東日本支部第8回総会

感受性測定の基準化(1. ブドウ球菌)

(ラウンドテーブルディスカッション)

昭和 36 年 11 月 17 日　日本医科大学講堂

司　会　関東逓信病院　石　山　俊　次
話題提出者
北海道大学　鳥　居　敏　雄
順天堂大学　小　酒　井　　望
新潟鉄道病院　金　沢　　裕

司会(石山)　最初にこれはこの会としては，初めての試みであるので，討議の目的と方法について簡単に申し上げておきたい。第1は討議の目的であるが，現在まで多くの化学療法剤が提供され，この会で充分検討されて，その成績の発表も数多いことであるが，さてひるがえつて考えてみると，例えばその臨床成績にしても，それぞれ良い成績ではあるけれども，しかし何となく物足りないものもある。何故かというと，それぞれの御報告では確かにその成績に間違いはないということではあるけれども，しかし一方，甲と乙との比較が困難である。甲の人が 70% 有効であるということと，乙の人が 60% 有効である，或は 97% 有効であるということの内容を比較検討して，詳しい答を出すということは，なかなか困難である。

最近欧米の文献を見ても，トレーンとか或はハワードその他の人が同様なことを述べており，これは化学療法全般に亘つて，誰もが希望し，要望しておるところではないか，こういう風に感ぜられる。

ところで，若しもこの化学療法学会の基準に従つて，この薬は 70 点有効であるということであれば，これは横の比較ができることになる。又臨床効果に関係して，最近では耐性の問題，耐性の何パーセントというと，これは一つの仮定した値のような印象を受けて，その臨床家に対する影響は非常に大きいところがあると思うが，しかし昨日から又本日の一般演題において，しばしば問題になつたように，耐性そのものの発生要因というものにはそれぞれ異なつた内容がありうるのであつて，そういうような点から，これも又甲の耐性と乙の人の耐性とは，必ずしもそのまま比較にならないというようなことがある。

この基礎となるのは，結局煎じつめると，感性の変化ということになるのではないか。こういう一つの見方があるわけであつて，そこで本日は全般の基準化ということは，非常に大きい問題であり，困難な事柄であるから，最初は感性測定の基準化ということについて，充分討議して，若しも基準化ということができるならば，その化学療法学会を通して討議決定したい。こういう希望である。これが今回の討議の目的である。

それから討議の方法であるが，結局どこの学会でも同じように，学会は学会に報告するという言葉があつて，聴かす方が主になる。ことによると予め完全な原稿を準備して来て，スライドを見せながら，原稿を読み上げる。皆んなが聴こうが聴くまいが，わかろうがわかるまいがそれは問題じやないというようなことが，なきにしも非ずであるが，しかし今度のような問題は，それでは済まされない，それぞれそのことに携わつてる方々が充分自分の意見を述べ，検討し合つて，そうして最も合理的な，最も実用向きな方法を結論しなければならないというような意味で，この討議の方式は報告ではなくて，話し合いの会にしたい，そういう主旨である。そういう意味でこの討議形式を選んだ。そのことを充分御了解の上で，最初は話題を提供するという意味もあつて，専門の3人の方にひと通りのお話をして頂いて，その話題を中心に，或はそれ以外の問題を会場の皆様から充分発言をして頂いて，そうして充分心ゆくまで討議したい。これがこういう方法の選ばれた理由である。

感受性測定の基準化

鳥　居　敏　雄

最初の話題提供者として簡単に我々の見解を説明したい。約 10 年前の日本抗生物質学術協議会臨床部会において，感受性測定法の基礎的な考え方について発表したことがあつた。しかし当時は耐性菌出現が臨床的に余り重要な問題になつていなかつたのであるが，今日のように耐性ブドー球菌が化学療法の大きな障害になつてくると，抗生剤を試験管内感受性試験によつて選択するということが以前よりも更に重要な手段になつて来たわけである。我々の基本的な考え方については最新医学 (16 巻 10 号，昭和 36 年) に発表したので興味をもつ方は参照されたい。

感受性検査法は第1表にしめすように寒天拡散法と稀

第1表　感受性（耐性）検査法の種類

1. 寒天拡散法（ディスク法）
   - 単一ディスク法（Roskilde，昭和ディスク）……阻止帯直径による判定
   - 三段階ディスク法（Difco，栄研ディスク）……各ディスクによる阻止帯発生の有無
2. 稀釈法
   - 液体培地（試験管法）……最小発育阻止濃度判定
   - 固形培地（平板法）……最小発育阻止濃度判定

第2表　各種試験法の優劣

	実施操作	Controlしうる実験条件（菌量，菌の発育速度）	抗生剤の濃度	M.I.C.測定	再現性
Disk法	簡単	容易ならず	Disk中含有量・溶出度・拡散速度による影響大	間接的抗生剤の種類による差大	誤差大
稀釈法	繁雑	比較的容易	正確	直接的	比較的良

釈法に大別することができる。

寒天拡散法にも単一ディスクで細菌発育阻止帯直径の大きさで感受性を推定する方法と，数段階のディスクを用いて阻止帯発生の有無をもつて判定する2つの方法が行なわれている。

稀釈法にも液体培地法と固形培地法とがある。

次に拡散法と稀釈法の優劣を比較すると第2表のように要約することができる。

即ちディスク法は大量の試料をあつかうのには非常に簡便であるが，感受性を定量的に表現するための最小有効濃度（M.I.C.）の測定法としては甚だ間接的であるため，種々の要因によつて変動が大きいので精度は悪くなる。

これに反し，稀釈法では実験操作は複雑になるが，M.I.C.の測定は直接的である点でディスク法とは根本的に異なる。

感受性測定は多くの要因によつて影響をうけるが，拡散法，稀釈法の両者に共通な要因と，おのおのに特有な誤差要因にわけて考える必要がある。第3表にこれらを要約してしめした。

共通要因として，先ず培地の良否は細菌発育速度および菌数に影響を与えるため，稀釈法の読みにも，発育阻止円の大きさにも影響を与える。培地pHは抗生剤の種類によりその影響が異なる。接種菌量も一般的に影響が大きいが，殊にサルファ剤では著しく，またペニシリナーゼ産生株でペニシリンG感受性をしらべるときに菌量

第3表　感受性試験に及ぼす諸要因

共通要因			Disk法	稀釈法
培地	抗菌力			
	良	↓	Diskよりの溶出（村山）PC>EM≒CM>SM>CTC>OTC>TC	抗生物質稀釈の幅
	否	↑		
pH	酸性	TCS・CM・PC ↑		
	アルカリ性	SM・EM ↑	拡散速度（村山）PC≒CM>SM>EM>OTC>CTC>TC	部分阻止，完全阻止による判定の誤差
接種菌量	大	サルファ剤PC・PC-ase産生菌 ↓		
	小	↑		
培養時間	長	TCS ↓		
	短	↑		

によつて成績が大きく左右される。

培養時間の長短も菌数に与える影響とともに，培養時間中の抗生剤の安定性の有無も考慮しなければならない。例えばクロールテトラサイクリンでは培養時間が長いと破壊されて抗菌力が弱くなる。

次に稀釈法と拡散法のそれぞれに特有な誤差要因であるが，第2表にしめしたように本質的な相違があり，これを第3表で具体的に説明した。

拡散法では一定量ディスク中に含まれた抗生剤が寒天中に溶出し，更にこれが寒天中に拡散し，細菌発育阻止帯をつくるので，薬剤のみによる誤差要因としても，ディスク中の抗生剤含有量，溶出量，拡散速度というように，少くとも3つの要因を考えなければならない。そして細菌発育の或る一定時間以内に或る一定の有効濃度（M.I.C.）が通過した範囲が細育発育阻止円にまるわけである。即ち発育阻止円の大きさは M.I.C. 以外に上記の複雑な要因によつて影響されていることを常に考えていなければならない。村山はディスクからの溶出は PC>EM≒CM>SM，CTC>OTC>TC となり，拡散速度は PC≒CM>SM>EM>OTC>CTC>TC というような順序であると報告している。

同一含有量のディスクまたは錠剤を用いて，阻止円の大きさから感受性の推定を行なう場合，初期に用いられた Roskilde 社の感応錠のように，各抗生剤について同一の制定基準を用いれば必ず systematic の誤差が出ることは我々は度々指摘した通りである。従つて金沢氏が行なつたように各抗生剤についての標準曲線（昭和ディスク）によつて判定すべきであると考える。

三階段ディスク（Difco，栄研）については，どの階級

第4表 Disc 直下における各抗生剤濃度（村山）

	Disc 番号	Disc 含有量 mcg/disc	寒天直下濃度 mcg/ml
Penicillin	I	0.5	0.50
	II	2	2.9
	III	10	23.0
Erythromycin	I	0.5	0.77
	II	2	4.3
	III	10	31
Streptomycin	I	2	6.3
	II	10	27
	III	50	119
Chloramphenicol	I	2	3.3
	II	10	24
	III	30	83
Tetracyclines	I	2	2.2
	II	10	11
	III	30	31

