

原 著

## 遠隔地における結核菌分離培養法の検討と提案 (その 1)

工 藤 祐 是

結核予防会結核研究所附属療養所

工 藤 禎

国立療養所東京病院

受付 昭和 48 年 7 月 19 日

STUDIES ON THE ISOLATION CULTURE TECHNIQUE  
OF TUBERCLE BACILLI APPLICABLE IN  
REMOTE AREAS (PART 1)\*

Sukeyoshi KUDOH and Tei KUDOH

(Received for publication July 19, 1973)

From our experiences in overseas technical cooperations in South-East Asia, we keenly felt the necessity of development for easier and more reliable technique on the isolation culture of tubercle bacilli applicable in any rural area.

This paper presents the process of examinations on the dissolving for this problem.

## I. Comparative studies between Ogawa original and WHO swab culture method

Ogawa's sputum culture method which is the standard method in Japan is very simple and unique technique that the specimen is directly inoculated by pipett into medium after alkali treatment without neutralization. On the other hand, the sputum swab culture method which is appeared in WHO/Tbc/Techn. Guide is the simplified technique that the specimen stucked on cotton swab is treated by acid and then neutralized by weak alkali. This swab culture method is widely employed in many countries of South-East Asia.

The comparative studies between both methods using the same sputum specimens were performed by two leading laboratories in Thailand.

The results are shown in tables 1, 2 and fig. 2. It is concluded that the Ogawa's method is fairly superior to WHO swab method, especially in contamination rate, though there are no significant differences statistically in the positivity.

The swab inoculation procedure was applied, furthermore, to Ogawa's method for convenience in rural areas, and this method was compared with both Ogawa original and WHO swab culture method. The results are presented in tables 3, 4 and figs. 3, 4.

There are no differences between Ogawa original and Ogawa swab method in both positivity and contamination rate, while Ogawa swab method is a little superior to WHO swab method.

\* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 180-04 Japan.

The advantage of Ogawa swab method is its extreme simplicity and stability.

## II. Studies on the medium for swab method without neutralization

For the purpose of investigating more adequate medium for the swab method without neutralization, several examinations were performed.

A provisional formula of medium was theoretically set up as follows;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0gr., Mg citrate 0.1gr., Na glutamate 0.5gr., distilled water 100ml dissolve by heating, after cooling, glycerol 4ml, 2% malachite green 4ml, egg homoginate 200ml mix and stire, dispense each 5 to 7ml into McCartney bottle or test tube and coagulate in slant by heating at  $90^\circ\text{C}$  for 1 hour. (2% modified medium)

1. H37Rv strain was suspended in both distilled water and 4% NaOH solution. These suspensions were inoculated onto Ogawa, Loewenstein-Jensen and 2% modified medium. The numbers of colony in each reading week are shown in fig. 5.

2. Table 5 indicates the most suitable combination of the dose of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  contained in the modified medium and the concentration of NaOH in pretreatment agent. The best result is obtained from the combination of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2gr. and 1.0ml of 3% NaOH in sputum culture.

3. The comparison among several salts with Mg or citrate was made as a component of medium. The results suggest that Mg citrate in this medium can be substituted for Na citrate which dissolve more easily and more economical than Mg citrate.

## はじめに

結核対策の中心は感染源の追求とその排除にあると思われるが、その前提として精度の高い結核菌検出技術が求められるのは当然のことである。現在結核菌検出手技として最も鋭敏なものは分離培養法であるが、一方抗酸菌学の知見が拡るにつれ、分離菌の性状を知ることが以前よりも重要視されるようになってきている。したがって、いかなる遠隔僻地であつても結核菌の分離が必要であるにかかわらず、その手技に習熟を要し、設備、資材に経費がかかるなどの点から、WHO では塗抹染色法を中心に開発途上国の結核対策を進めているのが現状である。

しかし、東南アジア各国の中心的結核菌検査機関では、WHO 推奨の術式<sup>1)</sup>によつてかなり広汎な結核菌分離培養を実施している。1964年、1967年の両度にわたるタイ国における技術協力とその前後の東南アジア各国の視察を通じ、これら各機関のうちには、多大の努力にかかわらず、その成績の動揺に悩まされているところもあることを知った。このような事情から、より安定で簡便な方法を確立することが、これらの地域の結核対策に益するところ大であろうと考え、爾来多くの検討を経て一応の成案を得ることができた。以下にその検討の過程と到達した術式について述べ、大方のご批判とご追試を請う次第である。

