



最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration) 測定法の標準化について

我が国では基礎研究室，病院中央検査室ばかりでなく，化学療法に関心をもつ臨床研究室に於いても広く，化学療法剤に対する細菌感受性の測定が行なわれているのはむしろ喜ぶべき現象であります。しかしながら化学療法剤選択という実際面を目的として考案されたディスク法がその本来の臨床的目的を離れて菌感受性の疫学的研究はじめ菌の正確な MIC を必要とする場合にも安易に用いられていることが少なくありません。

一方，正確な MIC を与えると過信され勝ちな平板稀釈法が各研究室独自の方法で行なわれているため測定値のバラツキが大きく彼我の成績を比較することをほとんど無意味にする場合さえあることが心配されます。

耐性菌の疫学的，細胞遺伝学的な研究面のみでなく，たとえば感受性と臨床効果の平行性を論ずる際にもその基本的分析に必要な MIC 値は平板稀釈法によるべきであります。

一部の中央検査室を含め，一般臨床研究室レベルにおける感受性測定が，ディスク法，平板稀釈法でどの程度のバラツキを示すものであるかは日本化学療法学会会員約 40 施設の協力を得て，中央より送付した同一菌株(複数)についての測定値から明らかにされました¹⁾。すなわちディスク法に避けられぬ限界が示されたのでありますが，一方，平板稀釈法でも方法論に規制のない時の信頼度がさほど高くないことが判りました。しかし，平板稀釈法については方法論的にある基準を守る限り各施設に於ける測定値のバラツキが少なく，生物学的測定方法に避けられない範囲内にとどめ得ることが示されたので，次には MIC 測定法について試案を定めこの方法による測定が協力研究室に於いて行なわれました²⁾。

両実験の結果は第 13 回東日本化学療法学会東日本支部シンポジウム“感受性測定とその周辺問題”，第 15 回日本化学療法学会総会シンポジウム“化学療法剤の効果判定基準”に於いて発表され討議されています。

私達は MIC 測定が化学療法学会の討議の場に於いて，最も広く用いられている共通の方法論であるだけにその

誤差を僅少とし，データの比較を高い信頼性を以て可能とすることを願つて，MIC 基準測定法の標準方式(別紙)を提出します。これは各研究施設に採用を強制するものではありませんが，なるべく広く用いられることが願わしいのはその目的とするところから御了解願えると思います。なおこの方法は将来提起される問題に従つて改訂が考慮されることは申すまでもありません。

石山俊次・上田 泰・桑原章吾
小酒井望・古屋暁一・紺野昌俊
藤井良知

日本化学療法学会
効果判定基準研究会
MIC 小委員会

(昭和 43 年 1 月 25 日受付)

文 献

- 1) シンポジウム「感受性測定とその周辺問題」, 最新医学 22: 1861~1885, 1967
- 2) 藤井・桑原他: 感受性測定値の実験条件による動揺について, Chemotherapy 印刷中

最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法

(日本化学療法学会標準法)

被検菌株の抗生物質感受性測定には，次の寒天平板希釈法を用いる。

1. 感受性測定用培地

下記のいずれかを使用する。

- (1) Heart Infusion Agar
- (2) 感性ディスク用培地

いずれの会社の製品でもよいが，製造会社名を明記すること。

2. 抗生物質の濃度段階

下記の 100 mcg/ml よりの 2 倍希釈を使用する。

100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20, 0.10, 0.05, 0.025 mcg/ml

なお 100 mcg/ml 以上の濃度を使用する場合は 200, 400, 800, 1,600 mcg/ml とする。

ただし，力価として Unit を用いる抗生物質もすべて mcg/ml を使用すること。

3. 増菌用培地

カゼイン・ソイ混合ペプトンブイヨンを使用する。

これには下記の製品がある。そのいずれでもよいが，製造会社名を明記すること。

Trypticase Soy Broth (BBL)

トリプトソイブイヨン (栄研)

トリプトソーブイヨン (ニッサン)

4. 菌の接種法

一般的には増菌用培地に 18~24 時間培養したものを接種菌液として用い、白金耳（なるべく内径 1 mm 前後のもの）で 2 cm 程度、画線塗抹する。

5. 培養時間・温度

18~20 時間, 37°C

6. 判定

完全に発育が阻止された最低濃度をもつて感受性をあらわす。

ただし 1 個でも集落が発育した場合、または極めてうすい菌苔が発育した場合も「発育」とみなす。

〔注〕

1. 抗生物質標準液の作製, 希釈法

各抗生物質の力価の明らかな粉末を化学天秤で 0.1 mg の単位まで正確に秤量し、滅菌精製水を適量加えて、1,000 mcg/ml の溶液を作る。ただし CP の場合は温浴中で加温して溶解する。EM, AB-PC の場合は完全に溶解するのに多少時間がかかるので、時々振盪しながら

溶解する。

1,000 mcg/ml の溶液が出来たならば、滅菌メスピペットを用いて、滅菌精製水で 2 倍希釈を行ない、500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6, 7.8, 3.9, 2.0, ……mcg/ml の溶液を作る。この際希釈に用いるメスピペットは、必ず希釈のたびごとにとりかえなければならない。

1,000 mcg/ml の標準液は原則として測定の度ごとに調製する。

2. 感受性測定用平板の作り方

培地を溶解し、その温度が 60~50°C になつたところで、上記の抗生物質溶液を培地の 1/9 量加え、よく混ぜ合わせシャーレに分注して平板とする。

3. 被検菌株と対照菌株

被検菌株はなるべく分離後継代 2, 3 代以内のものを使用する。

測定に際しては常に対照菌株を使用すること。

なお対照菌株としては日本化学療法学会の指定するブドウ球菌または大腸菌菌株を用いる。