第5表 接種菌量の変化にともなう M. I. C. の変動

Organism / Inocula	M. I. C. 25～6.25 mcg/ml			6.25～1.56			0.4～0.1		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1×	4	8	4	8	8	8	8	8	4
10^{-1}	2	4	2	4	4	4	4	8	2
10^{-2}	1	2	2	1	2	2	2	4	1
10^{-3}	1	1	1	1	1	1	1	1	1

NB : The data indicate the ratio ; MIC/MIC of min. iuocul. size (10^{-3})

まで細菌発育阻止帯が出来るかで感受性を判定するのであるが，これもディスク直下濃度は第4表のようになり，テトラサイクリンは他の抗生剤にくらべて甚だしく低濃度であることに注意をはらわなければならない。

稀釈法では先ず第1に標準抗生剤を用意して，これを秤量して稀釈する必要がある。また感受性測定の精度は稀釈の幅以下にすることはできない。また判定の際に完全阻止をとるか，部分阻止までとるかということで結果が異つてくる場合もあり得る。

次に接種菌量を 1～1,000× に変えた場合の稀釈法による感受性をしらべてみると第5表のようになり，接種菌量を 10 倍増せば，M. I. C. は約2倍となり，100 倍にすれば約4倍，1,000 倍すれば約8倍となる。接種菌量の変化を 10 倍以内にとどめることができれば測定結果が安定しうることをしめす。

我々の教室の病原性ブドー球菌保存株で同じ方法でくりかえしてみた結果をしめすと，ペニシリンGに対する感受性は，1960 年 9 月で平均値 3.14 mcg/ml，標準偏差 1.62 mcg/ml，同年 11 月でそれぞれ 3.24，1.71 となる。同じ方法で行なつても個々の判定値にかなりの変動がみられるが，全体の平均値と標準偏差で比較すると，殆んど不変であつた。

参 考 文 献

1) 鳥居敏雄，他：最新医学 16：2792，昭 36
2) 村山翁助，他：最新医学 11：2178，昭 31
3) 村山翁助：J. Antibiotics, Ser. A 12：263，1959

ラウンドテーブルディスカッション要旨

小酒井 望

感受性測定法を基準化するに当つては，目的によつて感受性測定法が相違して然るべきであることを当然考えなければならない。即ちブドウ球菌の各種抗生物質に対する感受性の地域的分布や年次的推移を調査する目的の場合と，ブドウ球菌感染症に対する抗生物質の選択のための場合とでは測定法が相違してさしつかえない。つまり前者では感受性の差がはつきり現われ，しかも実施者による測定誤差が少い方法であることが必要であるが，後者ではそれ程正確な値は得られなくても，その抗生物質が当該感染症に用い得るかどうかがわかり，しかもどこででも簡単に行なえる方法でなければならない。前者では固形培地又は液体培地を用いる希釈法が，後者では市販の感受性ディスクを用いる方法が専ら用いられている。

まず前者の目的，つまりブドウ球菌の各種抗生物質感受性の地域的分布と年次的推移をしらべることを目的とした感受性測定法の基準化について考えてみよう。赤痢菌の場合には，現在固形培地を用いる希釈法が広く用いられている。即ち抗生物質を 100 γ/ml から2培希釈濃度段階に含んだ寒天平板の1系列に被検菌を1白金耳づつ画線塗抹する方法である。平板培地による希釈は培地の種類，接種菌量を一定にすると再現性は極めてよく，測定者の個人誤差も少い。そして液体培地による希釈法に較べて一度に多数の菌株を測定できる長所を持つている。

私は最初に液体培地および固形培地を用いる希釈法について，接種菌量の多少による値の変化を観察した。液体培地を用いる希釈法では，ブイヨン (Brain Heart Infusion) に各種抗生物質 (PC, SM, CP, TC, EM, OM, KM, Spiramycin, Dimethoxyphenyl Penicillin) を2倍希釈濃度段階に含有させ，それに被検菌のブイヨン 24 時間培養を適宜希釈して接種した。培地1本（液量 3 ml）当りの接種菌数は 10^8～10^2 である。そして 24 時間後に菌の増殖の有無を肉眼的に判定した。菌数が多

くなれば感受性が低く，少なければ感受性が高く出るのは当然で，接種菌数が 10^8 と 10^2 とで感受性の値に 8～16 倍以上の開きのあることも稀ではない。この感受性値の接種菌数による開きは，抗生物質の種類によつて相違し，比較的開きの少いもの（例えば Dimethoxyphenyl Penicillin）から開きの大きなものまである。殊に Penicillinase 産生菌の PC 感受性値は，接種菌数が 10^8 と 10^2 で 128 倍以上の開きのあることがあり，接種菌数の減少に伴つて階段的に感受性値が小さくなる。1 例をあげると接種菌数が 10^8 から 10^2 になるに従い，>100, 100, 6.25, 1.56, 0.78, 0.78, 0.39 u/ml となる。又感受性値の開きは同一抗生物質についても，菌株によつて多少相違する。

一方固形培地による希釈法は，抗生物質を 2 倍希釈濃度段階に含有させた寒天平板（Heart Infusion 寒天使用）の 1 系列を作り，それに被検菌のブイヨン 24 時間培養をそのまま，および 10^{-1}～10^{-4} 希釈したものを 1 白金耳づつ画線塗抹した。白金耳は赤痢菌の場合に慣用されている内径約 1 mm のものを用い，約 1 cm 画線塗抹し，24 時間後に判定した。接種菌数は大凡 10^5～10^1 である。更にブイヨン培養そのままを内径約 3 mm の白金耳で画線塗抹したが，この場合の接種菌数は大凡 10^6 である。内径 3 mm の白金耳を使用すると，菌液が平板上を流れる傾向があるから，実際にはこれ以上大きな白金耳は使用できない。従つてブイヨン培養を画線塗抹する限りは，10^6 以上接種菌数が多くなることはまずないと考えてよいであろう。この固形培地による希釈法で測定した結果は，接種菌量による感受性値の差は液体培地の場合程大きくなく，Penicillinase 産生菌の PC 感受性測定の場合を除いて，内径 1 mm の白金耳を用いた場合接種菌数 10^5～10^1 でせいぜい 2～4 倍の値の開きがあるのみである。又ブイヨン培養そのままを内径 3 mm の白金耳で塗抹した場合と 1 mm のとでは，せいぜい 2 倍の差がみられたのみである。なお Penicillinase 産生菌の PC 感受性測定の場合には，内径 1 mm の白金耳を用いた場合，接種菌数 10^5～10^1 で 16 倍程度の差がみられ，ブイヨン培養そのままを内径 3 mm の白金耳と 1 mm の白金耳で塗抹した場合では，更に 8～16 倍の差の見られることもある。然し上述のように液体培地を用いたのと較べると菌数による開きは大きくない。

液体培地による希釈法と固形培地による希釈法では，固形培地による方法の方が接種菌数による値の変動が少いことは以上の通りであり，同一培地を用い接種菌数をほぼ一定にすれば，同一菌株を繰返し測定しても常に同一の値が得られる。衛生検査指針「ブドウ球菌検査指針」には寒天平板による希釈法を標準法として採用しているが，この際対照として 209 P 株を平板の 1 劃に塗抹することを規定している。209 P 株のように感受性値のわかつた菌株を対照として用いれば，薬剤含有平板作製の誤りを見出すことが出来て便利である。

次に抗生物質の濃度段階をどうきめるかが問題である。上記ブドウ球菌検査指針では 0, 0.1, 1, 10, 100 γ/ml（又は u/ml）を採用しており，病原ブドウ球菌の感受性分布を全国的に調査した国立病院耐性共同研究班では，PC, SM, KM は 0, 0.1, 1, 10, 100 γ/ml（又は u/ml），CP, TC, EM は 0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 γ/ml を用いている。赤痢菌の場合広く用いられているような 100, 50, 25, 12.5……と 2 倍希釈濃度段階を用いることは些か煩雑であり，濃度段階をもうすこし省略することが望ましい。各種抗生物質の血中濃度，ブドウ球菌の臨床的耐性・感受性境界濃度などを織り込んだ濃度段階を検討すべきであろう。

（金沢先生の要旨は論文としてこの後に別に掲載する。）

司会（石山） これで話題提供の第 1 回のお話は済んだわけである。なお，言い残されたこと，それから他のお二方のお話を聞いて，これはどうしても言わなければならないということが，必ずあると思う。そういう意味で第 2 回目のお話を願いたい。

