

ディスク法による感受性測定に関する基礎的検討 (1)

3 濃度ディスクの中濃度を用いる簡易法

三 宅 修

日本栄養化学株式会社研究所：所長 大沢博士
東邦大学医学部微生物学教室：主任 桑原教授

(昭和 42 年 6 月 20 日受付)

病原細菌の抗生物質および合成化学療法剤に対する感受性測定法については、すでに多くの基礎的および臨床的研究がなされているが、それらの方法は試験法の原理からみれば、希釈法と拡散法に大別することができ、さらに感受性測定の目的からみれば、大まかに、研究的なもの、実際の化学療法時の薬剤選択の資料をうるために分けられる。現在、研究の目的には主として希釈法が、臨床面では拡散法が多く用いられていることはいうまでもない。

化学療法に使う薬剤の種類が多くなり、病原菌の薬剤感受性が、その薬剤の使用当初とかなり異なつてきている現在、とくに療法時の薬剤選択の資料として、拡散法による迅速、簡易な感受性測定は、臨床検査室で欠くことのできない重要な検査項目となりつつある。

拡散法の1つである紙ディスク法は「簡便である」という大きな特徴から、臨床検査にひろく用いられ、薬剤選択の際の感受性測定法の支柱となつているが、それゆえ、いままでに、その方法論や信頼度について、数多くの検討がなされている^{1,2,3)}。

現在、ディスク法には1濃度法、2濃度法、3濃度法などがあり、わが国では1濃度法と3濃度法が一般に行なわれているが、その術式や、判定基準にはなお検討しなければならない余地が多い。

私は、「簡便」を主目標として現行のディスク法の術式を再検討し、3濃度ディスクの中濃度を用いる新しい検査術式を工夫したので、次にそのあらましを報告する。

I. 実験方法

1) 使用菌株：実験に使用した菌株は総計 84 株でその内訳は次のとおりである。

Staphylococcus 35 株, *Streptococcus hemolyticus* 6 株, *Streptococcus viridans* 3 株, *Streptococcus faecalis* 3 株, *Diplococcus pneumoniae* 2 株, *Corynebacterium diphtheriae* 5 株, *Bacillus subtilis* 2 株, *Escherichia coli* 3 株, *Shigella* 10 株, *Salmonella* 5 株, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Cloaca*, *Hafnia*, *Proteus*, *Morganella*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Achromobacter*,

Citrobacter, 各 1 株。

2) 最小発育阻止濃度 (MIC と略)：微生物検査必携記載の方法 (栄研製 HI カンテン培地使用) により測定した。

3) ディスク法：1濃度ディスク (昭和) および3濃度ディスク (栄研) を用い、それぞれの使用法 (1濃度ディスクでは標準法) によつて使用した。3濃度法でも、阻止円の径をはかる場合は1濃度法に準じて行なつた。

4) 接種菌 トリプト ソイ・フィオン (栄研) の1夜培養を使用し、平行実験では、同一培養を使うようにした。

II. 成績

〔実験 1〕

平板希釈法とディスク法における成績の動揺

反復測定により、平板希釈法をディスク法につき、その測定値のフレをみた。

薬剤 ロイコマイシン (LM と略), 硫酸ジヒドロストレプトマイシン (SM)。

菌株：*Shigella flexneri* 1 株, *Staphylococcus aureus* 1 株。

実験は一定期間ごとに 5 回反復した。

表 1 に示すとおり、ディスク法の結果も、指示通り (卅)(卅)(+)(-) の 4 段階に区分する判定法ではフレはなく、阻止円の直径を測定しても培養条件、測定条件が一定であればフレはあまりない。

一方、希釈法においても、発育の程度にわずかの差異がみられるが、(-) になつた点を基準にして最小発育阻止濃度を考えると、成績の動揺はほとんど認められない。

〔実験 2〕 つぎに希釈法、3濃度ディスク法および1濃度定量的ディスク法について、測定値のフレを比較してみた。

薬剤：硫酸カナマイシン (KM), ペニシリン G (PC), 硫酸ジヒドロストレプトマイシン (SM), エリスロマイシン (EM), テトラサイクリン (TC), ロイコマイシン (LM), オレアンドマイシン (OM), クロラムフェニコール (CM), ジメトキシフェニルペニシリン (DMP-PC)。

表 1 平板希釈法, ディスク法の反復による測定値の動揺

薬剤	測定法		希釈法 (mcg/ml)										ディスク法 (阻止円の径 mm)			
	菌株	回数	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	対照	高濃度	中濃度	低濃度
LM	ブドウ球菌	1	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	20	17	16
		2	—	—	—	—	—	—	±	++	+++	+++	+++	20	18	15
		3	—	—	—	—	—	—	±	++	+++	+++	+++	21	17	16
		4	—	—	—	—	—	—	±	++	+++	+++	+++	21	16	15
		5	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	21	16	15
	赤痢菌	1	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
		2	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
		3	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
		4	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
		5	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
SM	ブドウ球菌	1	±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10	—	—
		2	±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10.5	—	—
		3	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10	—	—
		4	±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10	—	—
		5	±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10	—	—
	赤痢菌	1	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	17	14	10
		2	—	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	18	14	10
		3	—	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	18	14	11
		4	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	18	15	10
		5	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	18	14	10

