感受性ディスク法の測定精度について

とくに第 13 回東日本化学療法学会における稀釈法とディスク法測定値の集計成績（藤井，桑原博士による）の推計学的観察

金沢 裕・倉又利夫
新潟鉄道病院

（昭和 43 年 2 月 20 日受付）

感受性ディスク法は臨床的感受性測定法として現在広く行なわれている。しかし本方法は簡易検査であるが故に極めて測定精度が低く，その成績を MIC で表現することは不合理で 一〜卅 などの定性的表示に止めるべきであるとの意見もある。

しかし抗生剤の濃度測定法として，かつては最も基本的で操作の繁雑なキシャク法が行なわれたが，その測定精度が低く2倍キシャク法で実験誤差[10]が 50〜100% に及ぶことが判明し現在はほとんど行なわれなくなつた。代つて簡易検査であるカップまたはディスクを用いる寒天平板拡散法がその測定精度がよいので現在では国際的な製剤基準に広くとり入れられている。寒天平板拡散法による濃度測定と感受性測定は必ずしもすべて同一であるとはいえないが阻止円の大いさから連続的な数値のえられるという測定精度に影響する共通の利点を有することは明らかである。したがつてディスク法が簡易検査なるが故に直ちに測定精度が低いと断定しえないと考えられる。

つぎにまたディスク法の精度の低い理由としては，デイスク法などの拡散法の判定成績は，培地の種類(pH, 成分)，培地の量（厚さ），培養時間，接種菌量，薬剤の拡散性の差など，多くの実験条件に影響される点などがあげられる。しかしこれらの実験条件は，拡散性の差，培地の厚さをのぞけば感受性測定の最も基本的で正確な方法とされている稀釈法でもデイスク法と同様に影響をうける因子であり，デイスク法のみの短所ではない。規定の培地を用い，培地の厚さ，接種菌量を一定にして実験

Fig.1 希釈法による感受性測定値のばらつき

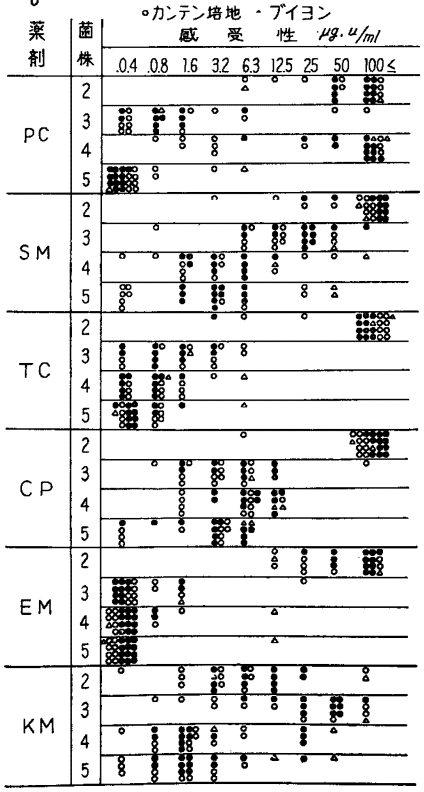


Fig.2 平板感受性とディスク感受性の相関(1)

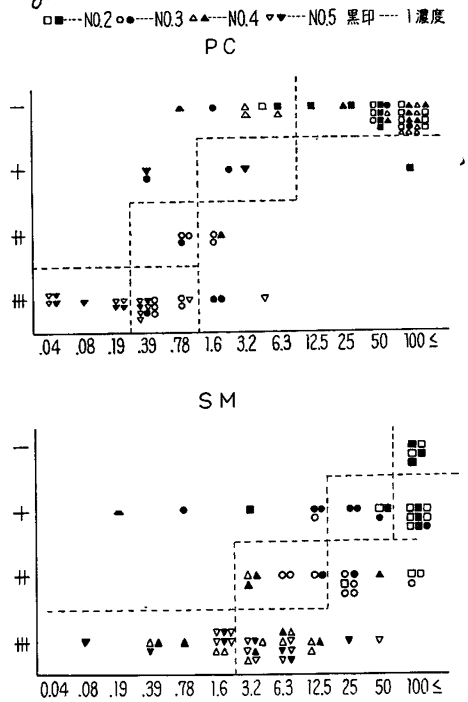


Fig.3 平板感受性とディスク感受性の相関(2)

