結核菌の分離培養において、雑菌の侵入率を材料別にみたもので、表1にみるように比較的多い材料の喀痰、胃液、喉頭粘液の3群と、尿、便、組織、穿刺液、分泌液等の比較的少ない材料を一緒にし、その他として1群とし、合計4群に分けた。もつとも使用培地数の多いのは喉頭粘液の9,626本、次に喀痰の5,640本で、胃液は少なくても1,792本である。その他はもつとも少なく466本である。年間の雑菌侵入率は、喀痰では7.9%、胃液では6.0%、喉頭粘液では1.7%であつて、喀痰と胃液とではほとんど差はないが、喉頭粘液では少なくても、喀痰、胃液の約1/4~1/3である。なおその他では7.0%

Table 1. Statistics Regarding Sources of Material in 1960

Material Month	Sputum		Gastric contents		Laryngeal swab		Others	
	No. of media used	No. of media with contamination (%)	No. of media used	No. of media with contamination (%)	No. of media used	No. of media with contamination (%)	No. of media used	No. of media with contamination (%)
I	482	35 (7.2)	216	8 (3.7)	626	15 (2.4)	36	7 (19.4)
II	584	30 (5.1)	234	13 (5.5)	584	7 (1.2)	48	0 (0)
III	530	26 (4.9)	142	8 (5.6)	806	8 (1.0)	42	4 (9.5)
IV	552	35 (6.3)	166	10 (6.0)	638	2 (3.1)	24	2 (8.6)
V	464	38 (8.2)	148	6 (4.0)	998	12 (1.2)	16	1 (6.2)
VI	604	56 (9.2)	162	12 (7.4)	804	7 (0.9)	20	1 (5.0)
VII	438	31 (7.1)	116	5 (4.3)	900	14 (1.5)	32	0 (0)
VIII	286	14 (4.9)	98	9 (9.2)	784	10 (1.2)	32	1 (3.1)
IX	374	40 (10.3)	80	6 (7.5)	922	26 (2.8)	78	7 (8.9)
X	432	52 (12.0)	94	7 (7.4)	1,010	20 (1.9)	46	6 (13.0)
XI	322	40 (12.2)	48	14 (29.1)	866	21 (2.4)	42	1 (2.4)
XII	572	48 (8.9)	288	19 (6.6)	688	26 (3.7)	50	3 (6.0)
Total	5,640	445 (7.9)	1,792	117 (6.0)	9,626	168 (1.7)	466	33 (7.0)

Note: "Others" includes urine, feces, pus, tissue, pleural exudate, secreta, and fluid used for lavage.

であつて、喀痰、胃液とほとんど差はない。次に喀痰、胃液、喉頭粘液においての月別の雑菌の侵入率をみると、そのいずれの材料においても多少の動揺はあるが著明の差はなく、とくに夏に多く冬に少ないといったような季節的の傾向は認めない。なお胃液の11月において29.1%の侵入率を示したことは、なんらかの技術的の失敗があつたものと思われるが、その原因ははつきりしない。その他についての月別の雑菌侵入率は各月によつて可検材料の種類が同じではないし、また同数でもないで傾向を論ずる材料にはならない。

② 入院および外来患者別による統計

表2は、前同様昭和35年度の雑菌侵入率を入院および外来別に分けてみたものである。

使用培地数は入院で9,063本、外来で8,456本であるからほぼ同数である。まず年間の侵入率は、入院では5.9%、外来では2.6%であつてこれは入院の約1/2である。外来において侵入率の少ないのは喉頭粘液の培養が多かつたことによる。次に雑菌侵入率を月別に眺めてみると、入院、外来のいずれの場合においても多少の動揺はあるが、ほぼ平均しとくに冬に少なく夏に多い