菌株：当室保存黄色ブドウ球菌 No. 1~8 および枯草菌 1, 黄色ブドウ球菌 209 P 株の計 10 株。

実験は各 2 回反復した。

結果は、表 2 に示すとおりである。MIC 値について、希釈法の成績はかなり安定しており、フレの起きる回数も幅も少なくフレ幅は PC のブドウ球菌 No. 4 に対する 1 例を除くと、全てが倍数希釈の 1 オーダー (2 倍) 以内に入っている。1 濃度ディスクの測定値は、これにくらべると、ややフレやすく、また、フレ幅も TC に対するブドウ球菌 No. 1 で約 5 倍、OM に対するブドウ球菌 No. 8 の例では約 25 倍とかなり大きい場合がある。かりに、この測定値を倍数希釈法の区分になおしたとして、TC の例では $0.19 > \rightarrow 0.78$ で 2 オーダー (4 倍)、OM の例では $6.25 \rightarrow 0.39$ と 4 オーダー (16 倍) のフレ幅となる。

同様の操作で倍数希釈の区分に直して 2 オーダー (4 倍) 以上にわたって測定値のフレルものは、PC で 1, SM で 1, TC で 1, LM で 1, OM で 5, DMP-PC で 1 の計 10 例にのぼる。

希釈法で 2 オーダー以上にわたってフレた唯一の例、PC のブドウ球菌 No. 4 の場合、3 方法とも同傾向の動

揺を示しており、PC という薬剤の性質からも、むしろ、反復による動揺ではないと考えるほうが妥当で、この例を除くと、希釈法と 1 濃度ディスク法の MIC 値の安定度の差はなお一層大きいものと考えられた。

また、両者の MIC 値そのものを比較してみると、たとえば KM に対するブドウ球菌 No. 6~8, 209 P, 枯草菌などで、かなりの差異がみられた。

ディスク法の判定値について、(++)(+)(-) の 4 段階の判定値では、3 濃度法、1 濃度法とも、かなり安定してフレ幅はほとんど 1 段階以内に入り、フレの頻度も少なかった。

〔実験 3〕上の 1, 2 の実験は、同一の実験者が実験し、同一の者が判定を行なったもので、実験者が異なった場合は、一見安定した結果を示すかに見える希釈法の MIC 値、1 濃度および 3 濃度ディスクの判定値とも、もつと誤差の多いものかもしれない。

実験者、または実験場所の変化があつた場合、その変化にもなつて、pH、血液の添加などを含めた培地の差、その量、試験菌の接種量、その発育時相の問題など誤差の要因となるものは多い。それらの要因が、特にディスクの阻止円の大きさによらず影響については、す

表 2 平板希釈法, 1濃度および3濃度ディスク法の測定値の動揺 (1)

KM								PC											
方法 回数	希釈法		1濃度ディスク				3濃度 ディスク		方法 回数	菌株	希釈法		1濃度ディスク				3濃度 ディスク		
	MIC		MIC		判 定		判 定	MIC			MIC		判 定		判 定				
	1	2	1	2	1	2		1			2	1	2	1		2	1	2	
ブドウ 球 菌	1	3.12	3.12	4.5	4.8	判	判	判	判	ブドウ 球 菌	1	100<	100<	17<	17<	-	-	-	-
	2	3.12	3.12	2.7	4.4	判	判	判	判		2	100<	100<	17<	17<	-	-	-	-
	3	3.12	3.12	2.3	5.4	判	判	判	判		3	0.78	0.39	0.02	0.09	判	判	判	判
	4	3.12	6.25	10.5	6.4	判	判	判	判		4	3.12	12.5	0.35	12	判	判	判	判
	5	3.12	3.12	2.7	5.4	判	判	判	判		5	6.25	3.12	0.02	0.048	判	判	判	判
	6	1.56	1.56	11.5	5.4	判	判	判	判		6	100<	100<	17<	17<	-	-	-	-
	7	0.78	0.78	2.75	2.7	判	判	判	判		7	0.39	0.39	0.09	0.25	判	判	判	判
	8	0.39	0.39	5.4	11	判	判	判	判		8	50	25	1.1	1.3	判	判	判	判
	209 P	0.197	0.197	1.3	1.7	判	判	判	判		209 P	0.19>	0.19>	0.0057	0.048	判	判	判	判
	枯草菌	0.39	0.39	1.7	2.7	判	判	判	判		枯草菌	0.19>	0.19>	0.025	0.074	判	判	判	判