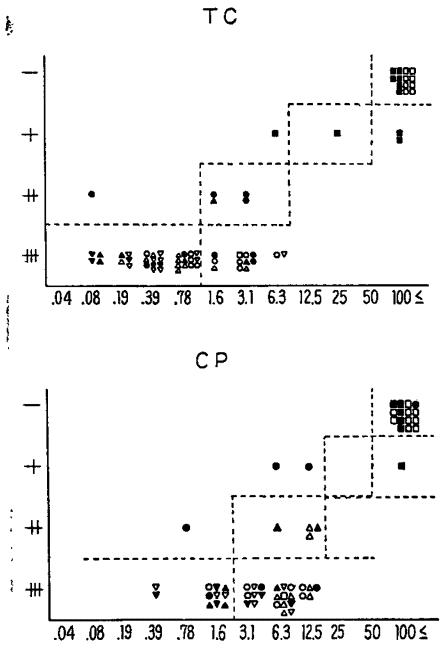


Fig.4 平板感受性とディスク感受性の相関(3)

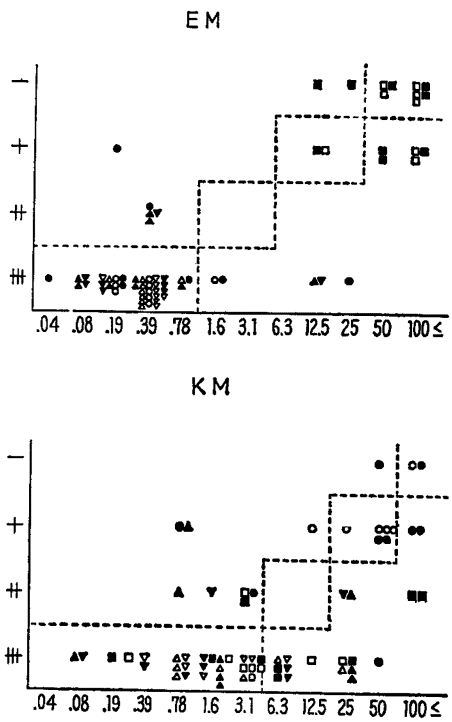


Fig.5 希釈法および一濃度ディスク法による感受性の相関(1)

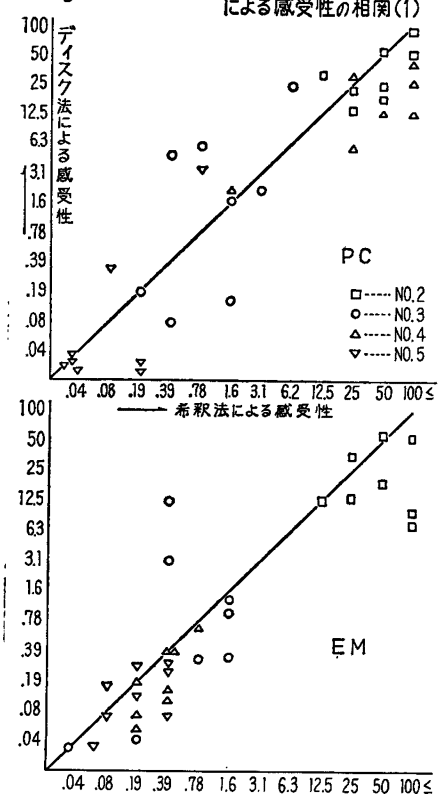


Fig.6 希釈法および1濃度ディスク法による感受性の相関(2)