鳥居 第 1 回では非常にこまかいことを述べたので，次にはもつと結論的なことをお話したい。それではディスク法を撰ぶか，希釈法をとるか，ということについて述べると，非常に簡単であつて，現在ディスク法は一般に臨床的に最も多く用いられておると思う。これはディスク中に一定の抗生物質が入つておるから，非常に操作が簡単であるためだと考える。この方法の欠点は前に述べたように，発育阻止帯の大きさに及ぼす色々の要因を我々が実験室でコントロールすることが出来ないということである。更にディスク中に含まれた抗生剤の量であるが，これが我々が実際に用いるときに説明書に書いてあるように正確に含まれているか否かということが問題である。例えばペニシリンなどが 0.05 mcg/disk というものが完全に保存できるか，という問題である。メーカーの方で時々チェックしておられるであろうが，これが果してできるかどうか，かなりばらつきがあるのではないかということをおそれる。それから先程述べたように，ディスクからの抗生剤の溶出度，寒天内の拡散が抗生物質によつて違うわけであるが，判定の際に，これに対する補正が充分になされているかどうかもまだ問題があると思う。従つて感受性の有無の第 1 段階の Screening としては，用いることはできるかも知れないけれども，先程小酒井博士が言われたように，東京の耐性分

布，北海道の耐性分布，或いはまたアメリカと日本とを比較しようとする場合，この方法を用いることができるかどうかということになると，甚だ問題がある。一方希釈法の場合，いちいち寒天平板に或る一定の抗生剤を含ませるように稀釈するのは非常に煩雑である。先程小酒井博士が言われたように，比較的菌量のコントロールが簡単である。正確にやれば抗生剤濃度は一応正確に培地に加えることができる。それから最小有効濃度の測定というが一応直接的に行なうことができるという利点がある。従つてその目的によつていずれかを撰ぶということが必要だと思う。即ち臨床的の大量の材料の第1次Screeningには拡散法を用い，精密な感受性測定には希釈法を用うべきだと思う。

（小酒井先生の分は前文にまとめてある。）

（金沢先生の要旨は原著論文としてこの後に別掲する。）

討　　論

司会(石山)　これで3先生方の話題提供は，前後2回に亘り，略々お約束の時間がすぎたのである。この中には非常に重要な問題がいくつかあつて，充分重要な話題を提供して頂いたと考える。

ここで一般討議に入りたいと思うが，今お話のように感性試験というのは，なかなか難しいものである，そうやたらに手を出さないものである，というようなことが実際は困ると思うし，なお，例えば耐性とは何であるか，どの辺に耐性の点を切るか，というような問題とか，或いは感性試験の成績から有効な抗生物質というのは，どういう資格をもつたものかというようなこと，いろいろ問題が残されていると思う。ここでこれから，只今の3先生を含めた会場の皆様全員でなおこれらの問題について討議を続けたいと思う。

木村　ちよつとお教えいただきたいが，最初に鳥居先生に，感応錠やディスクを用いた場合，いろいろな薬剤によつて浸透力が違うという，村山さんのお仕事であるが，その場合にディスクを寒天に置いてからIncubationをおいても拡散度がやはり違うか。その場合に短時間でそういうことが速度の上で出てくるか。

鳥居　ディスクからの抗生剤の溶出度と寒天中の拡散速度をどのように推定したとかいうと，村山君はディスクを寒天の上において，1) 時間的にディスクの中の抗生剤はどのように減つていくか，2) ディスクからいろいろの距離の寒天中の抗生剤の濃度が時間的，距離的にどのように変化をするかを測定した。このようにすると，PC, CMのように溶出度のよいものはディスクの濃度の減りが速やかで，その直下の濃度は高くなり，TCはその反対である。またPC, CMのように拡散速度の早いものは距離に対する濃度の勾配は小さいのであるが，TCでは勾配が大である。このようにして溶出度，拡散速度を推定したわけである。

木村　ディスクの方法も私非常にいいと思うけれども，その場合に寒天の濃度とか，培養の前に10何時間放置するとかによつて変つて来るか。

鳥居　時間的に寒天中の濃度勾配も変つてくる。それは村山君がJ. Antibioticsに詳しく書いておる。

木村　色素みたいなもので拡散させると，たとえば3時間ぐらいの場合と18時間ぐらいの場合と相当拡散の係数も違つてくる。今のディスクの測定の場合も菌を摂取してすぐ培養するか，あるいは一定の時間放置した後に培養するかによつてちがつてくると思う。また培養時間によつても異なつてくると思う。この問題が今の3人の方の御報告の中にあまりなかつたから，そういうこともやはり感受性の基準化の中で取り上げていただきたいと思う。稀釈法の場合にも適用されるが，それよりもむしろ平板拡散法，ディスクの場合である。

鳥居　ディスクの場合で1番問題になるのはいま述べた拡散の問題とそれから菌の発育のLag phaseの問題であると思う。一般に菌量が増すとLag phaseが短かくなり，従つて阻止帯の大きさが小になる。Lag phaseの長さは菌によつて異なると考えられる。例えば非常に生えにくい菌はLag phaseが長くなるから，発育阻止帯も大きくなる。このように考えると，単に一つの菌で作つた阻止円の大きさとM.I.C.の標準曲線は精確に言えば他の菌では適用しないということになる。

司会(石山)　接種菌量の問題はいろいろまた御意見があると思うけれども，さらにこれを方式化するときにいろいろ御参考願うことにする。

徐　ぶどう球菌に関してちよつとお話ししたい。分離したてのときの測定値とそれから計算したときの値とがかわつていることが往々あるから，分離してすぐにはかるということが1つ必要であり，それを計算してはかつた場合に違つておる場合が大いにあり得るということも考慮しなければならないと思う。それからポピュレーションの問題であるが，ある耐性を持つている菌を分離しても，その菌の中に同じような耐性の菌が全部まざつておるかということもあろうが，そうでない場合の方がどうも多いのではないかということが考えられる。従つて再原性という点から言うと，*Staphylo.*の感性測定は非常にむずかしいんじやないかという気がする。測定値がバラツキが出てくる原因はその辺にあるのではないかとも感じる。それからもう1つぶどう球菌の場合の培地の問題であるが，ペプトンが非常に影響するのではないかということである。で，ペプトンの種類によつては菌の増殖を非常にかえるというようなこともあるので，第1

培地としてのペプトンの条件が今後基準化する上に非常に必要でないかと考える。つまりペプトン成分の analyse が完全にとれていないと，標準化する場合に差が出てくるのではないかということも一応考慮しなければならない問題であると思う。

白羽(大阪市大)　今おつしやつたようなポピュレーションの問題というのは非常に大事であると思うが，私以前にこういうことをやはりぶどう球菌についてやつて，10% くらいはおるとどうも工合が悪い。そつちに負けてしまうというようなデータを持つたので，きようの小酒井博士並びに金沢博士などがどんなふうにお考えになつておるかお教え願えたら幸せだと思う。それから subculture の問題であるが，先ほどの方のおつしやつた通りにやはり Subculture 培養を重ねれば重ねるほど菌の様子が，ことにぶどう球菌の場合は様子がかわつてくる。それでもし病巣内のばい菌の様子をなるべく再現したいというならば Subculture やらないで Primary にやるということが大事ではなかろうかと思う。しかし稀釈法による検査ということになると，どうしても Subculture にならざるを得ないことになるので，そういう点についても御三方から御意見を伺いたい。

司会(石山)　Strain の扱い方という問題について。

小酒井　たとえば病巣からぶどう球菌を分離して，その感受性をはかるという場合に今おつしやつた Subculture をせずにやるのは，いわゆる直接法という言葉で表わされておる。たとえば膿を染めてみて，グラム陽性の球菌が見える。それを平板の上へ塗つてディスクを置いてはかれば1番いい。これは当然だと思う。こうすると 24 時間後に成績がわかるわけであるし，それからもし病巣内にいろんな感受性の菌がまじつておる場合には当然直接法をやつた方がより正確な値が出るということになる。1度分離培養をして1つの集落をとつて感受性をはかつた場合に，もしその病巣内にいろんな感受性の菌がまじつておつた場合に，その1つの集落をもつて病巣の代表とすることはできないわけである。それで1度分離培養した菌について感受性をはかる場合には私どもは検査室で Routine に行なうのは，幾つかの集落をとつてそれぞれを別々に増菌してそれを1緒にまぜてその1滴を平板の上へおとして，ディスクをおくというようなことをやつておるわけである。ところで普通私どもが稀釈法で扱う場合には，1つの集落をとつて，それを純培養して菌株とするが，1つの集落が必ずしも1種の菌からできるわけでないから，たまたま非常に感受性の高い菌と低い菌とがまざつておると当然接種菌量によつて値が違つて出てくることが起り得るとし，又継代中に感受性がかわるということもある。ただ分離用平板培地にできた幾つかの集落を一緒くたにして，それを寒天斜面に植えて菌株とするということをする人はないと思うが，そうすれば継代によつて著しく感受性がかわることは起り得る。