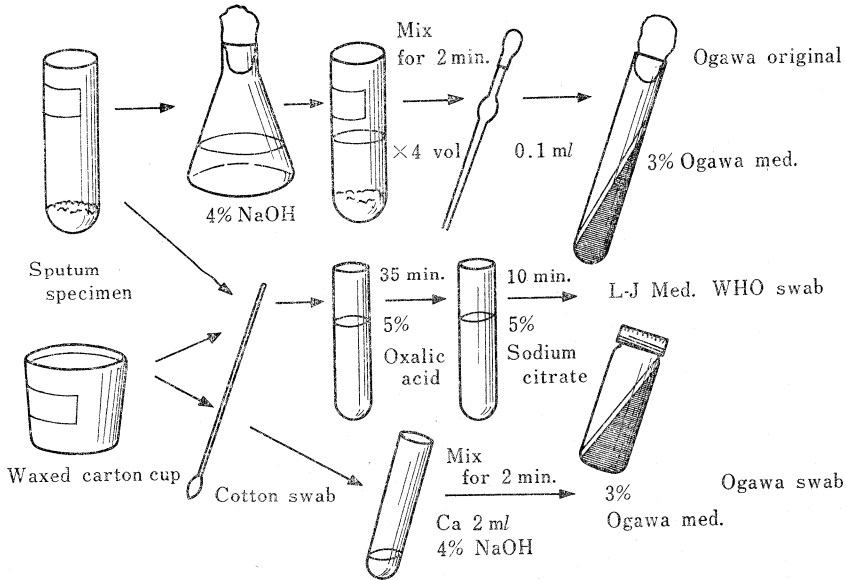
## I. わが国の小川法と WHO スワブ法の比較

意図：現在東南アジア各国の検査機関の大部分が WHO/Tb/Techn. Guide/67.7<sup>2)</sup> 所載の喀痰スワブ培養法（以下 WHO スワブ法と略す）を採用実施しているが、これは Nassau の提案<sup>3)</sup>による酸処理中和法である。この方法は簡便法として示されているが、なお操作は煩雑で時間を要し、ところによつてはかなり汚染が多い。これに反し、われわれが永年実施している小川法<sup>4)</sup>はアルカリ処理中和なし法で簡便であるが安定した成績を示し、とくに不十分な条件下での検査に適していると思われる。そこでこの両法を現地において現地の人の手によつて比較しようとした。

方法：この実験は1967年10月より1968年2月までにわたつて行われたが、そのときまでバンコクの中央胸部診療所（Central Chest Clinic, C.C.C. と略す）の検査部はすでに5年以上にわたる WHO スワブ法の経験をもち、一方中央胸部病院（Central Chest Hospital, C.C.H.）の検査室は著者の指導によつて1964年以降小川法を実施していた。

比較実験にさいし、習熟の程度によるバイアスを避けるため、この両機関より1名ずつの女子検査技術者を推薦してもらい、10日間にわたり相互に相手機関でおのの日常検査手技を習得させた。そして C.C.C. ではマカトニ瓶にレーベンスタイン-ジェンセン培地（以下

Fig. 1. Illustration of Procedures



L-J 培地と略す)を C. C. H. では綿栓つき試験管に 3% 小川培地を作り、その半数ずつを毎週交換した。後の実験では両機関で別々にマカトニ瓶入り 3% 小川培地も作った。

この両機関に戻ったおのおのの技術者が、新しく習得した方法とそれまでに習熟していた方法によつて同一患者喀痰について平行して検査を実施した。

術式は図 1 に示した。

小川原法：喀痰に 4 倍量の 4% 水酸化ナトリウム水を加え、ピペットで約 2 分間攪拌の後、その混和液 0.1 ml ずつを綿栓つき試験管に凝固した 2 本の 3% 小川培地に流入接種し、表面を潤した後、斜面を水平にして 37°C に 2 日間静置後、封蠟して培養を続ける。