SM								EM											
方法 回数	希釈法		1濃度ディスク				3濃度 ディスク		方法 回数	菌株	希釈法		1濃度ディスク				3濃度 ディスク		
	MIC		MIC		判 定		判 定	MIC			MIC		判 定		判 定				
	1	2	1	2	1	2		1			2	1	2	1		2	1	2	
ブドウ 球 菌	1	6.25	6.25	10	13	判	判	判	判	ブドウ 球 菌	1	3.12	3.12	0.24	0.26	判	判	判	判
	2	100<	100<	120<	78	-	+	+	-		2	0.78	0.78	0.2	0.32	判	判	判	判
	3	12.5	12.5	10	10	判	判	判	判		3	1.56	1.56	0.64	0.32	判	判	判	判
	4	6.25	12.5	40	40	+	+	+	+		4	0.78	0.78	0.38	0.51	判	判	判	判
	5	12.5	25	120<	120<	-	-	-	-		5	0.78	0.78	0.4	0.65	判	判	判	判
	6	3.12	3.12	10	16	判	判	判	判		6	1.56	1.56	0.8	1.4	判	判	判	判
	7	3.12	3.12	9	6.2	判	判	判	判		7	0.78	0.78	0.21	0.65	判	判	判	判
	8	100<	100<	120<	120<	-	-	-	-		8	0.78	0.78	0.21	0.32	判	判	判	判
	209 P	0.78	0.78	1	1.8	判	判	判	判		209 P	0.78	0.78	0.26	0.4	判	判	判	判
	枯草菌	1.56	1.56	1.4	4	判	判	判	判		枯草菌	0.39	0.39	0.23	0.1	判	判	判	判

TC								LM											
方法 回数	希釈法		1濃度ディスク				3濃度 ディスク		方法 回数	菌株	希釈法		1濃度ディスク				3濃度 ディスク		
	MIC		MIC		判 定		判 定	MIC			MIC		判 定		判 定				
	1	2	1	2	1	2		1			2	1	2	1		2	1	2	
ブドウ 球 菌	1	0.39	0.39	0.095	0.48	判	判	判	判	ブドウ 球 菌	1	1.56	1.56	0.4	0.32	判	判	判	判
	2	100	100	7	10	判	判	判	判		2	0.78	0.78	0.32	0.25	判	判	判	判
	3	100	100	8.4	8.4	判	判	判	判		3	0.78	0.78	0.51	0.32	判	判	判	判
	4	0.39	0.39	0.15	0.31	判	判	判	判		4	0.78	0.78	0.4	0.51	判	判	判	判
	5	100<	100<	8.4	10	判	判	判	判		5	0.78	0.78	0.84	1.05	判	判	判	判
	6	100<	100<	12.5	8.4	判	判	判	判		6	1.56	0.78	0.84	1.4	判	判	判	判
	7	0.19>	0.19>	0.15	0.25	判	判	判	判		7	0.78	0.78	0.25	0.4	判	判	判	判
	8	6.25	6.25	0.26	0.58	判	判	判	判		8	0.78	0.78	0.51	0.14	判	判	判	判
	209 P	0.39	0.39	0.52	0.48	判	判	判	判		209 P	0.39	0.39	0.28	0.25	判	判	判	判
	枯草菌	0.19>	0.19>	0.15	0.14	判	判	判	判		枯草菌	0.78	0.78	0.65	0.65	判	判	判	判

表 2 平板希釈法, 1 濃度および 3 濃度ディスク法の測定値の動揺 (2)

方法		希釈法		1 濃度ディスク				3 濃度ディスク	
回数	菌株	MIC		MIC		判定		判定	
		1	2	1	2	1	2		1
ブドウ球菌	1	0.78	0.78	0.64	0.42	+++	+++	+++	+++
	2	1.56	1.56	0.8	0.25	+++	+++	+++	+++
	3	1.56	1.56	0.64	0.25	+++	+++	+++	+++
	4	1.56	1.56	0.32	0.64	+++	+++	+++	+++
	5	1.56	1.56	0.16	0.8	+++	+++	+++	+++
	6	1.56	1.56	5.4	1.7	+	++	++	++
	7	1.56	1.56	0.16	0.51	+++	+++	+++	+++
	8	1.56	1.56	5	0.2	++	+++	+++	+++
209 P	0.78	0.78	7.5	0.42	+	+++	+++	+++	
枯草菌	0.78	0.78	1.05	0.64	++	+++	+++	+++	

CM

方法		希釈法		1 濃度ディスク				3 濃度ディスク	
回数	菌株	MIC		MIC		判定		判定	
		1	2	1	2	1	2		1
ブドウ球菌	1	3.12	3.12	1.15	1.7	+++	+++	+++	+++
	2	3.12	3.12	1.7	2.5	+++	+++	+++	+++
	3	6.25	6.25	2.5	3	+++	+++	+++	+++
	4	3.12	3.12	1.9	3.6	+++	+++	+++	+++
	5	6.25	6.25	1.6	2.5	+++	+++	+++	+++
	6	6.26	6.25	3	3	+++	+++	+++	+++
	7	3.12	3.12	1.45	2.1	+++	+++	+++	+++
	8	50	50	85	100	-	-	+	+
209 P	3.12	3.12	2.05	3	+++	+++	+++	+++	
枯草菌	3.12	3.12	1.45	1.4	+++	+++	+++	+++	