司会(石山)　この問題は実際には臨床家としては早く感受性を知りたいという一方からの要求もあるので，いろいろ問題があると思うが。

上田　基準化という言葉もあるけれども，それは最高の研究機関の辺のレベルの基準化なのか，それともももつとずつと低いところの1体基準化なのか，それともあるいはこの学会が中心になつてこういう基準化を進めるのか，こういうようなことを一つきめていただかないと，たとえば場所によつてやはりディスクの方が私いい場合ずいぶんあるだろうと思う。それからまたあるところでは稀釈法の方がよかろう。その問題をやはりきめていただいた方が話の進み工合がいいように思う。

司会(石山)　これは最高の理論を裏づけとした実際的な基準化で……実際の実用だからどうでもいいというわけにはいかない。その裏づけは最高の学問によつていただきたい。

藤井　私も上田君の御意見と全く同じである。実際こういうことを実験室内でやつておられる若い方の意見も少し聞き出していただきたい。

真下　私ども実はあまりこのごろ直接やらない方にまわつてきたが，ただ非常にこういうことを厳密にきめてこういうふうにやらなければいけないということ確かにむずかしいということがある。私は一定のやり方をいろいろの点で自分の内容にできるだけ検討した条件をつけて，たとえ完全でないにしても，とにかくそれを使つて読み方があるのではないかと思う。臨床の方からはある程度の矛盾があり得るということを知つて読めばそう困らないのでないかと思う。それからもう一つ，接種菌量という点では確かに先ほど 2，3 のお話が出たようにあまり菌量を減らして感度のいいように，いいように持つていくよりも臨床の方から言うと，なるべく点をからくしているような方法の方が臨床効果と合うのではないかと思う。

二宮　私の方は動物に使う薬を検査しておるが，非常に込み入つた薬が使われておるということである。野外で働いておる臨床家がこれをやつておけば，何かきくだろうというような行き方で使われておる。先ほどから問題になつておるが，どの研究機関が使うのか，あるいは臨床家が使うのかというような問題がある。

長谷川　私臨床の方からいくと，同じブドウ状球菌感染症であつても，敗血症とか心内膜炎とか，あるいは膿瘍とか，ブドウ状球菌感染症についての臨床効果は同じ

感染症でも全然使い方もちがうし，使う量も違わなければならない。それである一定の線を引いてここが感性だ，いやここは抵抗性だときめられると，私たち臨床家はよくわかるんですが，わけのわからない方が保険の審査員なんかになると，その感性の菌にこんな大量使つていた，けしからんとこういうことを言う方がままある。それは非常に残念であつて，特に地方では細菌性心内膜炎が入つておるので，非常に被害をこうむつているから，検定の諸先生よろしくその辺のところを考慮に入れて検討いただきたい。

中沢　私たちほとんど毎日ディスクなり何なりの検査法を見ておる。結果を見ておるわけであるが，今の諸先生のお話を伺つて，今まで私どもがやつたことが全々意味がなかつたみたいにとれて，またこれでもつて今長谷川先生がおつしやつたように保険診療そのものも順位というものがきまつておるわけであり，あまり詳細にこうなると，もうできないのではないかというような一抹の不安を感ずるのである。そしてまたこういうような検査法は医者がやるというよりも技術家の方々が一様におやりになることでもあるし，やはりある線を画していただいて，要するに抗生物質使用の順位をきめるというところに重点を置いていただければ臨床家にはよろしいのでないかと思う。

小酒井　私病院の検査室に長いことおるが，結局ディスク法を普通は使うわけである。こういう基準化という問題をすべて1つに基準化してしまうというふうにお考えになると大へん間違つておるのではなかろうか。検査室の日常検査という立場から言えば，ディスク法を使わざるを得ないわけであるが，私どもが使うのはメーカー物を使うわけであつて，従つてメーカーさんまかせで向こうがだめならこちらの成績もだめになる。こういうことで実際に既成品についての検定はおのおのメーカーが自家検定をなさつてるだけであつて，私どもはいただいたものを使わざるを得ないということである。ところで昨日のスピラマイシンの演説を伺つて感じたが，新しい抗生物質ができれば，すぐその血中濃度，感受性，臨床効果とこういうのが報告の常道のように理解するが，そういう場合にスピラマイシンの感受性を何処かではかる場合，みな測定法がまちまちである。勿論稀釈法をお使いになるが，その場合にせめてお互いの成績を比較するために，自分の方法とある申し合わせた方法でやつてみようじやないかということでそういう成績を出していただくと，きく方も非常に参考になるのではないかと思う。そういう意味での稀釈法の基準化が必要と思う。勿論臨床効果の判定は，もう現状ではディスク法をやめることは不可能ではないかと思う。

司会(石山)　臨床家は検査する技術者にげたを預け，技術者はタブレットのメーカーのげたを預け，困るのは患者ということになつても困ると思うが。

北本　臨床家は境界を考える場合に，低いところへ境界をおくと，この薬はもうだめだから他の薬へうつりたいというときには非常にうつりやすいわけである。それから高い境界を考えておいた場合には，そこへいく時間がおそいわけであるから，次の薬へ今度はうつる可能性はおそくなる。従つて境界をきめる場合に低いところできめるか，高いところできめるかということで次のAndere medikament にうつる可能性がある程度左右されるから，臨床家というものは多少耐性の境界ということに nervös になると思うが，内科の病気と外科の病気とあるいはそのほかの病気とでも差があるように，同じ菌の感性あるいは感受性菌であつてもフォーカティブがばらばらになる。従つて臨床の広い立場から考えると，耐性の境界というものは，その幅ということはやはり狭いほどはつきりしてよろしいけれども，臨床の方ではそう狭くはできない。そうすると，検査法が非常に精緻になることはけつこうであるが，これを臨床的に応用する場合には，必ずしもそう精緻で全く出る必要はないのではないか。ただ学問として境を界はかる方法として，あるいは学問的ないろんな議論をする場合にはこれはまたきわめて精細でなくてはいけない。

司会(石山)　実用的な線が引かれてほしいという御意見である。しかしまたその反面においてあまり窮屈だと現在の保険診療では削られたという長谷川さんの御意見である。そこでそういうことがもし線を引いた場合に，非常に保険診療で窮屈になる心配があるかどうか見通しについて，その方の御意見を伺いたい。

大越　この間も保険のことで話し合いがあつて，薬をどれを使うかというのは今保険の順序というものが治療指針できめられておるけれども，それをとび越えて要するに感受性試験をしてある程度データが出ればこちらは1プラスだ，こちらは3プラスということになると，3プラスに使う薬をいきなり使つてもいいというふうになつているようであるから，そういう点でむしろ保険にディスクでも何でも利用して，感受性試験をやつてこうなつているんだから，いきなり使つたんだ，そういうように持つていかれるように利用されたらいいのではないかと思う。ここで3先生が日常 Routine として実際にやつてる方法をお示し願つて，どこが違うか，違うだけを拾い上げて，それについて検討されたら，日常のごく Routine にやつてる方法についてこういうものが一応みんなでやつたらいいのではないかということが出るのではないかと思う。

司会(石山) 実はこの会のそもそものスタートは何回かこういう会をもつて，これは東部支部会であるが，これがよければ関西でも九州でもこういう Fraction を持つていただいて，それをだんだんと積もり積もらして，最後には日本化学療法学会で結論を出したいというのが趣旨である。あまり動きのとれないような結論を出すと，今度は関西なり九州なりと一騎打ちをしなければならぬことになつても困ると思う。そこで3先生にもう一度仕上げのお話をお願いしたい。それは私はこうしているというところで簡単にお願いしたいと思うが，その前に他に発言御希望の方は。

長谷川 私の発言がちよつと誤解されたのであるが，病気によつて抗生物質の感受性という言葉が非常に誤解をまねくということを言いたかつたのである。たとえば心内膜において，少量他の同じ感受性菌の感染の場合と比較して，倍以上のペニシリンを注射してもきかない。臨床効果が，そういうふうに同じ感受性であつても，病気により，同じ病気でさえもそうである。いわんや違う病気，外科の病気，内科の病気によつては全然違う。そういう場合に先ほど感受性が3プラスだから早く口に入るというふうに無定見なことでよろしいであろうかと私は言いたい。要するに感受性というのは何のために調べるか。それは病気をなおすためであり，病気をなおすことに直結しないならば，どんなむずかしい検査をしても，あるいは簡単な検査をしても無意味ではないかと，こういうふうに考えたので言つたわけである。

鳥居 私がディスク法に対してかなり批判的であるという印象を皆様お持ちになつたと思う。しかし北大病院の中央検査室においては第1次の Screening にはディスク法を使つておる。そこで私が申し上げたいことはディスク法はいろいろな誤差を生じる要因を内在しており，殊に抗生剤によつて systematic な誤差があるということを承知の上で，その結果を判断すべきだと考える。研究的な問題の場合にはどうしてもやはり M.I.C. を直接はかるような方法，殊に寒天平板による稀釈法が最も再現性があると考える。

