

## 化学療法に関連した細菌学的検査のあり方

(第 14 回日本化学療法学会特別講演)

小 酒 井 望

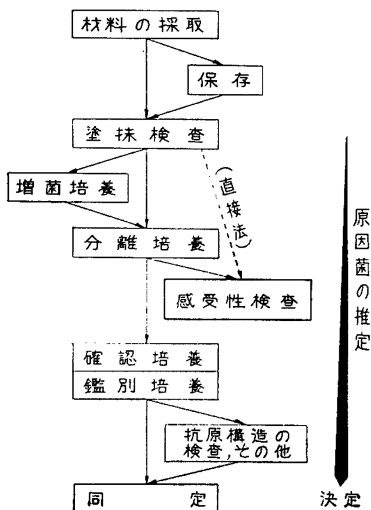
順天堂大学医学部臨床病理学教室

(昭和 41 年 7 月 19 日受付)

細菌感染症の化学療法のために必要な検査は、まず第 1 に出来るだけ早く原因菌を検出し、その原因菌に最も有効な化学療法剤を見つけ出すための感受性検査を行なうことに外ならない。最近治療法の進歩に従って、感染症が著るしく変貌したため、臨床症状から原因となる微生物の種類を推定することが非常に困難になった。そして感染症の原因となる病原微生物の種類も、いわゆる“病原菌”だけではなく、ヒトの皮膚、粘膜、あるいは生活環境に常在する、いわゆる“弱毒菌”、“非病原菌”である場合もまれではない。また混合感染も多く、従来混合感染がまれであると考えられていた敗血症、髄膜炎でも混合感染がまれではなくなった。このような感染症の変貌に対処して、しかるべき材料をとつたならば、それから検出され得る病原微生物が残らず検出されるような方法を構建しなければならない。しかも化学療法の普及によって、病原体検索の結果を待たないで、必要な検査材料をとつたならば、直ちに化学療法を開始する場合が少なくない。一度化学療法を開始すると、一般に病原体の検出が非常に困難になる。従って化学療法開始前に必要な材料はすべてとり、とつた材料から間違いなく病原微生物を検出しなければならない。

日常検査として行なわれている細菌検査の順序は、ふつう図 1 のごとくであるが、上に述べたような、いわば

図 1 細菌学的検査の進め方



万全の細菌検査を行なうためには、材料の採取から病原体検索、感受性検査までの道程を体系化すること、ことに検査材料別の病原体検索順序を体系化し、病原体検索順序の中へ感受性検査をうまくとり入れ、感受性検査成績ができるだけ早く得られるような方法を構建しなければならない。

最近臨床細菌検査の書物<sup>1,4)</sup>には、検査材料別に採り方、病原体検索順序が記載されており、かつての病原体別の検索方法を記載した書物とは、全く趣きをことにしている。かつて私が見学した米国の総合病院の臨床検査部では、それぞれに検査材料別の病原体検索順序が規定されていた<sup>5)</sup>。

化学療法の合理化のためには、材料採取、病原体検索、感受性検査の一連の過程を規準化し、また規格化して、検査施設における日常検査として実施することが必要である。そのための幾つかの問題点を、私はここでとり上げて検討することとした。

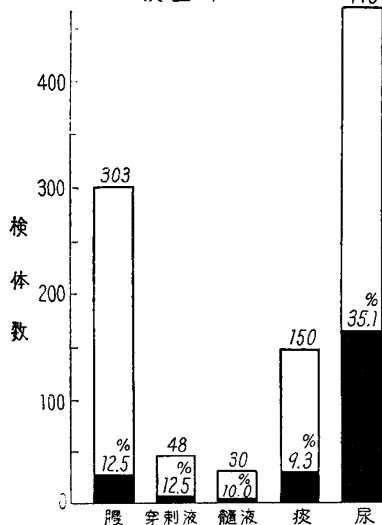
## I. 材料の採取について

## 1) 材料中への化学療法剤の混入について

材料の採取は化学療法開始前に行なうべきであり、もしすでに化学療法を開始している場合には、投与中止後少なくとも 24 時間をへてから材料を採取すべきは周知のはずであるが、実際にはこのような注意は必ずしも守られてはいない。

そこで私は最近数カ月間に私どもの検査室へ提出された膿、穿刺液、髄液、痰、尿について、化学療法剤含有の有無をしらべてみた。方法はブドウ球菌 209 P 株を被検菌とし、カップ法を用い、カップ内に検査材料の 2, 3 滴（痰はガラス製ホモジナイザーで均質化したものを用い、少量の膿の場合は滅菌ピジョンで希釈して用いた）を入れて培養し、カップの周囲に発育阻止円ができるか否かで判定した。もちろんこの方法では、化学療法剤の種類によつて感度が相異し、すべての化学療法剤を極めて微量まで検出できるわけではなく、また化学療法剤以外の物質によつて阻止円ができる可能性もある。しかし日常検査の材料中には、意外に「抑制物質」の含有率が高く、とくに尿で高率である（図 2）。

ところでかかる「抑制物質」が菌検索をどの程度妨害しているかを、極めて大まかではあるが、次のように検討した。すなわち塗抹所見（グラム染色標本による）と

図2 各種検査材料中の「抑制物質」  
検出率

培養所見の一致、不一致をみると、不一致率は痰を除いては5~10%である（痰は他の材料に比べて塗抹所見と培養所見の不一致率が高い。嫌気性培養を行なっていないこともその原因の1つと考えられる）。そして不一致例の中の20~30%は、明らかに「抑制物質」の存在のためと考えられる。残りの不一致例も、別な原因（技術的誤り、培地の不適など）によるものもあるだろうが、化学療法剤の影響がないとは言えないであろう。また「抑制物質」が検出されながら、培養所見に影響がなかったと考えられる例も少なくないが、材料中の菌が当該薬剤に耐性であれば、当然かかる結果になるわけで、かかる事実が確認された例もこの中に含まれている。なお「抑制物質」が含まれている尿で、直接法による感受性検査を行ない、「抑制物質」が感受性検査成績に影響を及ぼしたと考えられる例はなかった。

以上のような大まかな検査方法では、材料中の「抑制物質」の存在そのものが、培養検査に影響を及ぼしたと確認できた例は案外少なかった。といつても、これは化学療法を顧慮せず材料を採取してさしつかえないという意味では決してない。すでに多くの報告にあるように、ひとたび化学療法を開始すると、病巣中の菌数は激減し、菌の検出が著るしく困難になることは銘記されなければならない。

## 2) 2, 3 材料の採取法について

各種検査材料のうち、血液、髄液、穿刺液の採取に当つては、穿刺部位の皮膚又は粘膜の常在菌を除くために消毒を十分にし、雑菌の混入を避けるため「無菌的」に採取しなければならない。一方常在菌の混入の避けられ