DMP-PC

方法		希釈法		1 濃度ディスク				3 濃度ディスク	
回数	菌株	MIC		MIC		判定		判定	
		1	2	1	2	1	2		1
ブドウ球菌	1	12.5	12.5	44	60	<	-	+	+
	2	25	25	60	28	-	+	+	+
	3	25	12.5	60	60	<	-	+	+
	4	1.56	1.56	9	2.8	+	++	+++	+++
	5	1.56	1.56	9	4.4	+	++	+++	+++
	6	1.56	1.56	6.5	6	+	+	+++	+++
	7	3.12	3.12	10	6	+	+	+++	+++
	8	0.78	0.78	3.3	6	++	+	+++	+++
209 P	1.56	1.56	6.8	3.6	+	++	+++	+++	
枯草菌	0.19	0.19	1.85	2.9	++	++	+++	+++	

表 3 測定者による阻止円の径の値の動揺 (1)
黄色ブドウ球菌, LM 低濃度ディスク

測定者	測定値 (mm)	測定者	測定値 (mm)
K	14	A	15.5
O	15	W	16
D	15		

で多くの研究者の発表があり, あえて取り上げる必要もないだろう^{1,3,4,5,6)}。

表 3 は, 黄色ブドウ球菌と LM 低濃度ディスクで生じた同一の阻止円を 5 人の異なる測定者に計測させた結果で, 全く同じきわめて限界明瞭な阻止円を, 同じ物差で測っているのに 2 mm ていどの差が出てくる。

そこで, このような測定誤差がそのまま感受性値に影響する 1 濃度ディスクを対象にやや規模を大きくして, 同一阻止円の異なる測定者間の計測誤差をためしてみた。

菌株: 黄色ブドウ球菌 B 45, B 60 の 2 株, 赤痢菌 S-2 の 1 株。

ディスク: OM, LM, SM, EM, TC, CM。

結果は, 表 4 に示すとおりである。

測定値の個人差はかなり大きく, ブドウ球菌 B 45 の TC ディスクに対する阻止円では, 測定者 W の 24 mm → 測定者 D の 31 mm と, 7 mm も差があり, そのほかブドウ球菌 B 45 の CM, ブドウ球菌 B 60 の OM, TC, CM などでもかなり大きい個人差が出ている。

しかも, この測定値の測定者間の差が, たんに MIC 値のフレにとどまらず, さきの B 45 の TC ディスクに対する例などで (++) → (-) の判定にまで影響をおよぼすもののあるのは注目しなければならないことだろう。

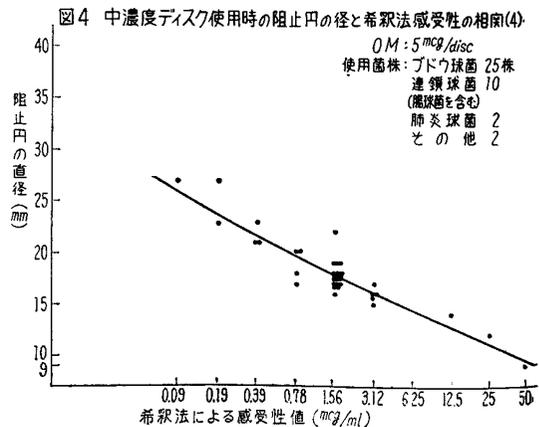
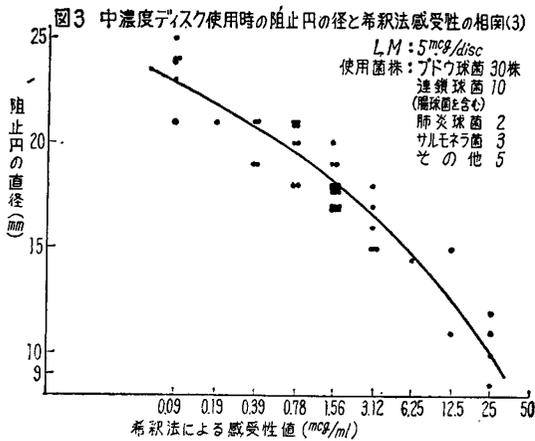
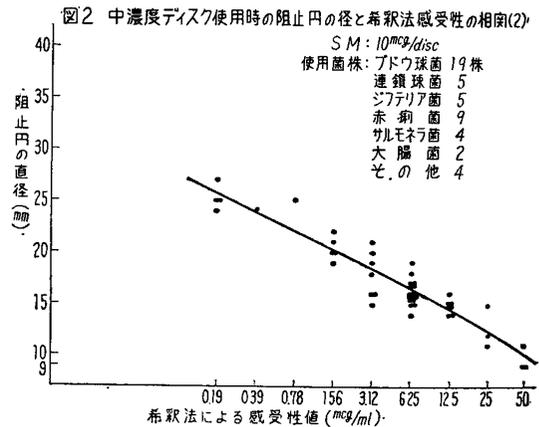
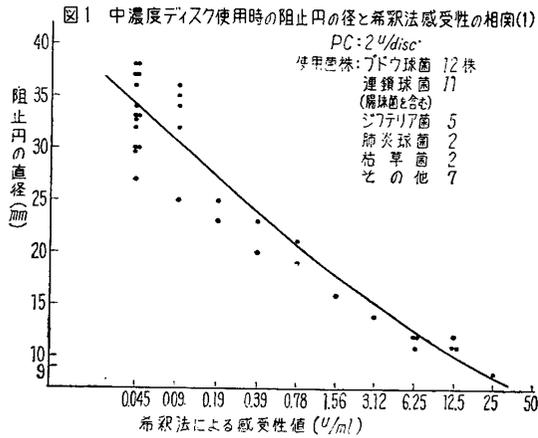
また, このような個人差の問題も, 阻止円の測定に關してのみあるのではなく, 実は, 検査時のすべての手技の 1 つ 1 つにからんでくるものと思われる。