小酒井 私どものところももちろん検査部ではディスク法を使つておるが，3段階濃度のディスクを使つておる。私がディスクを実際に研究しておられる方，それからメーカーの方に望みたいことは，先ほどもお話が出たように，両種のディスクで少し成績が違うというようなこと，それからきくところによると，病院の検査室では1段階濃度の場合に使用書に書いてあるように4時間冷蔵庫に入れることをしないで適当にやる，あるいは3段階濃度の1濃度だけを使つて適当に判断するというようなことが行なわれておるように聞いておるが，そうするとなおさらこの結果は非常に乱れてしまうという気がする。それでこういうふうに簡便法で省略法をやつた場合にはこんな程度の大きな誤差があるんだというような問題も，ディスク法を研究しておられる方から1つ成績をはつきり出して警告をしていただきたい。それからもう1つはこのディスク法の成績と稀釈法の成績との相関であるが，これも金沢博士の非常にりつぱな成績があるが，いろいろ条件によつて誤差が大きく出てくるように伺い，又経験もしておるので，ここら辺ももう少し誤差の出る理由をはつきりさしていただくことが必要ではないかと思う。それからいわゆる原受性の分布を調べる，あるいは年次的は推移を調べるというのはこれはどうしても寒天平板による稀釈法の方が正確な値が出るのではないかと思う。私の感じから申すと，液体培地を使つた稀釈法があたかもオーソドックスのごとく考えられていたが，私自身がそういう偏見を持つておつたのかもしれないが，必ずしもこれはオーソドックスなものではない，むしろ寒天平板を使つた方がいいのではないかと思う。それからもう一つ，これはかつて私が伝染病学会で赤痢菌の感受性を表わす場合に耐性でなしに感受性で言つた方がいいのではないかと提案したが，ブドウ球菌の場合もどつちかに統一した方がいい。たとえばある人は何γ耐性といい，ある人は何γ感受性というが，用語をなるべく統一した方がよいと思う。当学会で発表する場合の，ことに稀釈法を使つた場合の値の表現は，感受性で表わすか，耐性で表わすかということを統一していただくのがいいのではないかと思う。

金沢 今日は，大体，稀釈法が主体になると思つていたのに，問題がディスク法にしぼられて参り，ディスク法の実用性の高いことを知り，驚いている次第である。私の所は，勿論，ディスク法を行なつており，一濃度・定量測定法を主にしている。その理由は，さき程述べたことにつきておるが，くり返すと，一濃度・定量法では M.I.C. を定量的にあらわすことができるのに，三濃度法ではそのディスク含有濃度が，必ずしも合理的でないこと，例えば，ペニシリンでは，ペニシリナーゼ産生ブドー球菌が時に阻止円を現わす 0.5u，または同一性状の薬剤であるエリスロ，ロイコ，オレアンドマイシンがそれぞれ 0.5μg，2μg，2μg と異なつた含有ディスクで阻止円を現わした場合をすべて同様に“極めて感受性”と判定するなどの成績が，検査室からわれわれ臨床家に与えられると言うことになり，この点臨床的見地から納得がゆかないからである。

なお，鳥居先生が先程，ディスク法と稀釈法の比較についてお話になつたが，一つ大切なことをつけ加えさせて頂きたい。お話にもあつたように，ディスク法では，

薬剤の拡散と細菌の種類による発育速度の差のくい違いが，実験誤差の原因になると言うことは確かであるが，これもある程度薬剤が拡散して，その培地内濃度の変動の少くなつてから，即ち，培養前放置を行なつて，のち培養開始するなどの方法により，此の欠点を可成りコントロールすることができると考えられる。此のようにしてディスク法では，各薬剤ごとの規準にしたがつて，阻止円の大いさからM.I.C.を連続的な数値で読みとることが出来ると言うことは，稀釈法では真似することのできない長所と考えられる。一例をあげるとサルファ剤，クロランコエニコール，ニトロフラン系薬剤では，ディスク法の方が，倍数稀釈法に較べてむしろ精度が良い場合があるのではないかと思われる成績を私共は得ている。また，ディスク法では，平板の中央にディスクをおいて，10 数種の菌を放射状塗抹すれば，同時に多くの株の感性を，スクリーニングすることができ，白羽先生のお話にもでたように，同一被検体の検出菌の耐性分布をしるために，または混合感染の検査に便利な点もディスク法の長所であろう。以上，ディスク法の弁護に終始したが，あくまでもディスク法の目的は操作が簡易であり，拡散法の長所である連続的な数値がえられる点を利用して倍数稀釈法と一致するM.I.C.を測定するのが目的であると考えられる。

直ちに規準の明らかでない十一などと判定して臨床家に成績を示すことではないと考えられる。菌の感受性と言うのは，あくまでも *in vitro* の値であつて，薬剤の治療効果は，多くの因子の関係することで，先程も長谷川先生のお話にもあつたように亜急性細菌性心内膜の場合などは，その起因菌の感受性に加えて，病気の性質，従来の経験などを参考にして，とくに *Sanguis* などの場合は一層その特性を知つた上で治療を行なわなくてはならないわけである。即ち，薬剤の選択は臨床家の方で定めるのであるから，充分な資料としてM.I.C.で成績を出していただいて，十一など場合によつては，参考につけ加えていただくのは結構であるが，規準の明らかでない十一だけを示されることは臨床家としてはいただき兼ねるわけである。

また，先に示したようにM.I.C.と臨床効果の間には連続的な相関があるから，北本先生のお話のように感性値をあらわすにはある程度の幅で，2，3 の段階で示すのが合理的であると考えられることを一言つけ加えさせていただく。

司会(石山) 感性試験の基準化ということは臨床家あるいは臨床検査を担当する方の一様の希望であり，悲願であることにかわりはないようであつて，もしこの基準化ができる場合には，実際的な面からディスク法を除くわけにはいかない。しかしその成績を読むためには平板稀釈法によつて十分読みの間違いないようにコントロールする必要があるというようなふうにも伺う。そこで，この会の長老の先生方の御意見を簡単に伺いたい。

島田 基準化という言葉はどうも私はあまり好かない。あれをむしろ一般的普及の意味で何かはつきりきめるというよりも，臨床家にはこういう方法がいいのではないか，基礎の方ではこういう方法でやれというようなむしろ学会としてはつきりしただれにでもできるような方法をきめられた方が，大へん意義があると考える。

市川 日本化学療法学会としては一気にここで何か結論を出すという考え方ではなく，宿題として機会あるごとに議論していい結果が出たらそれが一番いいのではないかと思う。こういう話が出るときに必ず話題になるのはアメリカではどうやつているかということであるが，最近の事情御存知の方からお伺いしたい。

金沢 私は向うでディスクの種類，使用状況，その検定の様子などを見てきたいと思つたのであるが，日時もなく一部しか見学できなかつた。一般臨床検査室では，盛んにディスクを使用しているのを見てまいつた。一濃度又は二濃度が多いようであつたが，その判定も阻止円が出る，出ないといつた程度のもので，検査を行なつている技術員の方，又はその上の臨床検査室の細菌主任の方にも，ディスクの含有濃度と阻止濃度との関係，含有濃度の妥当性などについて質問してみたが，ほとんど関心がなく，ただ簡単だから行なつているという傾向が見うけられた。しかし，一，二の臨床医の方はクロマイ，テトラサイクリンが 30 μg 含有ディスクで阻止円の現われないのを耐性とするのは合点がいかず，更に高濃度が妥当だと言う意見をもつていた。

この様にディスク法の理論，根拠といつた点では，教えられるところは少いように思われたが，実際面，例えば操作の点など一度に多くのディスクをおとす dispenser とかディスクと培地が同一プラスチックシャーレに入つたものなど，目新しい工夫のなされていることを知り，大いに参考になつた。

鳥居 やはりパーセンテージから言えばディスクが非常に多く用いられている。たとえばカリフォルニア大学などではディスクでやつておるが，Mayo Clinic などではディスクなんかあてにならないというので稀釈法でやつておる。それからアメリカの学会で，実際に感受性分布を発表する場合には稀釈法の結果が多いと思う。

司会(石山) 予定の時間が来たので，ここでディスカッションをやめるのではなくて，一応中絶して，次の機会にまた継続してやりたいと思う。

東日本支部第8回総会

ラウンドテーブルディスカッション：感受性測定の基準化
(1. ブドウ球菌)

金沢 裕
新潟鉄道病院

In vitro 感受性測定の目的は，1) 薬剤を投与した場合の臨床効果推定に役立つ資料を与えること，2) 耐性の地域的分布，年時的消長を調査するに必要な値を提供すること，にあると考えられる。したがつて基準化にあたつては一般臨床検査室で容易に行なうことができ，しかも何処でも共通な単位，すなわち最小阻止濃度 (Minimum inhibitory concentration, MIC) で現わしうることが必要であろう。