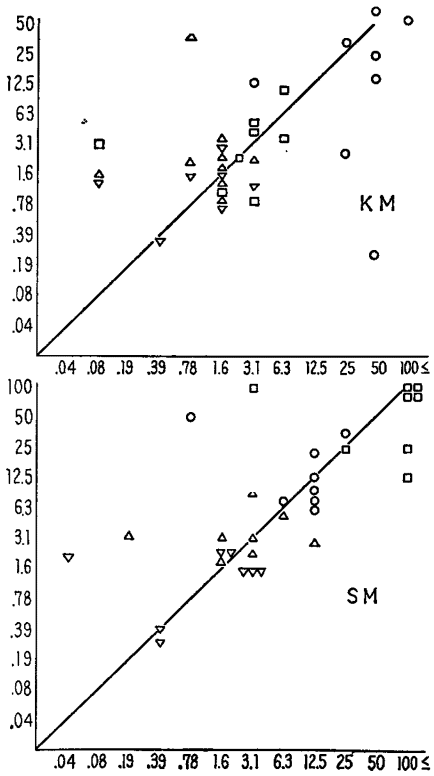
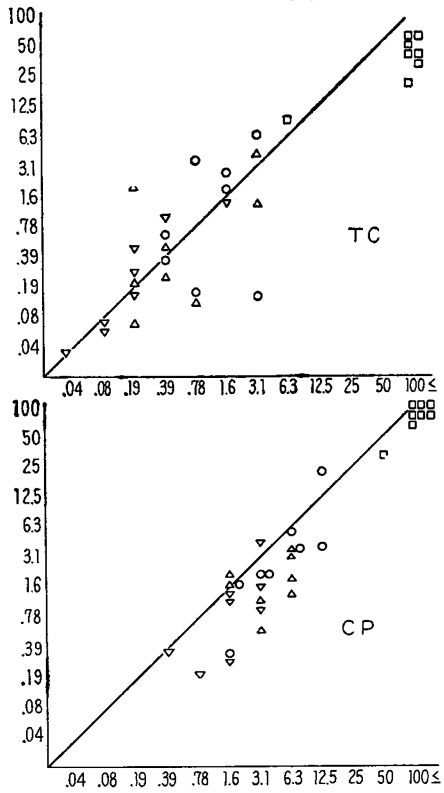


Fig.7 希釈法および1濃度ディスク法による感受性の相関(3)



することは現在の臨床細菌検査室のレベルとしては極めて容易なことである。またディスク法における薬剤拡散性の相違も実験的に求められた各薬剤ごとの基準で判定すれば，拡散性の相違をある程度コントロールできるわけである。

私[8]はさきに2倍稀釈法による MIC 値の変動と1濃度ディスク法による MIC 値の変動の範囲を信頼区界(信頼度 95%) を指標として多くの化学療法剤について検討した成績を報告したが，その概要を示すと，稀釈法の信頼区間の中にはどの薬剤でも理論的にも明らかなように上下2段階の幅 $2^2=4$ 倍以上の幅を示し，最少 EM 2.2^2(≒4.8) 倍から最大 Sulfisomezole 3.3^2(≒11) 倍であり，また Penicillinase(PC-nase) 産生ブ菌と Benzyl-PC, Aminobenzyl-PC の組合せでは $(3.4)^2$, $(3.6)^2$(≒12, 13) 倍との成績がえられた。一方ディスク法では拡散性のとくに低い薬品をのぞけば最少 EM (阻止円 20 mm 以内), 2.3^2(≒5.3), 最大 KM(阻止円 30 mm 以上), 3.3^2(≒11) であり，また PC-nase 産生ブ菌と Benzyl-PC, Aminobenzyl-PC の組合せでは 3.8^2(≒14) であつたが拡散性の低い Colistin, Polymyxin B では 3.9^2(≒15) 及び 3.8^2(≒14) と広い幅がみられている。