ない材料、とくに尿（中でも女性の中間尿）、痰、十二指腸胆汁などの採取に当つては、常在菌の混入を如何に少なくしてとるかが重要な問題である。これらの材料に含まれる感染症の原因菌が、常在菌と全く別な菌種の場合（たとえば痰からの結核菌のような場合）には、常在菌か原因菌かの区別が容易であるが、原因菌が常在菌としても存在し得る菌種の場合には、常在菌の混入をできるだけ少なくして材料をとることが、菌検索を成功させるか否かの鍵ともなる。

材料の採取は担当医または看護婦によって行なわれるので、各検査施設では正しい材料の採り方を、印刷物などによって徹底させておかなければならない。なお採つた材料は、直ちに検査室へ届けられるのが原則であるが、直ちに届けられない場合もあるから、正しい保存法も同じように徹底しておかなければならない。

## (1) 血液の場合

血液培養の採血は、従来、(a) 採取した血液を抗凝固剤入り滅菌試験管に入れ、凝固を防いで検査室へ届け、検査室で培地に混ざる方法と、(b) 病床へ培地を持参し、採つた血液をすぐ培地へ混ざる方法が広く行なわれているが、昨年半頃から培養瓶「カルチャーボトル<sup>®</sup>」が附属の採血セットとともに市販され始めてから、これが血液培養に広く用いられる傾向にある。簡単にどこでも採血ができることが、この培養瓶の特徴で、米国ではかかる培養瓶が早くから使用されている。

私が本年2月43の大学病院と各地の指導的総合病院30の中央検査部に依頼して調査した、採血方法と培養瓶の使用状況は表1のごとくである。

## (2) 痰の場合

結核以外の呼吸器感染症の場合の痰の検査に当つては、痰の採取と検査の前処置に、種々の工夫が必要であ

表1 血液培養の採血方法

採 血 方 法	大学病院	その他	計
抗凝固剤を用いて採血	15	10	25
病床で採血、直ちに培地に混入	27	20	47
計	42	30	72

### 抗凝固剤の種類

ヘパリン	4
クエン酸ナトリウム	22
二重シュウ酸	1
EDTA	1

### カルチャーボトルの使用状態

主として使用	23
他培地と併用	27
夜間のみ使用	3
計	53

表 2 痰のとり方と検査の前処置

とり方の指示と前処置実施の有無	大学病院	その他	計
調 査 数	43	30	73
口腔内洗浄（うがい）を指示している	9	7	16 (21.9%)
痰を生食水で洗浄している	4	5	9 (12.3%)
痰の均質化を実施している（いずれも機械的）	5	6	11 (15.1%)

注 痰の均質化の方法として Trypsin などタンパク分解酵素を用いる方法があるが、実施しているところはなかった。

ると言われている。即ち、(a) 口腔、咽頭の常在菌の混入をできるだけ少なくするため、よくうがいをさせてから痰を喀出させること、(b) 採った痰からこれら常在菌をできるだけ除くため、滅菌食塩水などで洗浄すること、(c) 痰は部位によつて菌叢が相異なるため、痰を均質化することなどである。

このような操作が日常検査としてどの程度行なわれているかを、上記 73 病院について調査したところ、案外低率であつた（表 2）。かかる操作は多少の煩雑さはあるとしても、日常検査として広く行なわれるべきである。

### (3) 材料の保存について

採取した材料の保存が行なわれるのは、採つてから検査室へ届けるまでと、検査室へ届けられてから検査にとりかかるまでの間である。とつた材料はすぐ検査するのが原則ではあるけれども、日常検査としてはこれは必ずしも実行できない。ことに検査室では一定時間材料を保存しなければならないことが多い。

保存方法がわるくて折角の材料が無駄になることがま

表 3 痰の保存による菌叢の変化

菌 種	保存条件 フ 卵 器 (1 夜)	冷 蔵 庫 (24~72 時間)	凍 結 (24~72 時間)
肺 炎 球 菌	著 減	○	○
ヘモフィールス	○ (時に減少)	○ (48時間以後減少するものあり)	○ (時に減少)
溶 連 菌	○	○	○
黄色ブドウ球菌	増 殖	○	○
コリネバクテリウム	○ (増殖するものあり)	○	○
大 腸 菌 その他腸内細菌	増 殖	○	○
<i>Alcaligenes</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Achromobacter</i>	増 殖	○	○
緑 膿 菌	増 殖	○	○ (時に減少)
<i>Candida</i>	○	○	○
供 試 材 料 数	32	107	10

○ 著明な増減がみられないもの（小酒井, 1962）

れではない。1 例として痰の保存実験の成績を表 3 に示す。結核菌検査の痰は、半日ないし 1 日室温に放置しておいても、十分検査に供し得るという安易感が、結核菌以外の菌検索に用いる痰の取扱いを粗雑にしている傾向がある。十分注意すべきことである。

髄膜炎菌、リン菌を含む可能性のある材料は、保存しないですぐ検査しなければならない。その他の材料は

表 4 順天堂医院中検における日常検査

検査材料	塗 抹 検 査	必 ず 使 用 す る 培 地		必要により 使用する培地
		培地数	培 地 の 種 類	
血 液		1	カルチャーボトル (2 号)	
髄 液	グ ラ ム 染 色	4	血液寒天 (ローソク法), BTB チョコレート寒天 (ローソク法), チオグリコレート	
膿・分泌液 穿刺液	グ ラ ム 染 色	5	血液寒天, PEA 血液寒天, BTB 血液加 Liver Veal 寒天 (黄燐法), チオグリコレート	G C 培地
尿	新鮮, グラム染色	3	血液寒天, BTB 定量培養 (ハートインヒュージョン混釈)	PEA 血液寒天
痰	グ ラ ム 染 色	3	血液寒天, チョコレート寒天, BTB	サブロー寒天
咽頭粘液	グ ラ ム 染 色	4	血液寒天, チョコレート寒天, BTB テルル酸塩加血液寒天	
胆 汁	新鮮, グラム染色	5	血液寒天, BTB, デスオキシコレイト (定量) そのまま増菌後 BTB, SS へ	
大 便		3	BTB, SS, TCBS	セレナイト増菌 後 SS, BTB へ

10℃ 以下の冷蔵庫に保存する。そして保存時間はできるだけ短縮するように工夫しなければならない。

なお検査に供した材料の残りは、検査成績が出るまで保存する（冷蔵庫に）ことが必要である。細菌検査のみならず他の臨床検査の場合でも、成績がでるまで検体を残しておくのは、検査にたずさわるものの心得である。

## II. 材料別検査順序について

すでに述べたように、臨床症状からの病原体の推定が困難となつた今日、1つの検査材料から検出される可能性のあるすべての病原体が検出されるように、材料別検査順序が体系化されることが必要である。そこでここでは日常検査としての材料別検査順序の体系化を考えてみる。