Table 2. Statistics Obtained from in and Out-patients in 1960

Group of patients Month	Inpatients		Outpatients		Total	
	No. of media used	No. of media with contamination (%)	No. of media used	No. of media with contamination (%)	No. of media used	No. of media with contamination (%)
I	656	44 (6.7)	704	21 (2.9)	1,360	65 (4.8)
II	724	40 (5.5)	726	10 (1.3)	1,450	50 (3.4)
III	826	31 (3.7)	694	15 (2.1)	1,520	46 (3.0)
IV	758	36 (4.7)	622	13 (2.1)	1,380	49 (3.5)
V	796	42 (5.3)	830	15 (1.8)	1,626	57 (3.5)
VI	890	63 (7.1)	698	13 (1.8)	1,588	76 (4.7)
VII	798	40 (5.0)	688	10 (1.4)	1,487	50 (3.3)
VIII	598	18 (3.0)	602	16 (2.6)	1,200	34 (2.8)
IX	736	46 (6.2)	718	33 (4.6)	1,454	79 (5.4)
X	808	56 (6.9)	768	29 (3.7)	1,576	85 (5.4)
XI	651	56 (8.6)	628	20 (3.2)	1,279	76 (5.9)
XII	822	67 (8.1)	778	29 (3.7)	1,600	96 (6.0)
Total	9,063	539 (5.9)	8,456	224 (2.6)	17,520	763 (4.3)

といった傾向はこの場合でも認めない。入院、外来を合計してみると、各月の雑菌侵入率をもつと接近し、最高が12月の6.0%、最低が8月の2.8%となる。

③ 昭和34年度と昭和35年度の比較のための統計

Table 3. Statistics Comparing Results in 1959 and in 1960

Year Month	1959		1960	
	No. of media used	No. of media with contamination (%)	No. of media used	No. of media with contamination (%)
I	1,240	130 (10.3)	1,360	65 (4.8)
II	1,356	68 (5.0)	1,450	50 (3.4)
III	1,022	99 (9.7)	1,520	46 (3.0)
IV	1,410	78 (5.5)	1,380	49 (3.5)
V	1,378	28 (2.0)	1,626	57 (3.5)
VI	1,468	47 (3.2)	1,588	76 (4.7)
VII	1,488	20 (1.3)	1,487	50 (3.3)
VIII	1,330	55 (4.1)	1,200	34 (2.8)
IX	1,502	84 (5.6)	1,454	79 (5.4)
X	1,550	140 (9.0)	1,576	85 (5.4)
XI	1,464	123 (8.4)	1,279	76 (5.9)
XII	1,368	47 (3.4)	1,600	96 (6.0)
Total	16,576	917 (5.4)	17,520	763 (4.3)

表2でみたように、昭和35年度における雑菌の侵入率は月別にみると大差なく、季節の影響はほとんど認めることができなかつた。それでこの事実をさらに確かめるために、昭和34年度の雑菌侵入率を出し、昭和34年度と昭和35年度の成績を対比してみた。その成績は表3のように、最高は1月の10.3%、最低は7月の1.3%であつて、昭和35年度に比して動揺は多少大きい、夏に多くて冬に少ないといった傾向のないことは昭和35年度と同様である。なお年間の雑菌の侵入率は5.4%であつて昭和35年度と大差ない。

IV 総括および考察

雑菌侵入率は、前処理の仕方、培地の種類、材料の種類、その他種々の技術的なことで違ってくるので他の研究者との正確な比較は難しいが、Hans Chr Engbaek²⁾の1941~1948年の喀痰における2.0~5.0%、胃洗滌液における3.3~6.2%、小川ら³⁾の喀痰の6.3%、小川⁴⁾の集めた種々の鶏卵培地、寒天培地などにおける4~5%等の化学療法以前のものと比較して大差ないようにもみえるが、ただ小川らの成績は同じような方法で培養されたものであり、しかも6.3%の侵入率ではあるが、主として培地のこわれたもののみを雑菌の侵入培地としてあるから、培地のこわれないものを入れればもつと多いものと推定される。この点から考えると化学療法の実施されている今日のわれわれの雑菌侵入率は少