しかし，ディスク法成立の基準となる MIC 値が稀釈法の実験誤差を背負つていることを考慮すれば拡散性の低い Colistin, Polymyxin B を除けば1濃度ディスクの測定精度は稀釈法に比して明らかに劣るという成績はみられず，ある程度稀釈法に代りうるものと推定された。しかし，この成績はディスク法，稀釈法とも測定条件をかなり厳しく規定した場合の成績であり，一般検査として検査室で行なわれた場合は両方法とも測定値のバラツキはさらに大きくなると推定される。そのバラツキの程度は実際はどの程度であるか，またとくに一般検査として行なわれた場合のディスク法推定の MIC 値は稀釈法の MIC に代りうるものかどうかの検討は極めて重大と考えられた。

この時にあたつて 1966 年第 13 回日本化学療法学会東日本支部総会でこの問題がシンポジウムとして取り上げられ，その際の検討材料として *Staphylococcus aureus* 2株，*Streptococcus faecalis* 1株，*Escherichia coli* 1株，計4株が全国の化学療法の研究に従事している諸施設に配布され，6つの薬剤に対しディスク法および稀釈法により感受性が測定され，その成績が集計発表され，また 1966 年 12 月 12 日[4]に石山，藤井，桑原博士の名で集計成績として Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.4, Fig.5, Fig.6, Fig.7 の具体的データが参加研究機関に配布された。

またその成績の一部は桑原博士により「内科」[5]に，また総括的報告が藤井[3]，桑原博士により「最新医学」に掲載された。この貴重なデーターの統計的処理を行なつて客観的に観察することは研究参加者の1員として極めて意義のあることと考えられたので以下の検討を行なつた。

検討事項および検討成績

1) 1濃度法と3濃度法の比較

本検討の意義について考察すると，1濃度ディスクでは，一～卅の判定基準に相当する境界 MIC 値が示されているが，3濃度法では3つのディスクの薬剤含有量は示されているがその阻止円出現の境界濃度すなわち感受性の程度の境界 MIC が示されていない。たとえ3濃度法でその標示薬剤量が境界 MIC に近いものとしても，1濃度法に比し3濃度法の 一～卅 の判定の幅がせまく，また卅に相当する MIC が高い傾向がある。たとえば TC についてみると1濃度法では 一～卅 の幅が 60～2 と 30 倍の幅があるのに3濃度法では 30～5 と6倍の幅しかなくまた 卅 の境界 MIC が3濃度法では高い。したがつて1濃度法では MIC を幅広く区分しているのに，3濃度法は幅せまく区分している。したがつて3濃度法では 一，および 卅 に相当する MIC の幅がひろいから 一，卅 の再現性は著しくよいわけであり，また感受性の程度

を甘く，1濃度法はこれに比し辛く判定することになる。このように両方法とも判定基準が異なるわけであるから一～卅の再現性の良否は感受性測定法の優劣とはならないからそのような検討を行なつても無意味である。したがつて 一～卅 の再現性の比較は行なわないことにした。