(3% 小川培地：燐酸二水素カリ 3g, グルタミン酸ナトリウム 1g, 純水 100 ml 以上加熱溶解冷却後、グリセリン 6 ml, 2% マラカイト緑水 6 ml, 全卵均質液 200 ml を加え混和, 5 ml ずつ分注, 90°C 1 時間斜面に凝固)

WHO スワブ法：約 20 cm の椰子の葉の線維の一端にごく少量の脱脂綿 (0.1g 以下, 長さ 2 cm 以下) を巻きつけ糸で縛り滅菌 (紙で数十本を包み, 乾熱滅菌) したものを用意する (スワブ)。試験管立てに 2 列に短かめの試験管を立て、前列へは 5% 蓨酸水, 後列には 5% クエン酸ナトリウム水を試験管の高さの 2/3 まで分注しておく。喀痰をこのスワブに付着させ、静かに前列の蓨酸水へ漬し 35 分間放置する。次いでこのスワブを後列のクエン酸ナトリウム水に移し 10 分間静置する。その後、このスワブを引き上げマカトニ瓶 (ネジ蓋つき厚手オンス瓶) に凝固させた L-J 培地の斜面表面に絞るように塗擦接種する。ネジ蓋は直ちにしめる。

(L-J 培地：燐酸二水素カリ 2.4g, アスパラギン 3.6 g, クエン酸マグネシア 0.6g, 硫酸マグネシア 0.24g, 純水 600 ml 以上を溶かし、これにグリセリン 12 ml, 2% マラカイト緑水 20 ml, 全卵均質液 1,000 ml を加え混和 5 ml ずつ分注, 85°C 45 分間斜面に凝固)

小川スワブ法：WHO スワブに用いる同じスワブに喀痰を付着させ、短い試験管にあらかじめ約 2 ml 分注しておいた 4% 水酸化ナトリウム水中で 1~2 分間十分に攪拌混和する。このスワブの綿に吸い込んだ液を、マカトニ瓶に斜面に凝固した 3% 小川培地の表面に絞りながら塗擦接種する。この操作を 2 本の培地にくり返す。ネジ蓋は当初 37°C 中に 2 日間ゆるめておいて後しめたが、後には接種直後にしめた。

成績 1. 小川原法と WHO スワブ法の比較

表 1, 表 2 にみる通り、両機関ともほぼ同様の結果を示した。小川法に慣れた C. C. H. では小川法：WHO スワブ法は陽性率 47.2% : 41.8%, 集落数では前者のほうが多いもの 56 に対し後者に多いもの 8, 汚染率では部分汚染 (判定は可能であるが少しでも雑菌の侵入したと思われるものおよび 2 本の培地の一方だけに汚染の起つたもの) 7.55% : 23.11%, 全面汚染 (判定不能なもの) 0.94% : 7.08% であつた。

一方 WHO スワブ法を永く実施していた C. C. C. では同様に、陽性率 65.0% : 58.4%, 集落数 65 : 46, 部分汚染 4.66% : 27.66%, 全面汚染 1.0% : 11.67% であつた。

成績 2. 小川原法と小川スワブ法, WHO スワブ法と小川スワブ法の比較

前者は C. C. H., 後者は C. C. C. において実施した。

Table 1. Comparative Studies between Ogawa Original and WHO Swab Culture Method-1 Central Chest Hospital Laboratory (Thailand)

		Positivity				Contamination rate			
		Ogawa original		Total %		Ogawa original		Total %	
		-	+	-	+	-	+	-	+
WHO swab		108 (102)	16 (9)	124 (111)		136	11	1	148
		4 (2)	88 (86)	41.8 (43.5)		44	4	1	49 23.11 64 30.2
Total		112 (104)	100 (93)	212 (197)		194	16 7.55	2 0.94	212
		112	47.2			18	8.49		

$\chi^2 = 1.37612$  no sign.  
( ) means the numbers excluding the contaminated cases

Table 2. Comparative Studies between Ogawa Original and WHO Swab Culture Method-2 Central Chest Clinic Laboratory (Thailand)

		Positivity				Contamination rate			
		Ogawa original		Total %		Ogawa original		Total %	
		-	+	-	+	-	+	-	+
WHO swab		99 (88)	26 (3)	125 (91)		175	6	1	182
		6 (4)	169 (168)	58.4 (65.4)		77	5	1	83 27.66 118 39.3
Total		105 (92)	195 (171)	300 (263)		283	31 4.66	3 1.00	300
		105	65.0			17	5.7		

$\chi^2 = 2.82021$  no sign.