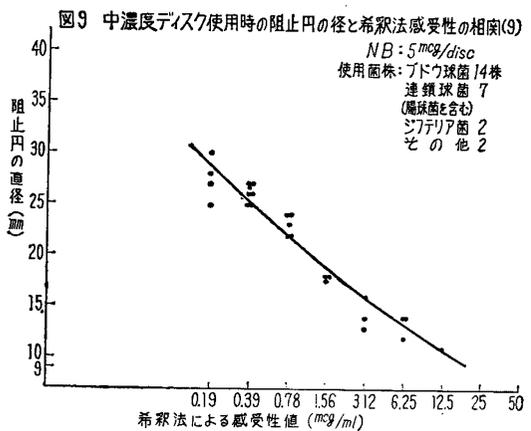
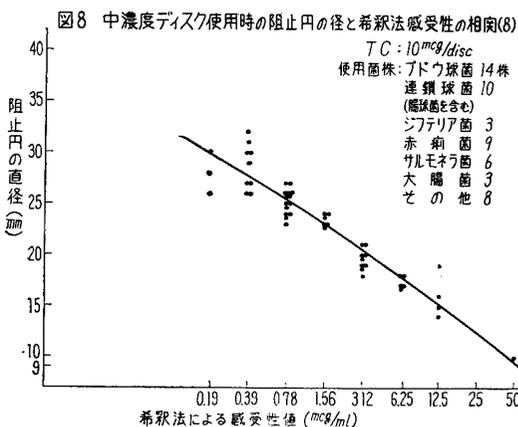
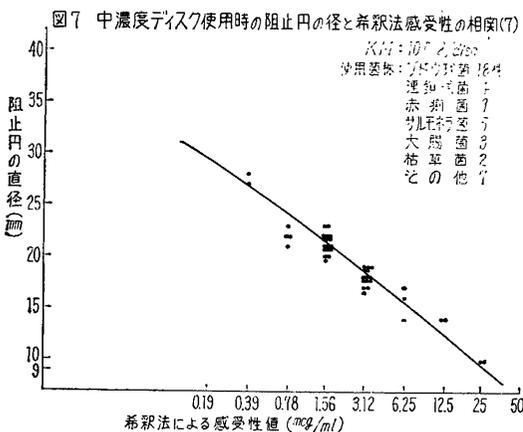
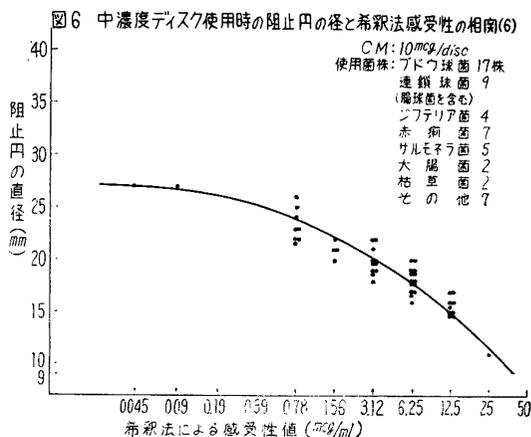
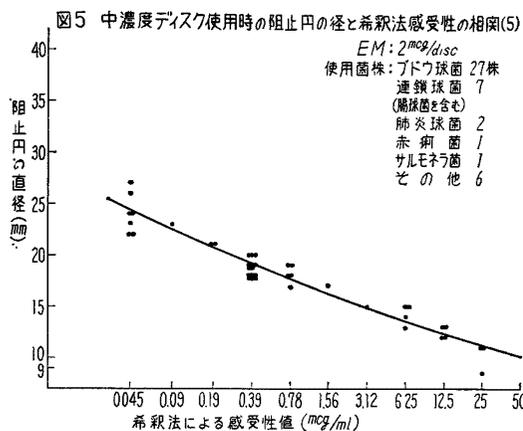
[実験 4] 上に述べてきたような成績の動揺を考えに入れて, 感受性ディスク検査の簡易化を考えてみた。なぜなら, 臨床検査における感受性試験は, 希釈法よりディスク法が多くとられている事実からもわかるように, ある程度, 精度を犠牲にしても, より簡易であることが要求されると考えるからである。そこで, その薬剤がいわゆる適合薬剤なのか否か, 結局, (+) か (-) かに大別するだけなら, もつと簡易な方法がゆるされるのではないかと考え, 阻止円の径と MIC の相関図を作製してみた。