2) 1濃度ディスク法による MIC 値が希釈法による MIC 値を推定し得なかつたといえるか？の検討

測定法の良否を論ずるには，1)測定値が正確な値，すなわちこの際は希釈法の MIC と一致するか，すなわち方法としての正確度(precision)の検討と，2)測定値のバラツキが希釈法のバラツキに比して劣るかという再現性 (reproducibility) の検定の2つを行なうことにより，その目的を達し得られると考えられる。この検討を行なうにあたつての資料として桑原教授から提示された図表をみると Fig. 1 では希釈法の値のみが集計されてあり，また MIC 値の幅が 0.4/ml 以上に限定されている。したがつて0.4以下の値が得られることが多い EM, PC などの検討は不可能である。これに比して Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7 では希釈法とディスク法による同一数の MIC 値が 0.04～100/ml の同一範囲で明瞭に示されており，桑原教授も本図表をさしてディスク法 MIC 値のバラツキを論じられた点からも Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7 の「希釈法と1濃度ディスク法の感受性の相関」の成績が最も本検討に適していると考えられた。そこで，これらの図表について各数値の表示にしたがつて区画し，各区画内はさらにこれを 10 等分し各点に相当する座標の値を対数変換値として整数目盛でよみとり Fig. 8, Fig. 9, Table 1 の成績を得た。ただし，この際1濃度ディスク法では希釈濃度段階のとり方の差による MIC 値の差異を少くし，また体液中薬剤濃度と対比しうる意味で希釈法による感性値と耐性値の幾何平均値を真の MIC と定めてある点を考慮してディスク法による MIC と希釈法による MIC 値を同一基準で比較しうるように希釈法の MIC 値の $\frac{1}{\sqrt{2}}$ (対数変換の場合は −0.5)を MIC 値として計算するよう考慮を払つた。

希釈法 MIC を基準とした場合の希釈法ディスク法の MIC 平均値の比較：

基準となる希釈法の値もかなりの変動を示している。したがつて両方法の値に開きのある場合，

Fig. 8 1濃度ディスク法とキシャク法の相関を示した図表から求めたディスク法による MIC 値の存在範囲

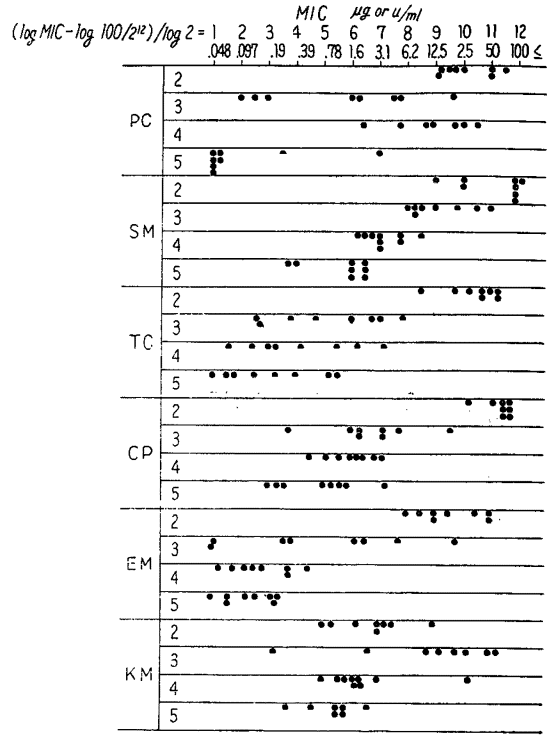
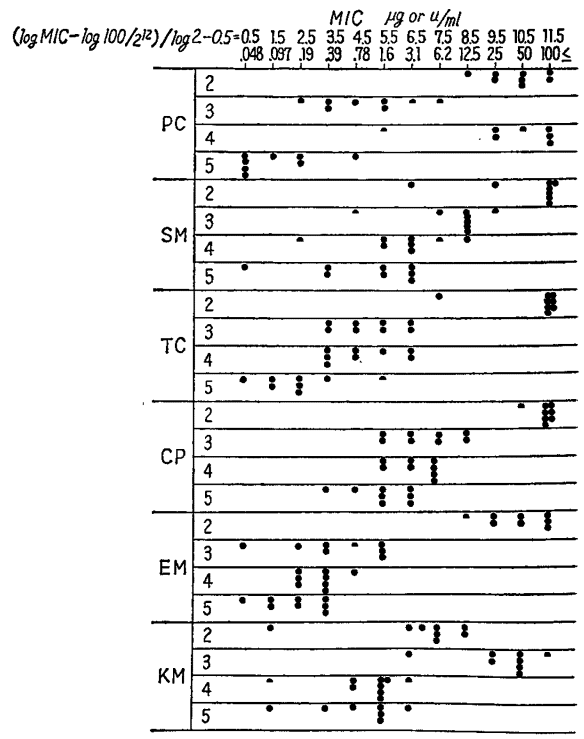