$\chi^2 = 31.99201$  sign  
P.C.: Partial contamination.  
C.C.: Complete contamination.

$\chi^2 = 97.50059$  sign.

Table 3. Comparative Studies between Ogawa Swab and Ogawa Original Culture Method. Numbers of colonies

	Ogawa swab		Total %
	-	+	
Ogawa original	131 (114)	7 (6)	138 (120)
+	9 (7)	86 (93)	95 (43.6)
Total %	140 (121)	93 (92) (43.2)	233 (213)

$\chi^2=0.108$  no sign.

	Ogawa swab							Total
	-	1~10	11~200	#	##	###	###	
Ogawa original	131 (114)	3 (2)	3 (2)	1	1			138 (120)
1~10	5	3	1	15 (14)				9
11~200	1	2	4	3	1			11
+	51 (49)	1	5	1				7
##	2	2	8	10	19	2		43 (42)
###	1 (0)		4	15	5			25 (24)
Total	140 (121)	11 (15)	16 (15)	22 (37)	37 (7)			233 (213)

Central Chest Hospital Laboratory (Thailand)  
Contamination rate

	Ogawa swab		
	-	P.C.	C.C.
Ogawa original	184	17	7
P.C.	11	3	1
C.C.	2	3	5
Total %	197	23 9.87	13 5.57
		36	15.4

$\chi^2=2.48$  no sign.

Table 4. Comparative Studies between Ogawa Swab and WHO Swab Culture Method. Numbers of colonies

	Ogawa swab		Total %
	-	+	
WHO swab	73 (68)	7 (6)	80 (74)
+	2 (1)	38 (44)	40 (39) (34.5)
Total %	75 (69)	45 (38.9)	120 (113)

$\chi^2=0.2914$  no sign.

	Ogawa swab							Total
	-	1~10	11~200	#	##	###	###	
WHO swab	73 (68)	5 (4)	2	12 (11)				80 (74)
1~10	1	5	2	1				8
11~200	3	5	1					9
+	1 (0)	1	1	12	2			17 (16)
##	8 (7)		1	4				5
###								1
Total	75 (69)	14 (13)	10 (15)	14 (24)	6 (7)			120 (113)

$\chi^2=23.935$  sign.

	Ogawa swab		
	-	P.C.	C.C.
WHO swab	61	7	1
P.C.	41	7	1
C.C.	2	0	0
Total %	104	14 11.66	2 1.66
		16	13.3

Fig. 2. Growth Rate-1

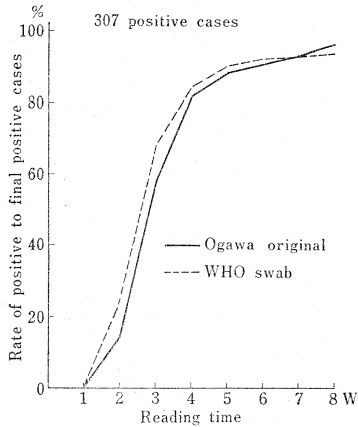


Fig. 3. Growth Rate-2

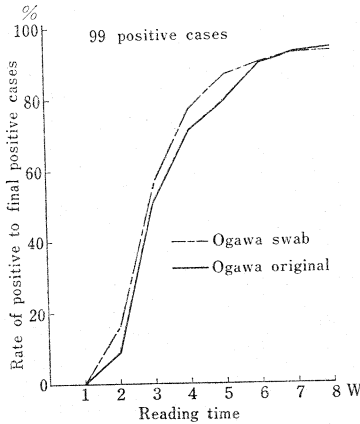


Fig. 4. Growth Rate-3

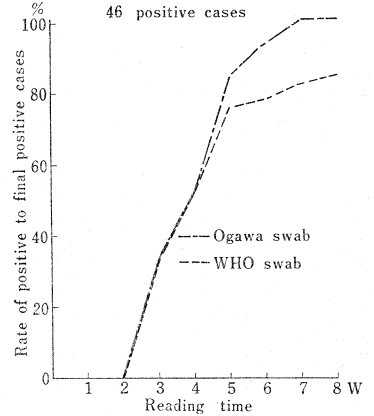


表3に示すように小川原法：小川スワブ法は陽性率40.7%：39.8%，集落数51：15，部分汚染6.43%：9.84%，全面汚染4.24%：5.57%。WHOスワブ法：小川スワブ法では表4の通り陽性率33.3%：37.5%，集落数8：12，部分汚染40.83%：11.66%，全面汚染1.66%：1.66%であった。