検査順序は図1に示したように、塗抹検査、分離培養（あるいは増菌培養をへて分離培養）、同定検査と進むことになる。私どもの検査室で行なっている材料別の塗抹検査、培養検査の方法は表4のごとくである。

1つの材料の検査に費やすべき労力には限度がある。培地その他資材にも制約がある。日常検査としてどこまで労力を費やすことが可能であるか、また最低どこまで費やすべきかを、私どもの経験を中心として、それによつて73病院について調査した結果を加えて考えてみよう。

図3 材料中菌数と塗抹検査、培養検査の検出能力

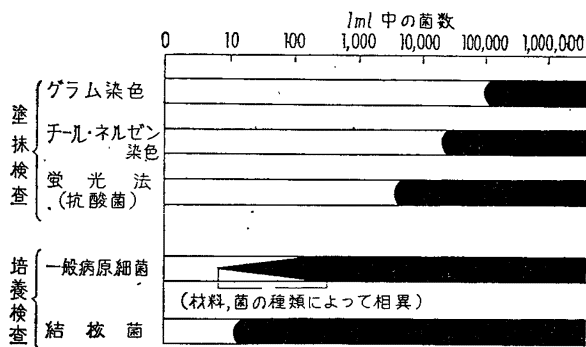


表5 培養検査の前に必ず実施される塗抹検査の種類と実施率(%)

材 料	新鮮 標本	グラム 染色	単染色	抗酸菌 染色	墨汁法	ナイセル 染色	ギムザ 染色	ヒス 染色
髄 液	9.6	84.7	15.1	4.1	5.5		4.1	
膿 分 泌 液	9.6	87.7	2.8	1.4			1.4	
尿	19.2	75.3	8.2	4.1				
痰	20.5	76.7	5.5	13.7				1.4
咽 頭 粘 液	2.8	71.2	2.8			16.4		
胆 汁	12.3	63.0	4.1					
大 便	6.8							

(73 病院についての調査)

## 1) 塗抹検査の重要性

塗抹検査にしる培養検査にしる、材料中の菌数が一定数以上でない「陽性」とはならない(図3)。とくにグラム染色標本では、材料中におよそ  $10^5$  以上の菌数がないと陽性とならないから、塗抹検査の検出能力はかなりわるい。しかも塗抹検査で菌種を推定できる場合はわずかである。

しかし塗抹検査、とくにグラム染色標本による検査は、培養検査の前段階として不可欠である。それは(1)塗抹所見と培養所見を対比することにより、培養検査が正しく進められているかをチェックすることができ、また、(2)塗抹所見で特殊な菌の存在が予想されるときには、必要な分離培地を追加できるからである。たとえば膿、尿でグラム陽性球菌と陰性桿菌が混在しており、陰性桿菌の方が多数あるときには、血液寒天、BTB 培地などでは、グラム陽性球菌の集落をうまく分離することができない。このような場合にはグラム陰性桿菌の発育を阻止する Phenylethylalcohol 加血液寒天などを使用しなければならない。

血液、大便を除く他の材料では、グラム染色標本による塗抹検査は不可欠であり、尿、胆汁などでは新鮮標本による検査も、できれば日常検査として行なうべきであろう。

上記大病院について、培養検査前必ず実施している塗抹検査の種類を調査した結果は、表5のごとくである。塗抹検査、とくにグラム染色標本による検査が不可欠と考えられる膿、分泌液の検査で、これが実施されていないところが少数あるのは遺憾である。

## 2) 材料別に必ず使用すべき分離、増菌培地

最近の乾燥培地の進歩は著しく、分離培地、増菌培地の種類は非常に多い。とくに分離培地では、特定の菌種だけを選択するものから、いくつかの菌群を選択するものまで、いろいろの選択培地が作られている。従つて材料中からもちろん菌を検出するた

めには、これらの選択培地や非選択培地をうまく組み合わせて使用することが必要である。臨床細菌検査の最近の傾向としては、1つの検査材料に使用される分離培地、増菌培地の数はむしろ増加している。

ところで上記大病院について、各材料別に必ず使用される培地の種類数をしらべたのが表6で、どのような培地が使用されているかをしらべたのが表7である。材料別にどんな培地の組合

表 6 必ず使用する培地の種類数

材 料	培 地 の 種 類 数				
	1	2	3	4	5
血 液	9	31	29	2	
髄 液	9	21	21	15	5
膿 分 泌 液	10	17	19	18	7
尿	12	29	21	8	1
痰	17	22	19	9	4
咽 頭 粘 液	20	26	15	7	3
胆 汁	10	33	17	8	3
大 便	3	45	15	8	

(71 病院についての調査)

せが用いられるかも調査したが、病院によつて千変万化といつても過言ではない状態であつた。

あとで詳しく述べるが、膿、分泌液からの嫌気性菌の検出率はかなり高いから、これらの材料の場合には、嫌気性培養を日常検査として行なうことが必要である。ただしこの嫌気性培養は、チオグリコレート培地だけを用いて能事終れりとするのでは不十分で、平板培地を用いる嫌気性培養を最初から行なうべきである。ところが上記大病院のうち、膿、分泌液について、平板培地による嫌気性培養を日常検査として行なっているのはわずかに21%にすぎなかつた。

表 8 ブドウ球菌の鑑別、同定法

検 査 法	大学病院	そ の 他	計
コ ア グ ラ ー ゼ	13	13	26 (35.6%)
コ ア グ ラ ー ゼ マ ン ニ ュ ッ ト 分 解	19	12	31 (42.5%)
コ ア グ ラ ー ゼ マ ン ニ ュ ッ ト 分 解 ゼ ラ チ ン 液 化	8	4	12 (16.4%)

(73 病院についての調査)

尿の場合、最近では定量培養（ないし半定量培養）を行なうのが常識となつており、大部分（75%）の病院では、日常検査として実施されている。

痰の検査に当つては、最近 *Haemophilus* の検索が重視されている。事実慢性気管支炎、気管支拡張症患者の痰からは、高率に本菌が検出される。私どもの経験では、本菌の検索には血液寒天だけでは不十分で、チョコレート寒天培地（あるいは LEVINTHAL 培地など）が不可欠であると考えられるが、チョコレート寒天の使用率は表8のごとく案外低い。

なお *Haemophilus*、肺炎球菌、溶血レンサ球菌は、ローソク法で培養した方が発育がよいので、痰、咽頭粘液の分離培養に用いる血液寒天、チョコレート寒天は、ローソク法で培養するように記載している書物もある。しかしこの方法を日常検査として行なっている病院は殆ん