Fig. 9 1濃度デイスク法とキシャク法の相関を示した図表から求めたキシャク法による MIC 値の存在範囲



ただちにそれがディスク法の実験の誤りであるとはいえないわけで母集団をバックにした推計学的検討が必要となるわけである。そこでまず基準となる希釈法の MIC 値の平均値信頼区間（信頼度 95%）を求め，ディスク法 MIC 平均値がその中にどの程度含まれているかを検討した。Table 2 に示すように菌株と薬剤のすべての組合せ 24 中 22 においてディスク法 MIC 平均値が希釈法 MIC 平均値の信頼限界に含まれた。さらに外れた場合の2つについてはその平均値間における有意差の有無を検討した。Table 3 に示すようにそのうちの1ケース（CP, No. 4）では両測定平均値には有意差はなかつた。しかし他の1ケース（KM, No. 4 株）では両平均値の間に有意差が証明された。この際の有意差は希釈法ディスク法のうちいずれの実験誤差により生じたか？ との検討が強く望まれた。Fig. 1「希釈法による感受性値のバラツキ」ではこのケースの成績はすべて 0.4～100 μg/ml の幅に含まれており，この点の検討に好都合の資料が提供されていることが判明した。そこで Fig. 1 の KM, No.

Table 1 1濃度デイスク法による MIC 値（1濃度デイスク法とキシヤク法による感受性値の相関を示す図から求めた）

数字：$\frac{\log \mathrm{MIC} - \log \log / 2^{12}}{\log 2}$……個数

菌株＼薬剤	PC	SM	TC	CP	EM	KM
No. 2	9.1……1	9.0……1	8.5……1	10.2……1	8.0……1	5.0……1
	9.2……1	10.0……2	9.7……1	11.2……1	8.5……1	5.3……1
	9.5……1	12.0……5	10.3……1	11.5……3	9.0……2	6.4……1
	9.7……1		10.7……2	11.7……3	9.5……1	7.0……2
	10.0……1		11.0……1		10.5……1	7.3……1
	11.0……2		11.2……2		11.0……2	7.5……1
	11.5……1					9.0……1
No. 3	2.0……1	8.0……1	2.6……1	3.7……1	1.0……1	3.3……1
	2.5……1	8.2……2	2.7……1	6.0……1	1.1……1	6.6……1
	3.0……1	8.5……1	3.8……1	6.3……2	3.6……1	8.9……1
	6.0……1	9.0……1	4.7……1	7.1……2	3.7……1	9.2……1
	6.2……1	9.8……1	6.0……1	7.6……1	5.1……1	9.8……1
	7.5……1	10.5……1	6.7……1	9.6……1	5.5……1	10.2……1
	7.7……1	11.0……1	7.0……1		6.8……1	11.0……1
	9.7……1		7.8……1		8.8……1	11.2……1
No. 4	6.3……1	6.3……1	1.7……1	4.5……1	1.3……1	5.0……1
	7.7……1	6.5……1	2.4……1	5.2……1	1.8……1	5.6……1
	8.7……1	6.8……1	3.0……1	5.6……1	2.2……1	5.8……1
	8.8……1	7.0……3	3.2……1	6.0……1	2.5……1	6.1……1
	9.7……1	7.7……1	4.2……1	6.1……1	2.8……1	6.2……1
	10.0……1	8.5……1	5.5……1	6.3……1	3.8……2	6.3……1
	10.5……1		6.2……1	6.9……1	4.5……1	6.4……1
			7.2……1	7.2……1		7.0……1
						10.4……1
No. 5	1.0……6	3.7……1	1.0……1	3.0……1	1.0……1	3.7……1
	3.5……1	4.0……1	1.5……1	3.4……1	1.6……2	4.7……1
	7.0……1	6.0……3	1.7……1	3.7……1	2.3……1	5.5……2
		6.5……3	2.5……1	5.0……1	2.6……1	5.8……2
			3.3……1	5.4……1	3.2……1	6.7……1
			4.0……1	5.7……1	3.3……1	
			5.2……1	5.9……1	3.4……1	
			5.5……1	7.3……1		