なお以上の各方法における集落発生速度を、各判定週における陽性数の最終陽性総数に対する百分率を結ぶ曲線で示すと図2~4のようになる。

考察：わが国の小川法は世界に類をみないアルカリ処理中和なしという特異な方法であるが、これが簡便、経済的であるにかかわらず結核菌検出精度に優れているという確信を以前からもつていたが、タイ国で技術指導を行った機会に、現地機関の手によつてできるだけ客観的な方法で、この小川法と東南アジアで広く用いられている喀痰スワブ法を比較しようと試みた。小川法とL-J培地による遠心中和法の比較は林ら<sup>5)</sup>によつて、喉頭粘液での小川培地とL-J培地の比較は小川ら<sup>6)</sup>によつて基礎的に検討されていて、いずれも小川法がやや勝つていと述べている。

本実験の結果は、現地の人の10日間という短期間の習練にかかわらず、小川法によつて永らく習熟したWHOスワブ法を上回る成績の得られることが立証された。もつとも陽性率の差は推計学的に有意とはいへなかつたが、汚染率には有意の差があつた。

さらに現地事情を考慮に入れ、小川法にスワブ接種の手技を導入することにより、一層の簡略化と術者の感染防止が期待できると考えられたので、とくに現地で入手しやすいマカトニ瓶に小川培地を作り、従来の両方法と比較した。

小川法にスワブを用いても、原法に比べ成績はほとんど遜色がなく、発育集落数にのみ、材料の接種量の差によると思われる差がみられた。(原法は0.1ml、スワブ

法は0.05ml前後の接種量である)

またWHOスワブ法と小川スワブ法の比較ではやはり小川スワブ法のほうが勝つている。しかし検出能力の点以上に大きな利点は小川スワブ法が著しく簡便で時間も少なく済む点にある。術者感染の危険性は両者ともほぼ同様に少ないものと思われる。

また中和なし法は中和法に比べ、結核菌に対する傷害が強いのではないかという危惧は図2~4の集落発生速度にみるように、小川原法の立上りがWHOスワブ法よりやや遅い程度で、最終的には差がない。しかも小川法も接種量の少ないスワブ法とすれば、WHOスワブ法とほとんど同じになり、全く問題はない。

## II. 中和なしスワブ法における培地の検討

意図：I実験の成績から3%小川培地による中和なしスワブ法が多くの優れた点をもつことは明らかであるが、スワブによる4%水酸化ナトリウム水処理喀痰液の接種量は $0.05 \pm 0.01$  ml程度であり、0.1ml接種を前提とする3%小川培地の組成はさらに検討する必要があると思われた。そこでとりあえず従来の経験や文献などから以下のような培地組成を設定してみた。

磷酸二水素カリ 2g, クエン酸マグネシア 0.1g, グルタミン酸ナトリウム 0.5g, 純水 100ml, 以上を加熱溶解後冷却, これにグリセリン 4ml, 2% マラカイト緑水溶液 4ml, 全卵均質液 200ml を加えよく混和した後, 5~7ml ずつ試験管またはマカトニ瓶へ分注 90°C 1時間斜面に凝固, この培地を2%変法培地と仮称した。

磷酸二水素カリを3gから2gに減らしたのは上述のようにアルカリ処理喀痰液の接種量が少ないことによる。クエン酸マグネシアはL-J培地にも入っているが、Dubosら<sup>7)</sup>も大量発育にはMgが不足すると述べている。グルタミン酸ソーダは卵培地ではあまり重要な因子