実験条件の検討

すでに *in vitro* 感受性値は種々な実験条件に左右されることが知られているが，私どもも以下 2, 3 の点について検討を加えた。

培地について

液体，固型培地：従来から液体または寒天培地が使用されているが，私[1]どもの Penicillin (PC) G, Streptomycin (SM) についての経験では，液体培地では，Population が少くとも混在している耐性度の比較的高い方の菌の発育によつて全体の成績が支配されるので，固型培地にくらべ MIC が培養時間により大きく変動する傾向があると思われた。この点からも操作ならびに判定の容易な固型培地が基準化にあたつて取り上げらるべきものと考えられる。

培地 pH の影響：ブドー球菌 209 P 株を被検菌として，培地 pH[1]の MIC に及ぼす影響を寒天平板稀釈法で検討して，SM, Kanamycin (KM) ならびに Macrolide 系抗生剤，すなわち Erythromycin (EM), Oleandomycin (OM), Leucomycin (LM) はアルカリ側で，Tetracycline (TC) 系抗生剤及び PC G は酸性側で，抗菌力の増強がみられた。また同一 Macrolide 系薬剤でも EM が LM にくらべ pH の影響が強い傾向がみられた。したがつて使用培地の pH を一定にする必要があると考えられるが臨床検査としては体液の pH に近い 7.3～7.4 程度が一応適当でないかと思われる。

培地成分：培地成分としての拮抗物質，たとえば Sulfa (S) 剤には PABA，ペプトン，SM には NaCl, Cystein, KM には卵黄燐酸塩などが報告されている。

血液添加の影響：培地[1]に血液を 5% に加えた際の各薬剤の MIC の変動を平板稀釈法で検したところ，Novobiocin ではその影響が最も大きく平均 1/4 程度に抗菌力の低下がみられ，またS剤，PC でも多少のひらきがあつたが平均 1/2 以内であり，その他の抗生剤では著しい影響はなかつた。

ペプトンの影響：ペプトンはS剤の活性を低下させるのでS剤感受性測定には，ペプトン不含有培地が適当とされている。さらにペプトンで TC 系薬剤の抗菌力が低下するとの報告もあるので，なるべく同一条件で比較実験を行なつたところ，第1表のように，ペプトン含有培地では TC 系薬剤の抗菌力が多少低下する可能性のあることが認められた。

使用培地：そこで私どもはつぎの組成のペプトン不含有 Heart infusion 含有 MUELLER-HINTON 変法培地を用いて実験をすすめている。なお NaCl 濃度は SM, KM, Colistin の活性に影響するので可及的一定に保ち，また寒天培地の被浸透性（被拡散性）も変動のすくないように色素の拡散性を指標としてコントロールするよう試みている。

Heart infusion	300 ml
Casamino acid	16.5 g
Starch	1.5 g
Glucose	2 g
L-Tryptophane	0.05 g
L-Cystine	0.05 g
Biotine	0.000005 g
Agar (Nissan)	15 g

水を加えて 1,000 ml, pH 7.3～7.4
NaCl 濃度 0.7±0.2%

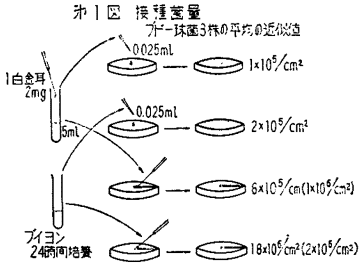
接種菌量について

寒天培地の接種菌量の現わし方について：感性測定成績に接種菌量の影響が考えられるが，平板培地上の接種菌量のあらわし方は必ずしも一定していない。私どもは単位面積宛の菌数で表示するのが最も合理的であると考えたので，24時間ブイヨン培養液ならびに1白金耳 (約 2 mg) 5 ml 均等浮游液1滴 (約 0.025 ml) をそれぞれ，シャーレ (内径 90 mm) 内寒天平板上に全面また

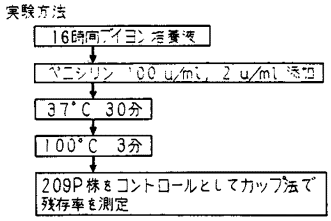
は劃線塗抹した場合の生菌数の算定を行なつて，第1図の結果をえた。すなわち，24 時間ブイヨン培養液が1白金耳 5 ml 浮游液より，また劃線塗抹法が全面塗抹より接種菌量の濃いことがみとめられた。したがつて，ことなる試験法の比較，たとえば平板稀釈法とデイスク法の比較には，単位面積宛同一接種菌量になるように配慮する必要があると思われる。

ブドー球菌の接種菌量，PC 感受性ならびに Penicillinase 産生度：第2図のような方法と判定基準でブドー球菌の Penicillinase (PC-nase) 産生度を推定して，接種菌量，MIC との関係を検討した。PC-nase 産生菌では菌量の差による MIC の変動が大きく，接種菌量が少

第1図 接種菌量



第2図 ペニシリナーゼ産生度の推定



判 定

ペニシリン不活性化程度（残存率）		ペニシリナーゼ産生度
100 u/ml	0%	±±
2 u/ml	0%	±
2 u/ml	100%>	+
2 u/ml	100%	−

第1表 ブドー球菌に対するテトラサイクリンの最小発育阻止濃度 寒天平板倍数稀釈法
16 時間培養，接種菌量約 10^5/cm

ハートインフュジョン（ペプトン含有）培地

菌株 / 薬剤濃度 μg(力価)/ml	209-P (A)	209-P (B)	S_1	S_3	S_4 (A)	S_4 (B)	S 昭和	S 新病	S_{14}	S_{10}	S_{15}	S_{17}	S_{18}	S_{19}	S_{21}	寺島
100.0	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	±±	−−	−−	±±	±±	−−	−−	−−
50.0	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
25.0	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
12.5	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
6.25	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
3.12	−−	−−	−−	−−	∓∓	−−	−−	∓∓	++	−−	−−	++	++	∓∓	−−	−−
1.56	∓∓	−−	∓∓	∓∓	∓∓	∓±	±±	±±	++	−∓	∓∓	++	++	±±	∓∓	−−
0.78	+±	∓∓	±±	±±	±±	±±	±+	++	++	±+	++	++	++	++	±±	±±
0.39	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
0.19	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

ミューラーヒントン変法（ペプトン不含有）培地

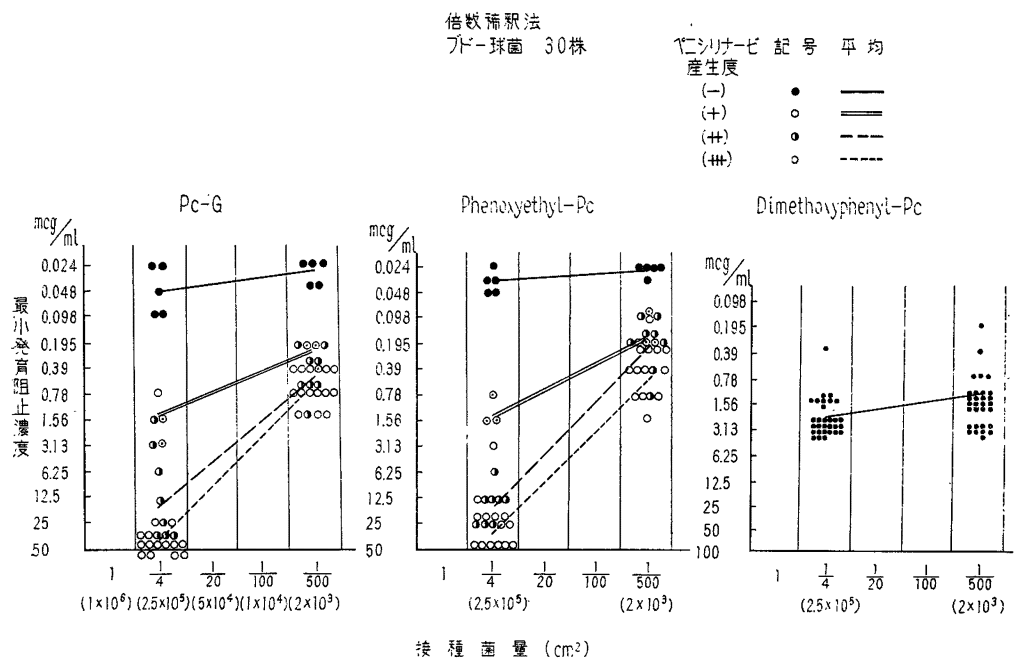
菌株 / 薬剤濃度 μg(力価)/ml	209-P (A)	209-P (B)	S_1	S_3	S_4 (A)	S_4 (B)	S 昭和	S 新病	S_{14}	S_{10}	S_{15}	S_{17}	S_{18}	S_{19}	S_{21}	寺島
100.0	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	±±	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
50.0	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
25.0	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
12.5	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
6.25	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
3.12	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−−	−−	−−
1.56	−−	−−	−−	−−	−∓	∓∓	−−	−−	++	−−	−−	++	++	−∓	−−	−−
0.78	∓∓	−−	∓∓	∓−	∓∓	∓∓	∓∓	∓∓	++	−−	−−	++	++	∓∓	∓∓	−−
0.39	±∓	∓∓	±∓	±±	±±	±±	±±	±+	++	±±	±±	++	++	±±	+±	±∓
0.19	±+	±±	++	++	++	++	++	++	++	±+	++	++	++	++	++	±+