表 7 材料別使用培地の種類と使用率

検 査 材 料	血 液	チ ョ コ レ ー ト 寒 天	G C 培 地	ハ イ ト イ ン フ ユ ー ジ ョ ン 天	普 通 寒 天 な ど	B D T C 、 D H L な ど キ ー	P E A 血 液 寒 天	S S 培 地	ジ フ テ リ ア 菌 分 離 培 地	ア ド ウ 球 菌 培 地	真 菌 分 離 培 地	ブ レ イ ン 、 普 通 ブ イ ヨ ン フ ユ ー イ	チ オ グ リ コ レ ー ト 培 地	ツ ア イ ス ラ ー 平 板 ど
髄 液	88.7	33.8	8.4	7.0	14.1					1.4	2.8	47.9	66.2	5.6
膿 分 泌 液	100.0	2.8		9.9	54.9	1.4				21.1	2.8	26.8	50.7	21.1
尿	76.1			18.3	76.1	7.0				11.3	2.8	19.7	22.5	2.8
痰	100.0	23.9		7.0	56.4					12.7	12.7	8.5	14.1	9.9
咽 頭 粘 液	98.6	15.5		4.2	43.7				9.9	15.5	8.4	7.0	14.1	4.2
胆 汁	85.9			9.9	80.3	1.4	9.9			9.9	2.8	16.9	21.1	2.8

大 便 の 場 合

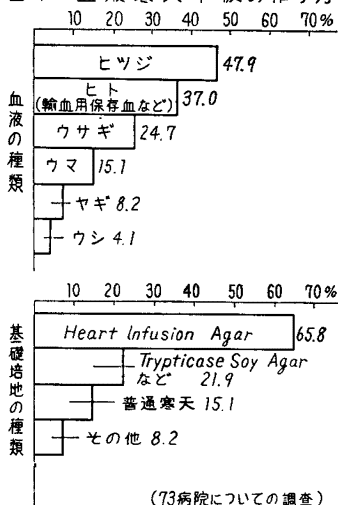
SS	93.0%
DCLS	1.4
BTB	62.0
MACCONKEY	28.2
DHL, DC	5.6
EMB, 遠藤	4.2

腸炎ビブリオ分離培地 (TCBS, WA など)

	14.1%
血液寒天、普通寒天	8.4
ブドウ球菌培地	5.6
セレナイト培地	5.6
チオグリコレートなど	4.2

(71 病院についての調査)

図4 血液寒天平板の作り方



(73病院についての調査)

どない。試みるべき方法であろうと考える。

さて血液寒天平板は、大便を除く殆どどの材料の分離培養に用いられるが、これの作製に用いられる血液と基礎培地の種類をしらべた結果は図4のごとくである。基礎培地にはハートインフュージョン培地が最も多く用いられているが、この培地のように良質の培地を基礎培地として用いるべきことは申すまでもないことである。なお血液寒天平板に発育する集落の性状は、血液の種類、基礎培地の種類によつてかなり相異なる場合が多いから、時々変更するようなことはしないで、なるべく同じものを使用すべきである。

### 3) 主要病原細菌の鑑別同定法

化学療法剤の選定という目的だけから言えば、原因菌(あるいはその疑いの濃い菌)を検出し、その感受性検査成績が出れば、その菌の鑑別、同定は必ずしも必要ではない。従つて人手の少ない小さな検査施設では、菌の鑑別、同定は省略しても、原因菌の検索とその感受性検査は実施しなければならない。

従来菌の鑑別、同定には、いろんな培地もあり、手数もかかったのであるが、最近では種々の簡単な同定法が開発されてきた。例えばA群溶レン菌のスクリーニング検査である Bacitracin 試験、肺炎球菌の鑑別の Optochin 試験、あるいは腸球菌の鑑別の SF Broth における発育などである。今後さらに同定法の簡易化が進められるであろうが、そうなると小さな検査施設に於ても、種類の病原菌をかなりくわしく同定することができるであろう。

73 病院について、ブドウ球菌、溶レン菌、肺炎球菌、腸球菌、ジフテリア菌の鑑別、同定法を調査した結果

表9 溶血レンサ球菌の鑑別、同定法

検査法	大学病院	その他	計
Bacitracin 試験	30	22	52 (71.2%)
溶血性 (含小林分類)	10	7	17 (23.3%)

(73 病院についての調査)

表10 肺炎球菌の鑑別、同定法

検査法	大学病院	その他	計
胆汁溶解試験	14	11	25 (32.4%)
Optochin 試験	4	3	7 (9.6%)
胆汁溶解試験と Optochin 試験 (および他試験)	14	12	26 (35.6%)
Optochin 試験とマウス接種	2	1	3 (4.1%)
胆汁溶解試験、イヌリン分解、マウス接種	1	1	2 (2.7%)
マウス接種	1	1	2 (2.7%)

(73 病院についての調査)

表11 腸球菌とレンサ球菌の鑑別法

検査法	大学病院	その他	計
SF ブイヨン	21	12	33 (45.2%)
6.5% NaCl ブイヨン	1	2	3 (4.1%)
SF 6.5% NaCl ブイヨン	3	11	14 (19.2%)
SF ブイヨンと他の併用	4	1	5 (6.8%)

(73 病院についての調査)

表12 ジフテリア菌と他コリネバクテリウム菌の鑑別法

検査法	大学病院	その他	計
異染小体染色と培地上の所見	18	11	29 (39.7%)
異染小体染色と糖分解 (DSS 培地など)	18	16	34 (46.5%)
毒素中和反応 (Elek 法など)	4	0	4 (5.5%)

(73 病院についての調査)

は、表8~12のごとくである。

赤痢菌では血清学的に型、亜型までの決定が、85%の病院で行なわれており、残る病院でもA、B、C、D群の群別までは必ず実施されている。赤痢菌のみならず一般に腸内細菌科の鑑別、同定は、必要な培地類がすべて

表 13 必ず行なうべき塗抹検査と使用すべき分離培地（含増菌培地）一覧

材 料	塗 抹 検 査	必ず使用すべき培地	な る べ く 使用すべき培地	で き れ ば 使用すべき培地	備 考
血 液		チオグリコレート		混積平板作製	
髄 液	グラム染色 (沈渣)	血液寒天* チオグリコレート	チヨコレート寒天* BTB 培地		* ローンク法で培養
膿・分泌液	グラム染色	血液寒天, BTB 培地, チオグリコレート, 血液加 Liver Veal 寒天	PEA 血液寒天		
尿	グラム染色 (沈渣)	血液寒天, BTB 培地* (半定量培養)		PEA 血液寒天 (グラム陽性菌, 陰性菌の混在の場合)	* PEA 血液寒天と MAC CONKEY 培地の組合せでもよい
痰	グラム染色	血液寒天, BTB 培地, チヨコレート寒天*			* なるべくローンク法で培養
咽頭粘液	グラム染色	血液寒天*	ジフテリア菌分離培地, チヨコレート寒天*		* なるべくローンク法で培養
胆 汁	グラム染色	BTB 培地	血液寒天		
大 便		SS 培地 BTB 培地	腸炎ビブリオ分離培地		