ではなく、加えない培地でも結核菌は発育しうるので<sup>9)</sup>、半量に減らした。グリセリンはヒト結核菌の発育に特別な役割をもつとされているが、その発育支持濃度にはかなり幅があり<sup>7)</sup>、むしろ広い範囲の抗酸菌の検出には少な目のほうがよいのではないかと思われる。しかしこれ以上減らすと培地が乾燥しやすく保存性が悪くなる。色素は本来雑菌阻止と集落を見やすくする目的で加えられているが結核菌にもかなり傷害を与えるので、汚染のふえない範囲ではできるだけ少ないほうがよい。

1. 従来の培地と2%変法培地の比較

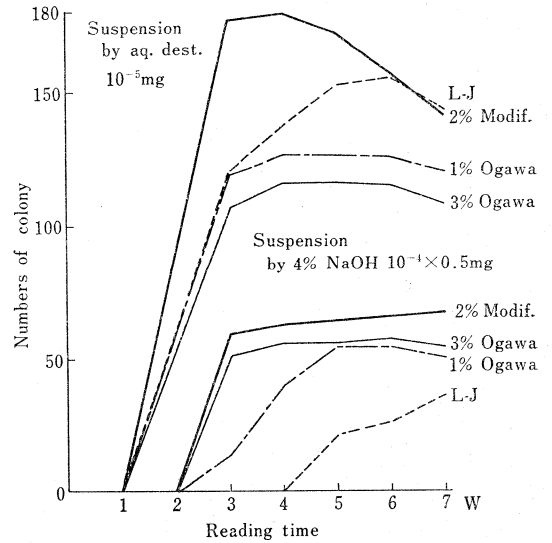
方法：H<sub>37</sub>Rv 株ソートン培地菌膜より摩砕により 1 mg/ml の純水浮遊液を作り、これをもとにして純水および 4% 水酸化ナトリウム水で 10 進希釈を行い、それぞれ 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> mg/ml の結核菌浮遊液を用意した。

3% 小川, 1% 小川 (3% 小川培地の磷酸二水素カリを 1g としたもの), L-J (この実験では 90°C 1時間凝固した), 2% 変法培地 (上述) の各培地 5本ずつに、純水浮遊菌は 0.1 ml ずつ、水酸化ナトリウム浮遊菌は 3% 小川培地におよ 2 倍に希釈してその 0.1 ml を、他の培地にはそれぞれ 0.05 ml ずつを正確にピペットで流入接種した。

成績：毎週発生集落数を計測した。そのうちで適当な数を示した希釈について図5に示した。

上方の1群は純水浮遊菌 10<sup>-5</sup> mg を接種したものの。下のほうは 4% 水酸化ナトリウム浮遊菌の 10<sup>-4</sup> × 0.5 mg を接種したものである。図中週を経るに従い逆に集落数の減っているのは、発育に伴う集落の融合によるものである。この図にみるようにこの 2% 変法培地は初期

Fig. 5. Comparison of Growth Activities of Media



発育も集落数も従来の培地に比べやや優れていると考えられる。とくに水浮遊液、アルカリ浮遊液の両者に共に良好な成績を示したのは従来の培地に比べ多目的に用いる可能性を示唆しているように思われる。

2. 変法培地中の KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> の量と前処理用 NaOH 濃度との関係

方法：上記 2% 変法培地組成中の磷酸二水素カリの量を 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 g とした 4 種類の培地を作製した。患者喀痰 (10 検体を用いたが、集落の正確に算定できたのは 3 例にすぎなかつた) を 1, 2, 3, 4% の水酸化ナトリウム水で 10~100 倍に希釈、攪拌機で 3 分間丁寧に攪拌し、上記の各培地に 0.1 ml ずつ接種し、型

Table 5. Research for Adequate Concentration of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in Modified Medium with Combination of NaOH Pretreatment (Numbers of colonies in each reading time)