Table 2 キシヤク法とデイスク法による MIC 平均値の比較

薬剤	菌株	MIC 平均値 キシヤク法 平均値	キシヤク法 平均値信頼限界 $\alpha=0.05$	デイスク法	デイスク法の平均値がキシヤク法の平均値信頼限界に入つたもの ○		両平均値の有意差 ($\alpha=0.05$) の有無
PC	No. 2	10.250	9.384～11.115	10.125	○	4	−
	〃 3	4.875	3.467～ 6.283	5.575	○		−
	〃 4	9.928	7.940～11.916	8.814	○		−
	〃 5	1.625	0.406～ 2.843	2.062	○		−
SM	No. 2	10.625	9.113～11.5	11.125	○	4	−
	〃 3	8.000	6.735～ 9.264	9.150	○		−
	〃 4	6.125	4.646～ 7.603	7.100	○		−
	〃 5	4.750	2.976～ 6.523	5.650	○		−
TC	No. 2	11.000	9.817～11.5	10.412	○	4	−
	〃 3	5.000	4.000～ 5.999	5.162	○		−
	〃 4	4.000	2.586～ 5.413	4.175	○		−
	〃 5	2.500	1.235～ 3.764	3.087	○		−
CP	No. 2	11.375	11.079～11.5	11.375	○	3	−
	〃 3	7.000	6.000～ 7.999	6.712	○		−
	〃 4	6.750	6.008～ 7.491	5.975			−*
	〃 5	5.500	4.606～ 6.393	4.925	○		−
EM	No. 2	10.375	9.424～11.316	9.562	○	4	−
	〃 3	3.875	2.440～ 5.309	4.450	○		−
	〃 4	3.250	2.658～ 3.841	2.837	○		−
	〃 5	2.375	1.433～ 3.316	2.375	○		−
KM	No. 2	5.937	4.334～ 7.540	6.812	○	3	−
	〃 3	9.875	8.615～11.134	8.775	○		−
	〃 4	4.944	3.849～ 6.038	6.533			+*
	〃 5	4.642	3.092～ 6.193	5.385	○		−
計	24 株	$\left(\frac{M}{\frac{\Sigma nx}{N}}\right)$	$\left(M \pm t_{0.05}\sqrt{\frac{\Sigma(\bar{X}-X)^2/N}{N-1}}\right)$		22/24 (91.6%)		有意差あるもの 1/24 (4.1%)

* 検定は Table 3 参照

Table 3 デイスク法 MIC 平均値がキシヤク法 MIC 平均値信頼区間に含まれなかつたケースの平均値有意差の有無検定

薬剤	菌株	共通の不偏分散 推定量 (S) $\frac{S_L\times(N_L-1)+S_S\times(N_S-1)}{N_L-1+N_S-1}$	t_S $\frac{\lvert\bar{X}_L-\bar{X}_S\rvert}{\sqrt{S}}\sqrt{\frac{N_L\times N_S}{N_L+N_S}}$	$t_{0.05}^{N_L+N_S-2}$	有意差
CP	*No. 4	0.7656	1.645	<2.145	−
KM	*No. 4	2.2201	2.1450	>2.120	+

L：キシヤク法，S：デイスク法，N：個数，t：Student の t

* 分散に有意差のないことは Table 5 に示されている

Table 4 キシャク法とディスク法 MIC 平均値の有意差を示したケースについての測定成績の多い Fig. 1(キシャク法による感受性測定値のバラツキ) による検討