- 注 1. 特殊な病原菌の存在の予想される場合の分離培地は上記から除いてある。例えば結核菌, リン菌, 真菌などの存在が予想されるときは, それらの分離培地を上表のほかにつけ加えることが必要である。
2. 血液寒天, チヨコレート寒天の基礎培地には, Heart Infusion 寒天, Trypticase Soy 寒天などの良質の培地を使用すべきである。
3. BTB 培地の代りに Desoxycholate 培地, MAC CONKEY 培地などを用いてもよい。

表 14 主要病原細菌の鑑別同定法

菌 種	必ず行なうべきもの	なるべく行なうべきもの	できれば行なうべきもの
ブドウ球菌	コアグラゼ試験	マンニット分解	
溶連菌	バントラシン試験		血清学的に A 群の群別
肺炎球菌 ( <i>a</i> -レンサ球菌との区別)	オプトヒン試験	胆汁溶解試験	
腸球菌 (レンサ球菌との区別)	S F ブイヨン発育	6.5% NaCl ブイヨン発育	
ジフテリア菌	糖分解 (DSS 培地など)		Elek 法による毒素中和試験
赤痢菌	A, B, C, D 群を区別	型, 亜型を区別	
サルモネラ	チフス菌, パラチフス A 菌の同定	(予研その他へ同定を依頼)	
病原大腸菌		市販血清によるスライド凝集反応	
その他腸内細菌と類似菌	菌群, 菌種の同定		
酵母様真菌	末端巨大胞子形成による <i>C. albicans</i> の鑑別		

乾燥地として市販されていることも手伝ってか、殆どの病院でかなりくわしく行なわれている。

#### 4) 材料別菌検索方法の基準化について

私どもの経験を主とし、73 病院についての調査結果を参考にして、材料別菌検索方法の基準案を作ると表 13, 14 のごとくである。表 13 では材料別に必ず実施すべき塗抹検査, 使用すべき分離培地, 増菌培地を示した。もちろん特殊な菌を検索する場合には、それに要する培地をこれと併用しなければならない。表 14 では主な病原細菌のなるべく簡単な鑑別, 同定の進め方を示した。

#### 5) 嫌気性菌検索の重要性

臨床材料からの嫌気性菌の検出状態については、すでに幾つかの報告がある<sup>7-9)</sup>。常在菌を含有する材料は別にして、血液、髄液、膿、分泌液、穿刺液からの嫌気性菌の検出率はかなり高く、これらの数字は嫌気性菌検索の必要性を物語るものと言えよう。しかもこれら臨床材料から検出される嫌気性菌には、*Clostridium* 属は少なく、大部分はグラム陽性球菌 (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*) とグラム陰性桿菌 (*Bacteroides* など) で、かつ嫌気性菌のみが純培養に検出される場合よりは、好気性菌と混在する場合が多い。それだけに菌検索は面倒であるともいえる。

ところで臨床材料から検出される嫌気性菌は、大部分が常用抗生物質に感受性であるから、従って菌検索に当り嫌気性菌を見逃しても、化学療法の実際にはさしつかえないという考え方もあろうが、最近では僅かながら耐性菌も認められ、今後耐性菌の増加の可能性もある。それ故上記材料については、嫌気性菌の検索, 感受性検査も日常検査として実施することが必要である。

私どもの検査室における過去 4 年半における、膿、分泌液、穿刺液からの嫌気性菌の検出状態を表 15, 16 に示した。なお表 16 には日大駿河台病院中検、岐阜大微

表 16 わが国における臨床材料からの嫌気性菌分離状態

施設名	順中	大検	日大駿河台 中検	岐阜大 微生物	大 阪大
総検体数	4,073		407		416
検体の種類	膿・分泌液 穿刺液		膿		血液、胸水 髄液、膿な ど
嫌気性菌分離株数	591		20		69
菌種	グラム陽性球菌	36.9	45		23
	グラム陰性球菌	4.1	0		0
	<i>Clostridium</i>	4.6	10		4
(%)	グラム陽性桿菌	14.2	30		42
	グラム陰性桿菌	40.3	15		31

\* 土屋俊夫教授による。

\*\* 鈴木祥一郎博士による。

生物学教室から借用した成績を併記した。

ところで常在菌を含む材料、痰、咽頭粘液、尿、胆汁などからの嫌気性培養が、上述のように一部の病院で行なわれているが、ふつう常在菌としては好気性菌よりも嫌気性菌が多いので、一般に検出された菌が常在菌か原因菌かの区別がむづかしい。したがってこれらの材料について嫌気性培養を日常検査として行なうことは、労多くして功少ないというべきであろう。

### III. 原因菌の決定について

原因菌の検出率を高め、原因菌の決定を容易にするためには、化学療法開始前に 2 度以上検査をくり返すことが必要である。ことに常在菌の混在する材料については、2 度以上検査をくり返さなければ、原因菌の決定が困難な場合が少なくない。

例えば尿の培養検査で、中間尿を供試する場合には、必ず 2 度以上採尿し検査すべきである。1 回だけでは採尿時多数の雑菌が混入したかも知れないし、又採取後検査までの保存が不適当なため尿中で菌が増殖してしまうおそれもある。それ故 2 回検査をくり返し、同じ菌がともに  $10^5/\text{ml}$  以上存在すれば、その菌が尿路感染症の原因菌と決定できるわけである。

胆道感染の場合、十二指腸胆汁を検査して原因菌を求め、その感受性検査を行なつて化学療法を選定するのが慣わしであるが、果して十二指腸胆汁の検査で確実に原因菌をつかみ得るであろうか。

嘗てて教室の陳<sup>10)</sup>は、手術患者の手術直前の十二指腸胆汁を採取し、また手術時胆のう胆汁をとり、両者を比較した (表 17)。その結果によると、十

表 15 膿・分泌液・穿刺液からの嫌気性菌の検出状態 (順大中検)

期 間	検体数	培養陽性 件数	嫌気性菌 検出件数	嫌気性菌 陽性率 (%) (培養陽 性件数に 対し)	嫌気性菌 を純培養 に検出し た件数	分離した 嫌気性菌 の株数
1961.7~1962.12 (1.5 年)	901	627	59	9.4	22	86
1963.1~1964.12 (2 年)	1,774	1,147	179	15.6	45	243
1965.1~1965.12 (1 年)	1,348	919	154	16.8	47	262
計 (4.5 年)	4,023	2,693	392	14.6	114	591



二指腸胆汁の検査によつて、胆道感染の原因菌をつかみ得ない場合が少なくも30%はあることが明らかである。それではどうすれば十二指腸胆汁の検査によつて、胆道感染の原因菌を知り得るであろうか。残念ながらその答はまだ出ていない。