NaOH	Specimen	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>																							
		0.5 g		1.0 g		1.5 g		2.0 g																	
		2	3	4	5	6	7	2	3	4	5	6	7	2	3	4	5	6	7	2	3	4	5	6	7
1 %	A	0	0	0	0	3	10	0	0	0	0	3	9	0	0	0	0	6	8	0	0	0	0	6	12
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5
	C	±	±	24	33	37	32	±	32	38	38	38	36	±	45	39	39	40	38	±	40	42	42	41	40
2 %	A	0	0	0	0	1.5	9	0	0	0	0	4	8	0	0	0	0	3	7	0	0	0	0	4	9
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	0	±	1	46	46	47	±	86	96	96	96	96	±	93	100	100	100	97	±	58	66	64	63	60
3 %	A	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	8	0	0	0	0	1	7	0	0	0	0	4	10
	B	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0	0.5	0.5
	C	0	0	0	0	0	0.5	±	70	82	81	82	78	±	90	92	92	92	94	±	111	123	122	123	123
4 %	A	0	0	0	0	4	10	0	0	0	0	4	11	0	0	0	0	5	9	0	0	0	0	5	9
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	0	0	0	0	0	0	±	25	45	46	47	47	±	59	66	66	68	66	±	67	79	76	76	70

通り毎週集落数を算定した。

成績：集落の発生は2週ころからわずかに認められるものが多い。表5にみるように、このような水酸化ナトリウム処理中和なし接種では前処理濃度とは関係なく磷酸二水素カリの量はある程度多くないと発育は良くないようである。(因みに L-J 培地の磷酸二水素カリ量は変法培地に換算すると 0.4g に相当する)

この実験では磷酸二水素カリ 2.0g 添加の培地に3%水酸化ナトリウム水で処理し 0.1 ml 流入したものが最も良い成績を与えている。したがってスワブによる 4%水酸化ナトリウム処理 0.05±0.01 ml 接種はこの実験の磷酸二水素カリ 2 ないし 3g に相当することになろう。

3. 2% 変法培地中のクエン酸マグネシア

方法：本培地を日常検査にも広く用いるようになって、1つの問題が提起された。それは本培地組成中のクエン酸マグネシアが溶解しにくいという点に、入手が時に困難であるという点である。(用途の狭い薬品なので製造量が少なく、輸入が途絶え勝ちの由) それでこの薬品を他の塩類に替えられないかを検討した。

1% 変法培地 (2% 変法培地の磷酸二水素カリを 1g に減らしたもの) を基礎とし、その組成中のクエン酸マグネシアをクエン酸ナトリウム 0.2g, 0.3g, クエン酸

ナトリウム 0.2g と硫酸マグネシア 0.05g, 硫酸マグネシア 0.05g に替えたものおよびクエン酸マグネシアを加えないものの6種類の培地を作製した。凝固水の pH はクエン酸マグネシアを加えない培地が 6.5 で他はすべて 6.6 を示した。

H<sub>37</sub>Rv ソートン培養菌膜より摩砕により、10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> mg/ml の純水浮遊液を作り、その 0.1 ml ずつを各培地 5 本ずつへ流入接種した。

また 2% 変法培地を用いて同様の実験を患者喀痰 (塗抹陽性痰) についても試みた。喀痰を 4 倍量の 4% 水酸化ナトリウムで処理したもの 0.1 ml を同様にこれら 6 種類の培地に接種し、集落数を数えた。

成績：1% 変法培地に結核菌浮遊液を培養した成績のうち集落数の正確に数えられた 10<sup>-4</sup> mg を接種した 4 週目のものを図 6 に示す。この図からみるとクエン酸ナトリウム 0.3g はクエン酸マグネシアとほぼ同じ成績を示していて、Mg はとくに意味をもたないようにもみえる。

しかし一方 2% 変法培地での患者喀痰によるものでは表 6 のように一貫した優劣はつけ難く、これらの間には手技的な誤差しかないようにみえる。(総検査件数 120 例中から集落数が 10 以上 150 コ以下のもののみを示した)

Fig. 6. Growth Supporting Activity of Modified Media under Changing Elemental Salts (H<sub>37</sub>Rv 10<sup>-4</sup> mg/ml)

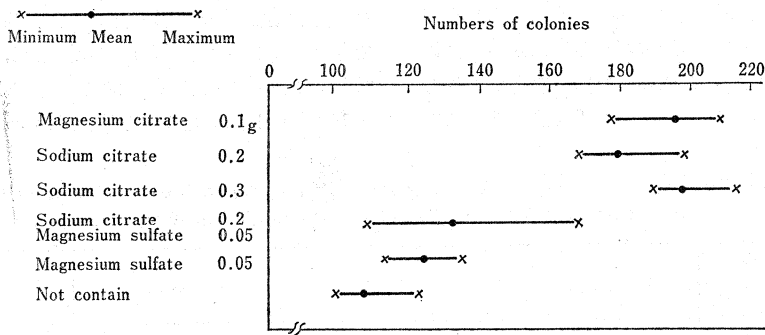


Table 6. Growth Supporting Activity of Modified Media under Changing Elemental Salts (Positive sputa)