方法: 同一菌株の同一培養につき, 希釈法による MIC とディスクによる阻止円の径を計測し, 片対数方眼紙の縦軸に阻止円の径を横軸に MIC 値をとって, 測定値を

表 4 測定者による阻止円の径の値の動揺 (2)

菌 株	測定者	薬 剤											
		OM		LM		SM		EM		TC		CM	
		径 mm	判定										
赤痢菌 S-2	M	—	—	16	+	12	+	13	+	27	卅	32	卅
	D	—	—	16	+	12	+	12	+	28	卅	31.5	卅
	O	—	—	17	+	11	+	12	+	27	卅	34	卅
	Y	—	—	16	+	12	+	13	+	28	卅	34	卅
	W	—	—	14	+	10	+	11	—	27	卅	32	卅
ブドウ球菌 B-45	M	23	卅	27	卅	22	卅	28	卅	29	卅	27	卅
	D	24	卅	28	卅	22	卅	28	卅	31	卅	29	卅
	O	22	卅	28	卅	22	卅	29	卅	28	卅	23	卅
	Y	23	卅	27	卅	22	卅	28	卅	29	卅	27	卅
	W	22	卅	28	卅	23	卅	28	卅	24	卅	25	卅
ブドウ球菌 B-60	M	19	卅	21	卅	16	+	23	卅	33	卅	26	卅
	D	20	卅	22	卅	16	+	24.5	卅	35.5	卅	26	卅
	O	16	+	20	卅	16	+	24	卅	33	卅	25	卅
	Y	19	卅	20	卅	16	+	23	卅	32	卅	25	卅
	W	19	卅	20	卅	17	+	22	卅	30	卅	22	卅





の相関曲線。

相関図より、PC(図1)では、少なくとも MIC 1 u/ml 以下は (+), 6 u/ml 以上は (-) になるような点を求めると、阻止円の径 1.5 mm ないし 16 mm が境界になる。この場合 MIC 1.5~3 u/ml は、(+) になつたり (-) になつたりするだろう。SM(図2)について、MIC 3 mcg/ml 以下は (+), 25 mcg/ml 以上は (-) になる点は阻止円の径 15 mm 前後で、MIC 6 mcg/ml は (+) になる場合が多く、MIC 12 mcg/ml はほぼ境界線になる。

LM(図3)で同じように阻止円 15 mm を境界にすると、MIC 1.5 mcg/ml はまず (+) に、MIC 10 mcg/ml は (-) になる。MIC 3~5 mcg/ml は (+) になつたり、(-) になつたりする。

OM(図4)は、ほぼ、LMと同じ。以下同様にしてほぼ阻止円 15 mm 前後が境界線になる(図5~9)。

この実験で、あらかじめ阻止円 15mm前後にその境界がくるような薬剤含量のディスクを撰択し、使用したのだが、従来の4段階の判定法、あるいは ANDERSON⁷⁾ など、KIRBY⁹⁾ などの判定法の区分と、この (+),

記入した。

薬剤: PC, SM, LM, OM, EM, CM, KM, TC, NB の計 9 剤。

使用菌株: なるべく感受性値が広い範囲に分布するように菌株をえらんだ。

各ディスクの薬剤含量は、それぞれ図中に表示してある。

図中、実線による曲線は、最小 2 乗法で算定した場合

(一)の2段階の区分とは、ほぼ、つぎのような関係になる。

(卅) または Susceptible, Very sensitive などは (+) に, (+) と (-), すなわち Slightly sensitive, Resistant は (-) に, (卅), Moderately sensitive は一部が (+) に, 残りの一部が (-) に相当する。

考 察

近時、化学療法に使う薬剤の種類は、かなり多数のほり、それにつれて、臨床検査室でおこなう感受性試験の重要性は、ますます大きくなりつつある。一般に、簡易であるという点で、臨床面での感受性試験にはディスク法がとられ、我国でも1濃度ディスク法と3濃度ディスク法が行なわれている。そこで、現行のディスク法の判定結果の信頼性の検討を行ない、さらに、ディスク法の簡易化を考えてみた。