次に参考までに、大病院の検査部で十二指腸胆汁の検査から胆道感染の原因菌をどう決定しているか、また検出されたどの菌について感受性検査を実施しているか、という問いに対し、寄せられた回答を掲げておく(表18, 19)。この表からも明かなように、この問題に対

表 17 十二指腸胆汁と胆のう胆汁の比較

	例数	胆のう胆汁中の菌の種類				
		0	1	2	3	>4
全く一致	10		8	1	1	
ほぼ、かなり一致	13		4	6	1	2
全く相違	9	6	3			
計	32	6	15	7	2	2

(陳, 1963)

表 18 十二指腸胆汁から検出された菌が原因菌かどうかの判定方法(専任または兼任医師のいる34 大学病院について)

(a) A, B, C 胆汁からの菌の発育状態を比較判定 (内1はBに多くに多いこと、胃分泌機能をしらべること、前回の成績と比較することにより決定)	3
(b) A, B, C 胆汁の菌数計算実施, $10^5/\text{ml}$ 以上を原因菌とする	1
(c) 菌数計算を行ない $10^9/\text{ml}$ 以上であること, および菌種を重視する	1
(d) くり返し同一菌が多数検出されること	1
(e) 口腔内常在菌以外は原因菌とする	2
(f) 腸内細菌やブドウ球菌が多数検出されれば原因菌と判定	1
(g) 多数検出されたものを原因菌と判定	1
(h) 少数の場合は「陰性」とする	1
(i) そのまま報告, 判定は担当医にまかせる	12
(j) 返事なし	11

表 19 胆汁から検出されたどの菌の感受性検査を実施するか(72 病院よりの回答の集計)

すべての菌について	14.1%
腸内細菌, その他グラム陰性桿菌, 腸球菌, ブドウ球菌などについて	29.6
多数発育した菌について, 純培養に発育した菌について	15.5
グラム陰性桿菌について	2.8
検出菌について担当医の要求があれば	7.0
その他	2.8
不明(返事なし)	28.2

する考え方が、病院病院で非常に相異している。

また痰の検査によつて呼吸器感染の原因菌を検索し、決定する場合にもいろいろ問題があるが詳細は省略する。

#### IV. 直接感受性測定

直接法による感受性検査は、間接法よりも早く結果が得られるというのが最大の利点で、結核菌の場合には広く日常検査として行なわれている。また一部ではあるが、赤痢菌の場合に化学療法剤を一定濃度に含有させた分離用平板とふつうの分離用平板の両方に大便を塗り、赤痢菌の分離と同時にその化学療法剤感受性を知ろうとする方法が行なわれている<sup>11)</sup>。

また感受性ディスクを用いた直接法も広く行なわれている。すなわち菌を多く含む材料(ふつう塗抹陽性のもの)の場合には、それを平板培地の上に塗り拡げ、その上に感受性ディスクを置いて培養すると、ふつう翌日結果がわかる。従つて一度分離培養した菌について行なう間接法にくらべて、少なくとも1日以上早く結果が得られる。しかし直接法はどの材料についても行なえるわけではなく、またいつも成功するとは限らない。

##### 1) 感受性ディスクによる直接法の実施状況

病院要覧(1964 年版)<sup>12)</sup>に掲載された病院(病床数20以上)について、感受性ディスクの使用状況、感受性ディスクによる直接法の実施状況、感受性検査における菌の種類による薬剤の組合せ、などについて調査した。約3,000 病院より得た回答をまとめた概要を次に説明する。

一般病院(精神, 結核, らい, 伝染病の特殊病院を除いたものを一般病院と総称する)における直接法の実施状況は、図5に示すごとくで、病床数の少ないところほど直接法が日常検査として実施されていることがわか

図5 感受性ディスクによる直接法の実施状況(一般病院について)

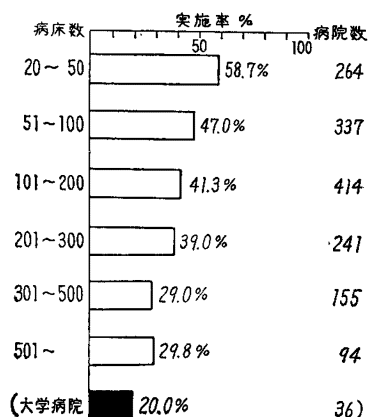


図6 検査材料別直接法  
(感受性デイスクによる)  
の実施状態

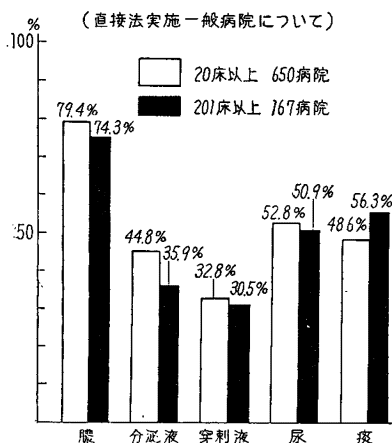


表 20 感受性検査直接法の成功率

グラム染色における菌の種類数	膿		尿	
	検体数	成功率 (%)	検体数	成功率 (%)
1	120	45.0	55	76.3
2	54	14.8	12	33.3
3	20	5.0		
計	194	32.5	67	68.7

る。

次にどの材料について直接法が行なわれているかを、一般病院全部と 201 床以上の一般病院について調査した結果は図 6 のごとくである。膿が最も多く、尿、痰がこれについている。ここで意外に思われるのは、痰についての直接法がかなり広く実施されていることである。膿、分泌液、穿刺液、尿などところが、常在菌が多数混入している痰についての直接法が、如何なる臨床的意義を持つかはよくわかっていない<sup>13)</sup>。

## 2) 直接法の成功率

私どもの検査室へ提出された材料のうち、塗抹陽性の膿、分泌液 194 検体、尿 67 検体について、直接法と間接法を比較した。3 濃度デイスクを用い、直接法には血液寒天平板 (5% に羊脱線維素血液を加えたもの) を用い、18~24 時間好氣的に培養した。間接法には菌種により血液寒天平板または Heart Infusion 寒天平板を用いた。そして直接法と間接法の結果がほぼ一致し、菌が 2 種以上ある場合は共通して有効な薬剤 (Ⅱ, Ⅲ) が 2 以上ある場合を直接法成功とした。その結果は表 20 のごとくで、塗抹所見で菌が 2 種類以上見える場合は成功率が非常に低い。また膿、分泌液の場合には塗抹所見で

図7 直接法成功例の内訳

1. 膿、分泌液の場合 (194 例中)