Specimens	Numbers of colonies											
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
Magnesium citrate 0.1g	14	61	144	73	12	97	18	78	84	139	16	109
Sodium citrate 0.2	13	58	94	70	6	83	15	65	82	142	17	101
Sodium citrate 0.3	21	74	98	58	8	88	14	67	92	120	19	105
Sodium citrate 0.2 Magnesium sulfate 0.05	14	63	106	74	10	70	15	77	94	128	16	116
Magnesium sulfate 0.05	17	94	136	78	6	78	18	83	90	139	13	118
Not contain	16	70	95	78	13	102	15	84	79	147	14	125



以上のような結果からクエン酸マグネシアは必ずしも加える必要がないかもしれないし、あるいはクエン酸ナトリウムを加えるだけでよいかもしれない。ただし1%変法培地を結核菌浮遊液による実験に応用する場合は少なくともクエン酸ナトリウムは加えたほうがよいように思われる。

考察：I実験において良い成績を示した中和なしスワブ法に、より適した培地を開発しようとして、2%変法培地と仮称する組成を土台に2, 3の検討を加えた。

その結果、結核菌浮遊液による基礎的検討では従来の広く用いられている培地よりもやや優れた発育支持力を示し、水酸化ナトリウム前処理では2~3%の濃度で0.1 ml接種すなわち4%で0.05 mlの接種量が適合していることが知られた。さらにクエン酸マグネシアの代りに入手しやすいクエン酸ナトリウムを用いてもよいという成績を得た。

しかしクエン酸マグネシアの実験でも示されたように結核菌菌液による成績と、臨床検査としての喀痰による成績では大きく食違うのがふつうである。たとえば卵培地に何らかの発育促進物質を添加して、菌液ではかなり大きな差を示しても、臨床検査では有意の差が示されないという数多くの経験をもっている。したがってこのような結核菌分離培養用の培地は実際の臨床検査の場においてのみ評価さるべきであろう。これらについては後述する。

本論文の一部または要旨は第44および第47回日本結核病学会総会ならびに第21回国際結核会議において発表した。

## 謝 辞

本研究の遂行に当たり多数の方々の熱心なご協力を得た。以下に主なお名前を列挙して深い敬意と感謝を捧げる。

I実験. Dr. Waith A., Dr. Manus, Miss Suda (以上 C. C. H.), Dr. Prakorb V., Mr. Paybul, Miss Somsri (以上 C. C. C.), 東義国博士 (当時在タイ WHO 結核対策顧問) ならびに2度にわたる著者らの渡航を推進された結核予防会結核研究所岩崎所長, 同附属療養所小池所長, 国立東京病院砂原院長, 島村副院長, および海外技術協力事業団。

II実験. 当研究室細島澄子技師, 臨床検査科酒井秀子技師。

## 主要文献

- 1) Laboratory Procedures for the Bacteriological Diagnosis of Tuberculosis in WHO Assisted Projects: WHO/TB/Techn. Guide/67.7, 11, 1967.
- 2) Nassau, E.: Sputum Swab Culture: Simple Method of Isolating Tubercle Bacilli from Sputum, Tubercle, Lond., 39: 18, 1958.
- 3) 小川辰次 他: 結核, 25: 207, 1950.
- 4) 衛生検査指針, 結核菌検査指針, 日本公衆衛生協会刊, 1972.
- 5) 林治 他: 日本細菌学雑誌, 16: 949, 1961.
- 6) 小川辰次 他: 日本細菌学雑誌, 14: 375, 1958.
- 7) Dubos, R. J. and Middlebrook, G.: Amer. Rev. Tuberc., 56: 334, 1947.
- 8) 小川辰次・工藤祐是 他: 第10回結核病学会関東地方会報告, 1951.
- 9) 工藤祐是: 文部省総合研究結核研究委員会細菌科会報告, 1951.