ないものようにも思われる。次に、化学療法以前の雑菌侵入率は冬に少なく夏に多いことは、喀痰についての鈴木⁵⁾、小川ら、胃液についてのHans Chr Engbaek⁶⁾の成績にもみるように、多くの研究者の日常経験しているところであつたが、化学療法の広く行なわれている今日におけるわれわれの統計ではこの事実を認めることができなかつた。このことは、手技の熟練も多少は影響していると思われるが、化学療法剤の直接、間接の影響がもつとも大きいのではないかと推定される。

なお小川らの化学療法以前の外来患者の喀痰の培養においては、11.4%のようにとくに多く、今回の統計では、これに反して1.7%のように少なかつたのは、前者においては採取の容器の滅菌が不十分であつたこと、後者においては前述のように可検材料中に喉頭粘液が多かつたことによるものと思われる。

V 結 論

昭和34年度(使用培地数16,576本)、昭和35年度(使用培地数17,520本)における結核菌の分離培養時における雑菌の侵入率を統計的に観察し、次のような成績を得た。

1) 雑菌侵入率

① 可検材料を喀痰、胃液、喉頭粘液、その他に分けて、比較的件数の多い前3者について雑菌侵入率をみると、それぞれ7.9%、6.0%、1.7%であつて、喀痰、胃液では差はなく、喉頭粘液では少ない。

② 入院、外来別にみると、それぞれの雑菌侵入率は5.9%および1.6%であつて、外来は入院に比して約1/4である。これは外来では喉頭粘液の培養の件数が多かつたためである。

③ 昭和34年度、昭和35年度の雑菌侵入率は5.4%および4.3%であつてほとんど差はない。

2) 雑菌侵入の季節による傾向

昭和35年度の各月の雑菌侵入率を喀痰、胃液、喉頭粘液の材料別にみても、入院、外来別にみても、これを合計してみてもほぼ平均しており、とくに夏に多く冬に少ないといったような季節による差を認めることはできなかつた。

文 献

- 1) 小川他：結核，25：33，昭25。
- 2) Hans Chr Engbaek：Routine Bacteriological Examination for Tubercle Bacilli. States Serum-Institut, Copenhagen, 1952.
- 3) 小川他：結核，26：86，昭26。
- 4) 小川：日本結核全書，3：245，金原出版，昭34。
- 5) 鈴木：Tohoku J. Exp. Med., 23：79，1934。
- 6) Hans Chr Engbaek：Acta Tbc. Scandinav., 98：74，1953。

The Contamination at the Time of the Selective Cultures of Mycobacterium Tuberculosis from Contaminated Materials on 3 Percent Ogawa Egg Media. I. Statistical observation of the contamination rate.

All the specimens were treated with NaOH whose final concentration at the time of inoculation was 4 %. Immediately after the treatment, inoculum 0.1 ml. each was pipetted on two 3 % Ogawa egg media. Selective cultures of Mycobacterium tuberculosis were continued for the following 2 months to observe its growth. All the micro-organisms growing on the media but M. tuberculosis were considered as contaminants regardless of presence of liquefaction of the medium, and the contamination rate was studied statistically. During the year of 1959, 16,576 media, and during the year of 1960, 17,520 media were used. And the following

results were obtained.

In 1960, the rate of contamination was 7.9 % as far as sputum culture was concerned; 6.0 % when gastric contents were cultured; 1.7 % in laryngeal cultures with swabs; and 7.1 % in others. It was 5.9 % in an inpatient group, and 1.6 % in an outpatient group. The contamination rate was much less in the latter group, since laryngeal material was taken for culture more frequently from outpatient than from inpatients. On the average, it was 4.3 % in 1960. When monthly contamination rates were compared, there was a little variation in percentage and no tendency to increase during the summer or to decrease during the winter was experienced. On studying the monthly contamination rates from materials cultured in 1959, no seasonal variation was observed as in 1960. This fact suggests the influence of chemotherapy.