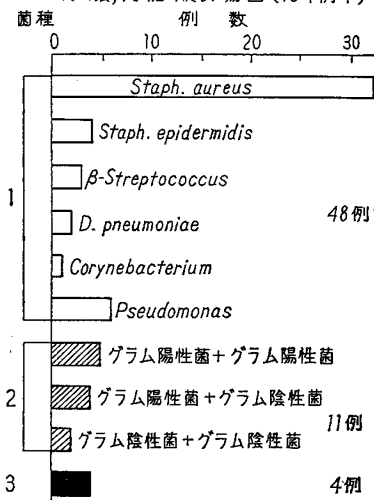
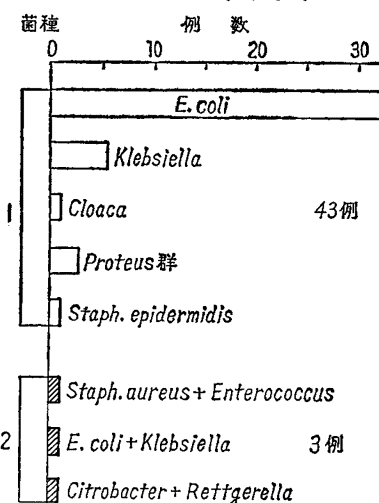


図8 直接法成功例の内訳

2. 尿の場合 (67 例中)



菌が 1 種類でも成功率は 50% 以下である。なお膿、分泌液の場合には、材料中に嫌気性菌が含まれていたため直接法が失敗した例もかなりある。

直接法が成功した例では、材料中に如何なる菌が含まれていたかをしらべた結果は図 7, 8 のごとくで、膿、分泌液では *Staph. aureus*、尿では *E. coli* が非常に多い。

ところで菌が 1 種類の場合、直接法と間接法の成績がくいちがった例がある (表 21)。

さて直接法が、塗抹陽性の材料について行なえばいつも成功するのであれば、早く結果が得られるという理由だけから、直接法は日常検査としてもつと広く行なわれるべきである。しかし直接法の成功率は上述のように必

ずしも高くない。従つて不成功の場合には間接法でやりなおさなければならない。感受性検査を多く実施する大きな病院では、直接法が日常検査としてあまり実施されていない原因も成功率が低く、不成功例は間接法でやり直すとなるとそれだけ手数がかかるというところにあると考えられる。

表 21 直接法と間接法の成績のくいちがい  
(菌が1種類で、2段階以上の差のある場合)

直接法がより感受性に出た場合		
PC-G について	7 例(膿)	<i>Staph. aureus</i> 6 <i>Staph. epidermidis</i> 1
直接法がより耐性に出た場合		
PC-G について	2 例(膿)	<i>Staph. aureus</i>
OLM, LM, KM について	1 例(膿)	
TC について	1 例(膿)	
KM について	1 例(尿)	<i>Klebsiella</i>
CL について	1 例(尿)	
原因はいづれも集落間の感受性の差		
OLM について	1 例(膿)	<i>Corynebacterium</i>
原因不明		
(膿 48 例, 尿 43 例についての成績)		

表 22 病院の種類別, 病床別感受性検査(ディスクによる)実施状況

区 分		病 床 数						計
		20～50	51～100	101～200	201～300	301～500	501～	
一般病院	病 院 数	823	519	472	256	163	95	2,328
	実施率(%)	33.5	67.8	91.7	97.7	98.2	100	67.3
結核病院	病 院 数	37	40	104	72	41	43	337
	実施率(%)	21.6	52.5	83.7	97.2	100	100	80.1
精神病院	病 院 数	9	49	57	27	14	10	166
	実施率(%)	0	2.0	10.5	33.3	14.3	50.0	13.8
3濃度ディスク(栄研)		899(47.0%)						
1濃度ディスク(昭和)		774(40.5%)						
両者併用		237(12.4%)						
その他(輸入品)		2( 0.1%)						
計		1,912( 100%)						
(但し試供品として使用される新しい抗生物質についての輸入品のディスクは本表から除外してある。)								

表 23 病院の種類別, 病床別の「薬剤の組合せ」実施率

区 分		病 床 数						計
		20~50	51~100	101~200	201~300	301~500	501~	
一般病院	病院数	255	336	410	235	154	85	1,474
	実施率(%)	18.4	24.7	31.0	37.9	41.6	67.1	31.6
結核病院	病院数	8	20	87	70	39	42	266
	実施率(%)	14.3	20.0	14.9	18.6	20.5	33.3	19.9

#### 〔附〕 感受性ディスクの使用状況

昭和 41 年 2 月に調査した病床別の感受性ディスク使用状況は表 22 のごとくで、わが国では国産 3 濃度ディスクと 1 濃度ディスクが専ら使用され、両者はほぼ同程度に使用されている。

最近常用化学療法剤の種類がふえ、ディスクによる感受性検査はいわばスクリーニング検査の色彩が濃くなつて来たので、検査室では菌の種類により、感受性検査を行なう薬剤の組合せをきめているところが多くなりつつある。表 23 に見られるように、大きな病院になるほどかかる傾向が強い。

ところで薬剤の組合せ「献立」を作っている検査室の中には、どの菌にも同じ組合せを使っているところ(この多くはディスクのセット全部を使用している)もあるが、多くはグラム陽性菌、陰性菌で区別している。私どもの検査室では、臨床側の要望を参考にして、今年 4 月以降次のような組合せを用いている。

グラム陽性球菌	PC-G, AB-PC, SM, KM, CP, TC, EM, OLM, LM, CER
グラム陽性桿菌	
グラム陰性球菌	

グラム陰性桿菌 AB-PC, SM, KM, CP, TC, EM, CER, CL, NA

米国の病院では、菌の種類別に、かつ尿から検出された場合とそれ以外から検出された場合とで、薬剤の組合せを変えているところがある<sup>2)</sup>。臨床家の化学療法に関する知識が向上すれば、当然このような細かい配慮が、薬剤の組合せの上に必要となるであろう。

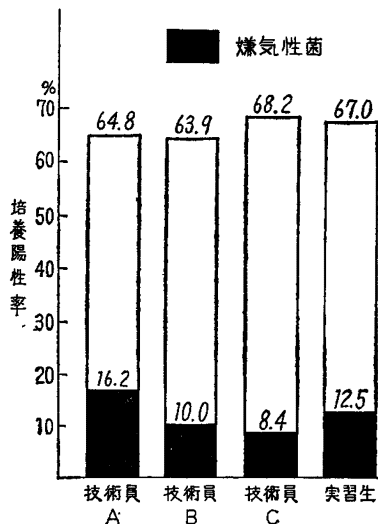
#### V: 細菌検査の精度管理について

最近臨床化学検査、血清検査については、精度管理の方法が研究され、簡単に実施し易い方法が開発され、それを日常検査として実施する病院が急速に増加しつつある。

しかし細菌検査、臨床検査の中では最も古い細菌検査については、臨床化学検査や血清検査のような精度管理の方法がなく、今日のところ専ら技術員の技術を信頼して、その結果を鵜のみにしている状態である。