まず、厳密な条件で、希釈法と3濃度ディスク法およびその阻止円の径の再現性をみたが、このような条件下では、いずれもかなり安定した結果を示した。つぎに、希釈法と1濃度および3濃度ディスク法を平行しておこない、その測定値の動揺を比較した。希釈法と1濃度ディスクの MIC 値の比較では、測定値のフレ幅、フレの頻度とも希釈法ではかなり安定しているが、1濃度ディスク法では必ずしも安定したものとはいえなかつた。さらに、MIC 値そのもので、両方法の間にかんがりの差異のあるものがでてきた。この実験のかぎりでは、どちらの測定法による MIC 値が真の値に近いかは、いちがいにいえないが、測定値のフレの頻度、フレ幅、そして定量的ディスク法の換算表が倍数希釈法の数値をもとにして作られていることなどを考えると、やはりディスク法による MIC 値には、希釈法のそれほどには信頼を置き難いのではないと思われる。臨床検査の感受性測定は、研究目的による感受性測定ほど精密な数値を要求していない。たとえば、ディスク法の (卅)(卅)(+)(-) の4段階の判定は、その各段階にかんがりの大きな幅を持つているから、フレも少なくなる筈である。事実、3濃度ディスクの判定のフレの頻度は、かなり少なく、フレ幅も全て1段階以内に入っている。1濃度ディスクも、(卅)~(-) の4段階の判定法では、フレの頻度が少なくなり、フレ幅もほとんど1段階以内に入ってしまう。ただ、詳細に観察すると、1濃度ディスクの場合、3濃度ディスクにくらべて、フレの頻度がやや多く、さらに1例ではあるがフレ幅が2段階にわたるものがあり、ディスクを1枚しか使わないことの短所がうかがわれた。しかし、臨床検査の感受性測定は、結局、その薬剤が *in vitro* のテストの範囲で、適合薬剤なのか、あるいは不適合薬剤なのか、すなわち、(+)か(-)かに大別するわけだけ

ら、そのかぎりでは、あまり支障がないといつてよいと考えられる。

DMP-PC で、1濃度ディスクの判定が多くフレているようにみられるが、当ディスクの MIC 値からみると、偶然、段階区分の境界近くの菌株が多かつたせいのように思われ、このこととあわせて、兩種ディスクの段階区分が必ずしも一致してないことが1つの問題としてクローズ・アップされてくる。3種の方法を通じて、各方法とも PC の測定結果にフレが多くみられるのは、おそらくペニシラーゼの存在が影響しているのであろう。

感受性測定者の間の個人差については、いままで、あまり検討されていなかったが、この問題を端的にとりあげたのが、阻止円計測に関する個人差の実験である。結果は想像以上の動揺がみられ、とくに1濃度ディスクによる定量的測定をかなり危険視しなければならないかみえた。

上記のことを考慮のうえ、感受性ディスク法の簡易法の1つを提案したわけだが、実際に感受性試験の判定を、2つの区分にわけるとすれば、その境界をどのへんにおくかには、多くの議論があるだろう。ただ、現在のように多種の薬剤があるとき、それだけ薬剤の撰択範囲がひろいだから、かなり感受性側に (+) と (-) の境界をもうけることが許されるのは当然のことであろう。

臨床検査における感受性測定は、その手技の簡易化および測定に要する時間の短縮が大きな目標の1つになっていることは、ANDERSON, SCHNEIERSON¹⁰⁾, KOOPMANS¹¹⁾, そのほか数多くの研究が、これを裏づけている^{12,13,14)}。ディスク法の簡易化という点に限つていうならば、複数ディスク法を単一ディスク法にすることは、まぎれもなく、この方向性に沿つたものだろう。ただ、その際、小酒井¹⁵⁾, そのほか^{16,17)}によつて問題にされた再現性の点、また、本報の実験結果などから明らかのように、従来からある単一ディスクの定量的な使用方法には、相当に大きな難点が見出される。それなら、測定値の表現の簡易法として利用されている4段階の区分 (卅~-) が十分満足できるかといえ、かならずしもそうとはいえない。一見合理的に見える4段階の区分が、かなり現実とあわない結果を示すことがあるのは、勝ら¹⁸⁾の報告にも明らかにされているところである。

感受性試験の測定値は、数値の安定性の点からも、また臨床面に対して感受性試験の果しうる役割の限度からみても、ディスク法で単に数多くの薬剤のなかから効果のありそうな数種を撰び出すためのスクリーニングテストをなるべく早く行なつて、(+)~(-) の程度の成績を得れば足りるはずである。(卅)~(-) の4段階の区分の

うち、(+)は特別な場合にのみ意義がみとめられ、(++)はほとんど存在理由が明確でないという点で、ANDERSONらは3段階の区分法—その中で彼らは、ボーダーラインにあるものは全て耐性側の区分に入れてしまうのがよいとしている—を提唱しているが、私はさらにその方向を進めて、(+)と(-)の2段階の区分法を提唱したのである。

しかし、実験成績からも明らかなように、阻止円の径の大きさを問題にすることは当然過誤を生む可能性を増すと考えられるから、ディスクの薬剤含量をさらに少なくし、単に阻止円の有無をもつて(+)(-)の判定をすることができれば、検査方式がさらに手軽になることはいうまでもない。

要 約

1) 1濃度および3濃度ディスク法測定値の再現性を平板希釈法と比較検討し、特に1濃度ディスクによる定量的試験法の危険性を指摘した。

2) 単一ディスク使用による感受性測定法の簡易化を考え、3濃度ディスクの中濃度にあたる薬剤含量のディスクによつて、大まかに、感受性(+)と耐性(-)に別ける判定法を提案した。