いと感性度が著しく上昇した。しかし一方 PC-nase 非産生菌ではその差は少く，また PC-nase の作用を受け難い Dimethoxyphenyl-PC では接種菌量による MIC の差が少いことがみられた（第3図）。

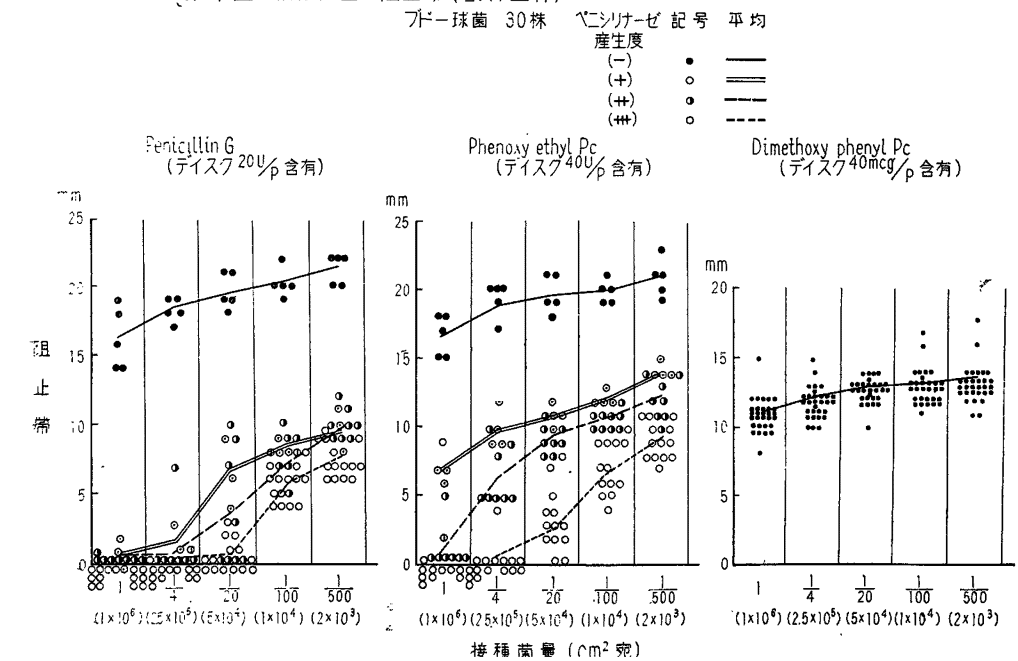
同様の成績は阻止帯の大いさから判定するデイスク法の測定結果にも経験された（第4図）。

また PC-nase 産生菌（自然耐性菌）ではデイスク法の阻止円が時間の経過につれて不整となり，同時に縮少するため，耐性度が高く判定される傾向がみられた。しかし放射状劃線塗抹デイスク法では PC-nase の影響がやや少く，同一条件の稀釈法に近い MIC を示すことは既に報告[1]した。

第3図 接種菌量と最小阻止濃度

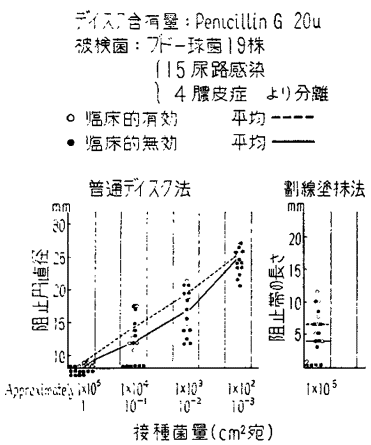


第4図 接種菌量と阻止帯（劃線塗抹）

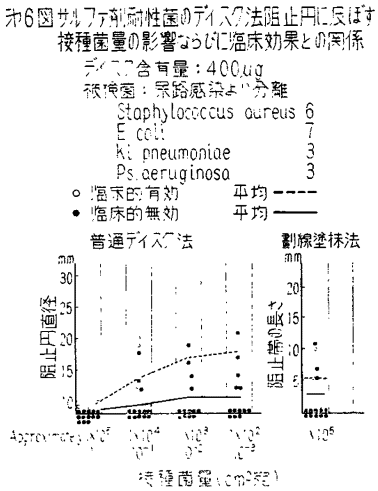


PC ディスク法の接種菌量と臨床効果．感受性検査で PC-G 耐性の成績がえられても臨床的に PC-G の有効例が可成り存在することに注目して，PC ディスク法の成績と接種菌量との関係を少数例ではあるが検討してみた。第5図のように接種菌量の減少につれて阻止帯の出現度ならびに拡大の傾向がみとめられたが臨床効果との相関の向上は必ずしも明らかではなかつた。PC 療法では個々の菌の PC 感受性以外に，PC-nase の作用し易い病巣，状態などが治療効果を大きく左右するためであろう。たとえば尿路感染では PC-nase は尿と共に体外

第5図 ペニシリン耐性菌の接種菌量と阻止円ならびに臨床効果との関係



第6図 サルファ剤耐性菌のディスク法阻止円に反ぼす接種菌量の影響ならびに臨床効果との関係



第2表 ブドー球菌 209 P 株の寒天平板倍数稀釈法による最小発育阻止濃度
MUELLER-HINTON 変法培地（感性ディスク用培地）pH 7.4 使用
接種菌量 $10\sim5\times10^4/cm^2$ 16～20 時間培養

薬剤	Penicillin G u/ml	α-Phenoxyethyl PC (L=62.5%) u/ml	Dimethoxyphenyl PC u/ml	Streptomycin μg/ml	Kanamycin μg/ml	Erythromycin μg/ml	Oleandomycin μg/ml
測定値及び回数	0.078(2) 0.039(8) 0.019(3)	0.048(5) 0.024(7) 0.012(1)	0.78 (5) 0.39 (6) 0.19 (2)	3.12 (2) 1.56 (8) 0.78 (4)	1.56 (8) 0.78 (5)	0.39 (8) 0.19 (5) 0.097(3)	1.56 (1) 0.78 (6) 0.39 (5)
幾何平均 $\left(\frac{1}{\sqrt{2}}\right)$	0.036 (0.025)	0.030 (0.021)	0.45 (0.31)	1.42 (1.00)	1.2 (0.85)	0.24 (0.17)	0.62 (0.43)
棄却限界 $\left(\frac{1}{\sqrt{2}}\right)$ $\alpha=0.05$	0.11 ～0.012 (0.075 ～0.0082)	0.080 ～0.011 (0.056 ～0.0079)	1.38～0.14 (0.98～0.10)	3.8～0.53 (2.7～0.37)	2.6～0.55 (1.86～0.31)	0.77～0.074 (0.54 ～0.052)	1.7～0.23 (1.2～0.16)

薬剤	Leucomycin μg/ml	Chloramphenicol μg/ml	Noboviocin μg/ml	Mikamycin (A : B 26.5 : 3.5) μg/ml	Sulfisoxazole μg/ml	Furazolidone μg/ml
測定値及び回数	0.78 (1) 0.39 (9) 0.19 (2)	3.12 (4) 1.56 (8) 0.78 (2)	0.78 (2) 0.39 (8) 0.19 (4)	0.78 (3) 0.39(10)	12.5 (2) 6.25(6) 3.12	0.62 (6) 0.31 (7)
幾何平均 $\left(\frac{1}{\sqrt{2}}\right)$	0.36 (0.25)	1.7 (1.2)	0.34 (0.24)	0.46 (0.32)	5.1 (3.6)	0.43 (0.30)
棄却限界 $\left(\frac{1}{\sqrt{2}}\right)$ $\alpha=0.05$	0.82～0.16 (0.58～0.11)	4.6～0.63 (3.2～0.45)	0.93～0.13 (0.65～0.088)	0.91～0.23 (0.64～0.16)	17～1.6 (12～1.1)	1.2～0.2 (0.81～0.14)

へ排泄される一方，腎より高濃度の PC が尿路に分泌されるので PC 耐性菌（PC-nase 産生菌）感染に PC の有効な場合が少からずみられるものとも想像される。