ところで技術員の技術差が結果にどのように影響するであろうか。私どもの検査室では、上述のように日常検査の進め方は規定しており、技師学校を

図9 膿・分泌液・穿刺液培養検査における技術差



一定レベル以上の成績で卒業し、臨床病理技術士の細菌学2級に合格した技術員であれば、成績に大きく影響するほどの技術差は現れないと予想していた。

技術差の調査方法として、私は過去半年間に各技術員の扱った材料の、材料別陽性率、検査に要した日数、1検体当り分離菌株数などを集計して比較した。

尿、喀痰、咽頭粘液については技術員間に認むべき差はなかった。しかし膿、分泌液、穿刺液については図9のような差が認められた。すなわち培養陽性率には大差はないが、A、B、Cの順に嫌気性菌の検出率が低下していることである。ところで技術員A、B、C、実習生は次のような経歴のものである。

技術員A：技師学校卒後3年、女性

技術員B：技師学校卒後2年、女性

技術員C：技師学校卒後1年、男性

以上いずれも臨床病理技術士の細菌学2級の有資格者  
実習生：技師学校2年生、あるいは他病院から実習に来ている技術者で、主としてAが指導して検体を扱わせている。調査期間中には10名以上が実習した。

次に成績が出るまでの日数を、好気性菌のみが検出された材料と、嫌気性菌も検出された材料に分けてみると、図10のごとく、技術員Cは他と比べてかなり短い。そこで1検体当りの平均菌株数をみると、Cは他と比べて嫌気性菌の含まれる材料の場合に平均菌株数が少ない。すなわちCの場合、早く成績が出たということは、混在する菌の見逃しがあつたためと解釈できる。なお「実習生」が案外いい成績を示しているのは、技術員Aが一々こまかく検査の進め方を指導していたためと解

図10 膿・分泌液・穿刺液培養検査における技術差

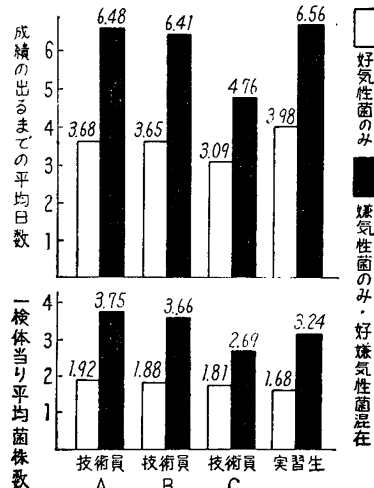
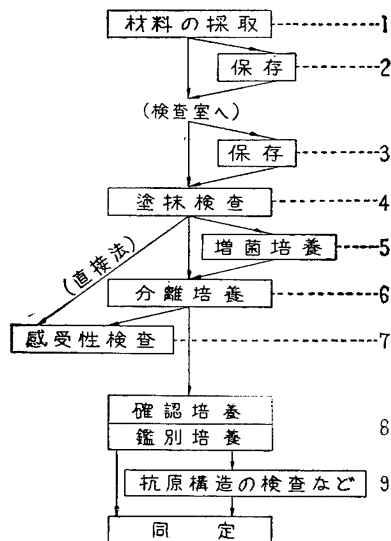


図11 細菌検査の精度管理



釈できよう。

要するに各検査材料について検査の進め方をこまかく規定しても、技術差は如何ともしがたいということである。このような技術差を早くみつめ出すにはどうすればよいであろうか。かかる技術差を最少限に止めるような精度管理の方法はないであろうか。つまり何が含まれているかわからない検体の中から、何かをさがすという細菌検査には、毎日毎日の検査の精度を客観的にチェックする方法がないのであろうか。

さて細菌検査には図11に示すように、少なくとも9カ所での精度管理が必要である。それではどこではどのよ

うな方法で精度管理を行なうべきか、私どもは早急に検討し、対策を立てなければならない。

#### おわりに

化学療法の発達した今日、細菌検査はとかく軽視される傾向がある。しかし細菌検査の重要性は、化学療法の発達によつて増しこそすれ、決して減るものではない。正しい化学療法には細菌検査は不可欠であるからである。

特定の感染症について、その材料を研究的にくわしく、特殊な手技、方法で検査し、その感染症の発症機序、病態、治療法を検討することは大事なことである。しかしそれだけでは化学療法の向上に寄与するところは少ない。その研究のレベルで行なわれた検査方法を、日常検査のレベルにどのようにして移すかの努力が必要である。そして日常検査のレベルが持ち上げられ、それが広く検査施設で行なわれるようになって始めて、それが化学療法の向上に寄与することとなる。

私は日常検査としての細菌検査の現状と、その水準を向上させるための問題点のいくつかを解説した。

本講演の資料を集めるのに協力していただいた大学病院 43, その他大病院 30 の中央検査部、および全国の約 3,000 病院、ならびに日大臨床病理学 土屋俊夫教授、岐阜大微生物学 鈴木祥一郎助教授に感謝する。

#### 引用文献

- 1) STOKES, E. J. : Clinical bacteriology. 2nd. ed., Arnold (London), 1960.
- 2) BAILEY, W. R. and SCOTT, E. G. : Diagnostic microbiology, 2nd ed., Mosby Co. (U.S.A.), 1966.
- 3) 小酒井 望 : 臨床検査技術講座第6輯「細菌学」, 金原出版, 1959.
- 4) 坂崎利一他訳 : Schaub 臨床細菌検査の実際, 一成堂, 1964.
- 5) 小酒井 望 : 検査材料別病原体検査方法と同定検査, 臨床病理, 9, 356, 1961.
- 6) 小酒井 望 : 血液培養の問題点——カルチャーボトルの市販に際して, Modern Media, 11, 410, 1965.
- 7) STOKES, E. J. : Anaerobes in routine diagnostic culture. Lancet, 1, 668, 1958.
- 8) 小酒井 望 : 各種臨床材料からの嫌気性菌の検出状態とその抗生物質感受性, 医人, 15, 24, 1966.
- 9) 鈴木祥一郎 : 無孢子嫌気性菌感染症について, 日伝染会誌, 40, 12, 1966.
- 10) 陳 敏馨 : 胆道感染の細菌学的検査方法の検討, 臨床病理, 11, 51, 1963.
- 11) 小酒井 望 : 赤痢菌の抗生物質耐性の直接測定法について, Modern Media, 11, 352, 1965.
- 12) 厚生省医務局総務課編 : 病院要覧——全国病院名簿, 医学書院, 1964.
- 13) 小酒井 望 : 肺・気管支感染症の細菌検査, 最新医学, 18, 715, 1963.