終りにご指導を賜わつた大沢研究所長および上田貞善博士、桑原教授、および実験の便宜を与えて下さつた東邦大学医学部微生物学教室の各位に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 村山蒔助, 鳥居敏雄: Sensitivity disc による感性検査について. 最新医学, 11: 2178~2191, 1956
- 2) 鳥居敏雄, 小酒井望, 金沢裕: ラウンドテーブルディスクッション, 感受性測定の基準化 (1. ブドウ球菌), Chemotherapy, 10: 343~351, 1962
- 3) PETERSDORF, R. B. & J. C. SHERRIS: Method and significance of *in vitro* testing of bacterial sensitivity to drugs. Am. J. Med., 39: 766~779, 1965
- 4) 長谷川弥人, 本間光夫, 富岡一, 鳥飼勝隆: 感受性ディスク法の検討—主として血液添加培地の立場から—. Chemotherapy, 12: 420~436, 1964
- 5) HOLMES, D. H.; W. E. WICK & W. S. BONIECE: Influence of inoculum size on antibiotic sensitivity patterns of staphylococci as determined

ed by the disc-plate method. Antibiotics & Chemotherapy, 10: 3: 145~147, 1960

- 6) 桑原章吾, 丹羽千鶴子: ブドウ球菌新鮮分離株のカナマイシン感受性について, Chemotherapy, 11: Suppl. 12~13, 1963
- 7) ANDERSON, T. G.: An evaluation of antimicrobial susceptibility testing. Antimicrobial Agents Ann., 472~477, 1960
- 8) ANDERSON, T. G. & A. TROYANSKY: Antibiotic susceptibility testing by the disc method. Antibiotics Ann., 7: 587~595, 1960
- 9) KIRBY, W. M.; G. M. YOSHIHARA, S. SUNSDTED & J. H. WARREN: Clinical usefulness of a single disc method for antibiotic sensitivity testing. Antibiotics Ann., 892~897, 1957
- 10) SCHNEIERSON, S. S.: A simple rapid disk-tube method for determination of bacterial sensitivity to antibiotics. Antibiotics & Chemotherapy, 4: 125~132, 1954
- 11) KOOPMANS, R. K.: A new, simple, quantitative micromethod for the rapid determination of bacterial susceptibility. Antibiotics & Chemotherapy, 10: 612~622, 1960
- 12) HOETTE, I. & A. P. STRUYK: A modified method for evaluation of clinical usefulness of antibiotics. J. Lab. Clin. Med., 51: 638~653, 1958
- 13) STEERS, E., E. L. FOLTZ & B. S. GRAVES: An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiotics & Chemotherapy, 9: 307~311, 1959
- 14) BIERINGER, G. S. & J. B. MIALE: Evaluation of a rapid dye-reduction test for bacterial susceptibility to antibiotics. Am. J. Clin. Path., 36: 195~202, 1961
- 15) 小酒井望: 抗生物質感受性測定法. 医学のあゆみ, 56: 268~273, 1966
- 16) HOFFMAN, R. V.; G. G. JACKSON & M. P. TURNER: Reliability of antibiotic sensitivity tests as determined by a survey study. J. Lab. & Clin. Med. 51: 873~882, 1958
- 17) BRANCH, A.; D. H. STARKEY & E. E. POWER: Significance of the occurrence of nonreacting discs in antibiotics-sensitivity tests. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 395~399, 1964
- 18) 勝正孝, 小川順一: 感受性と臨床効果 2, 一般感染症. 医学のあゆみ, 56: 332~336, 1966

FUNDAMENTAL STUDIES ON THE
DETERMINATION OF BACTERIAL DRUG-SENSITIVITY
BY DISK METHOD (1)
A SIMPLIFIED DISK METHOD USING THE INTERMEDIATE DISK
OF THE THREE CONCENTRATION DISKS SINGLY

OSAMU MIYAKE

Research Laboratory, Nihon Eiyo Kagaku Co. (Director : Dr. R. OSAWA)

Department of Microbiology, Toho University School of Medicine (Prof.: Dr. S. KUWAHARA)

Reproducibility of drug-sensitivities, determined with the one- and the three-concentration disks were compared each other with reference to the values of the agar plate streak method. Experimental results revealed that fluctuations were relatively small if the results were expressed as †††, ††, † and — in the one-concentration disk method, but that fluctuations were considerably great when the size of the inhibitory zone was expressed in terms of the sensitivity value by the agar plate dilution method.

After these results, the author attempted simplification of the procedures of sensitivity determination, and devised a new method, in which the intermediate concentration of the three concentration disks is used singly, and the result is determined as "sensitive" when the diameter of the inhibitory zone is greater than 15 mm, and as "resistant" when it is smaller than 15 mm, under the condition of constant thickness of the agar plate. According to this expression of the results, "very sensitive" and some of "moderately sensitive" by the three concentration disks are included in the sphere of "sensitive", and "slightly sensitive", "resistant" and some of "moderately sensitive" in the sphere of "resistant".