Sulfa 剤ディスク法の接種菌量と臨床効果：S 剤についても従来の試験で耐性に属しても臨床的に有効な場合がすくなからず経験されている。そこで従来のディスク法で耐性を示した菌株について，接種菌量と臨床効果について検討を加えた。第 6 図に示すように，接種菌量が適当な場合には臨床効果との相関の向上する傾向がみられたのは注目すべきことと考えられた。

したがつて従来から行なわれている 24 時間ブイヨン培養液の 1 白金耳塗抹は臨床的観点からは接種菌量が多過ぎ，少なくとも $10^5/cm^2$ を越えないほうが合理的と思われ，基準化にあたつて考慮を要すると考えられた。

標準菌株に対する各薬剤の MIC

感性試験を行なう場合には標準菌株を同時に接種して測定結果の正確を期する必要があると思われる。ブドー球菌 209 P 株について各抗菌剤の MIC を寒天平板倍数稀釈法でくり返えし測定した値を示してみる（第 2 表）。この成績は私自身ならびに抗生物質の検定に日常従事している方々に依頼してえた値を集計したもので，一般臨床検査室にくらべ，著しく劣る成績とは考えられない。この結果から MIC は生物学的測定値であるので，ある程度の幅をもつていることが確認された（なお，文献[1] P 59，第 14 表倍数稀釈法による測定値 の CP の試験菌*Staph.* 209 P は誤記で *E. coli* NIHJ と訂正する）。

稀釈法による測定値のあらわし方について

稀釈法では測定値，すなわち MIC を，発育を阻止した最低段階の方の濃度で現わすことになつている。たとえば倍数稀釈法で 0.25 μg/ml で発育がみられず，0.125 μg/ml で発育した際は，感受性値 MIC は 0.25 μg/ml と，また 10 倍稀釈法で 0.25 μg/ml で発育なく 0.025 μg/ml で発育したものは 0.25 μg/ml と現わすことに習慣的になつている。しかしこの場合それぞれの値を示す MIC の母平均は正規分布とすれば，それぞれ $\frac{0.25}{\sqrt{2}}$ μg/ml，$\frac{0.25}{\sqrt{10}}$ μg/ml にあるわけである。したがつて同じ菌でも，また同一 MIC を示しても，稀釈の濃度段階によつて異なつた推定値を示すことになる。この意味からはある稀釈法の測定値を，他の濃度段階の稀釈法または他の測定法の MIC と比較するには，$\sqrt{稀釈倍数}$ で割つた値で現わすのが合理的であろう。この点では阻止円の大いさから連続的な数値がえられるデイスク法は明らかにすぐれていると考えられる。

稀釈法とデイスク法の比較

稀釈法は一般に従来のデイスク法にくらべ再現性がよいと云われている。これはデイスク法では稀釈法に影響するいろいろな実験条件の上にさらに薬剤の拡散と云う因子が加わり実験条件が複雑になるからと思われる。しかしこれらの条件もそれぞれ検討の上規定された方式にしたがつて実施し，さらに同一条件の稀釈法の測定値と並行して行なつてえられた成績にもとづいて，薬剤の拡散の差異を考慮し，たとえば薬剤毎の標準曲線を用いるなどの判定方法を採用し，またはデイスクよりの薬剤の拡散がある程度すすみ，培地内薬剤濃度分布の変動のやや少くなつてから，すなわち培養前放置を行なつてのち培養を開始させるなどの操作によつて，デイスク法に影響する因子をある程度コントロールできると考えられる。

一方稀釈法は再現性が良いと云つても前に述べたように 2 倍稀釈法でも測定値に幅があり，また 10 倍稀釈法では再現性は一層向上するであろうが，その測定値が 10，1，0.1 などでは測定精度は低いわけである。すなわち再現性のよいもの直ちに精度が良いとは云えないようである。デイスク法は操作が容易でしかも連続的な数値のえられる点は明らかに稀釈法に比しすぐれていると考えられる。

また現在稀釈法の基準として時に使用されている Kit もデイスクと同様に国家検定の標示のみられない場合が多いようである。さらに稀釈法を正確に行なうには秤量，稀釈などの操作が必要で，実験誤差の原因となる場合も無いとは云えない。したがつて稀釈法は常に再現性がよく同時に精度が高いとは必ずしも断定できないと存ぜられる。

このように両法は一長一短があるが，デイスク法の判定はくり返えし行なつた倍数稀釈法の成績の基礎の上に定められなければならないと考えられる。ただ 1 回行なつた稀釈法の測定値を絶対正確なものとして，その値と一致しないから，他の方法（デイスク法）が直ちに不正確であるとの断定は危険で，ことなつた測定方法を比較するにはさきに述べたように，実施条件，とくに単位面積宛の接種菌量，ならびに稀釈法の MIC の現わし方などを充分考慮する必要があろう。

MIC と臨床効果について

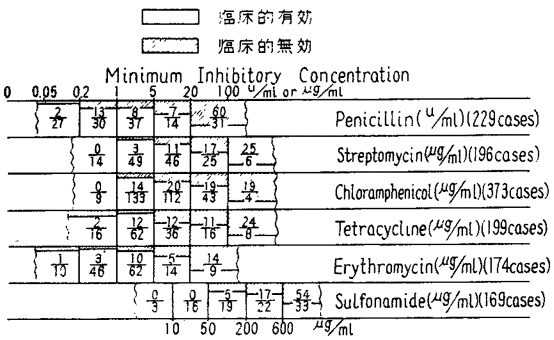
私は昨年の本学会の特別講演[1]の資料として，各地の臨床ならびに検査部門の方々の御協力をいただき，連続的数値のえられる一濃度標準曲線・デイスク法による MIC と臨床効果との関係について調査集計する機会にめぐまれた。御協力いただいた方々に厚く御礼申し上げる。

本調査では臨床的感性，耐性の限界を推定するのが目的であつたので，なるべく有効率の変化を観察し易いよ

第3表 感受性の程度およびそれに相当する最少発育阻止濃度の境界

感受性の程度およびその臨床的意義		サルファ剤 (mcg/ml)	ペニシリン (u/ml)	ストレプトマイシン (mcg/ml)	クロランフェニコール (mcg/ml)	テトラサイクリン (mcg/ml)	エリスロマイシン (mcg/ml)
極めて感受性	普通投与量でこの程度の血中濃度が保ち得られ治療効果を期待することができる	20	0.2	4	4	2	1
かなり感受性	大量又は高濃度投与法によりこの程度の血中濃度が得られ治療効果を得る可能性が多い	100	2	20	15	10	5
やや感受性	この程度の血中濃度は得がたいが尿路感染，創傷の局所使用等高濃度に薬剤を作用させ得る場合，治療効果が期待できる	500	20	100	60	60	30
耐性	治療効果を得難いことが多い						

第7図 最小阻止濃度(MIC)と臨床的有効性との関係



うに，一時的でも効果のみられたもの，外科的処置の補助療法として有効であつたと判定されたケースをも含めて有効として集計した。その概要はすでに報告してあるが，MIC と臨床効果の間には，第7図のように，ある程度連続性のある相関関係がみとめられ，感性，耐性を一線で分つことは不適当で，すでに行なわれているように 2, 3 の段階に分けて表現するのが適当であると思われた。

なお PC, S 剤では MIC が所謂耐性限界にあつても臨床的有効例が比較的多かつたことは前述のように今後検討を要する問題を含んでいると考えられる。

さらに有効率が増加または減少して，ほぼ一定になる境界点を，それぞれ高度感性ならびに耐性の境界濃度とし，一部には体液中，病巣内の薬剤活性濃度との関係をも参考に，使用例数の多い薬剤について試みにつぎのような MIC と臨床効果との関係を現わす表を何かの参考に調製してみた（第3表）。

感受性試成績の現わし方について

従来からデイスク法などの感受性測定の成績は＋，－などの記号で現わされているが，その感性度の表現に相当する MIC は必ずしも国際的に決定された絶対的のものではない。たとえ一度決定されたとしても薬剤の投与法，製剤の改良にしたがつて将来変更されるであろう。

臨床医家は検査室で測定された MIC にもとづいて，薬剤の投与法，投与量，その際の血中または病巣内濃度，薬剤の静菌，殺菌などの作用型式，PC-nase 産生度，pH の影響，原因菌の特性，疾病の特徴，過去の臨床効果についての成績などを参考にして使用薬剤または投与法の選択を行なうのが合理的であろう。したがつて臨床検査室の感受性測定の結果は他の成績と比較のできる共通な基準である MIC で現わすのを第1の目標とし，規準の必ずしも明らかでない，＋，－などの標示は参考に示すにとどめて，薬剤選択に直結する多くの因子の関係する臨床的感性値の判定はあくまでも実地臨床医家にまかせるべきであろう。

文　献

1) 金沢：Chemotherapy 9(1)：50, 1961