薬剤(KM) / 菌株	キシャク法			ディスク法	判定
No. 4	3.5*…… 1 4.5 …… 4 5.5 ……10 6.5 …… 3 7.5 …… 2 9.5 …… 3 10.5 …… 1	平均値 6.250	平均値信頼限界 $\alpha=0.05$ 5.469～7.030	平均値 6.533	ディスク法 MIC 平均値はキシャク法 MIC 平均値信頼限界に入る ○

* 数字は $\frac{\log \text{MIC}-\log 100/2^{12}}{\log 2}-0.5$……個数

Table 5 キシャク法 MIC 値の存在範囲に含まれたデイスク法 MIC 値の数

薬剤	菌株	データ数 (N)	キシヤク法標本平均±標本標準偏差		棄却限界($\alpha=0.05$)	
			幅	含まれたデイスク法 MIC 値の数	幅	含まれたデイスク法 MIC 値の数
PC	No. 2	8	9.213～11.285	5	7.653～11.5≦	8
	〃 3	8	2.894～ 6.559	3	0.648～ 9.101	7
	〃 4	7	7.780～11.5≦	5	4.306～11.5≦	7
	〃 5	8	≦0.508～ 3.750	7	≦0.5 ～ 5.281	7
SM	No. 2	8	8.819～11.5≦	8	6.090～11.5≦	8
	〃 3	8	6.489～ 9.511	4	4.207～11.5≦	8
	〃 4	8	4.358～ 7.892	7	1.690～10.559	8
	〃 5	8	2.629～ 6.871	8	≦0.5 ～10.071	8
TC	No. 2	8	9.586～11.5≦	5	7.452～11.5≦	8
	〃 3	8	3.807～ 6.193	2	2.001～ 7.998	8
	〃 4	8	2.311～ 5.689	5	≦0.5 ～ 8.240	8
	〃 5	8	0.989～ 4.011	6	≦0.5 ～ 5.747	8
CP	No. 2	8	11.021～11.5≦	8	10.488～11.5≦	7
	〃 3	8	5.807～ 8.193	6	4.001～ 9.998	7
	〃 4	8	5.864～ 7.636	5	4.526～ 8.973	7
	〃 5	8	4.432～ 6.568	4	2.918～ 8.181	8
EM	No. 2	8	9.251～11.499	3	7.550～11.5≦	8
	〃 3	8	2.103～ 5.647	4	≦0.5 ～ 8.309	7
	〃 4	8	2.543～ 3.957	4	1.476～ 5.023	7
	〃 5	8	1.251～ 3.499	7	≦0.5 ～ 5.199	8
KM	No. 2	8	4.021～ 7.853	7	1.109～10.765	8
	〃 3	8	8.371～11.379	6	6.097～11.5≦	7
	〃 4	9	3.522～ 6.366	6	1.483～ 8.405	8
	〃 5	7	2.967～ 6.317	6	≦0.5 ～ 9.030	7
計	24株	191		131 (68.5%)		182 (95.55%)
			$M\pm S$ $S:\sqrt{\frac{\Sigma(\bar{X}-X)^2}{N-1}}$		$M\pm t_{0.05}S\sqrt{\frac{N+1}{N}}$	

4 についてその平均値信頼限界を求めたところ，Table 4 に示されるようにディスク法推定 MIC 平均値は希釈法測定 MIC 平均値信頼区間に含まれた。すなわち個数の少い（$N=8$）の成績とは明らかに不一致であつたが個数の多い（$N=23$）の成績と一致したわけであり，個数の多い後者の成績が当然正確度が高いと考えられるので，このケースの不一致は希釈法の実験誤差に起因するものとの推定が可能と考えられた。

ディスク法推定 MIC 値が希釈法測定 MIC 値の存在範囲にどの程度含まれるかの検討：

前項では平均として見た場合，すなわち測定方法として見た場合の一致率検討を行なつたわけであるが，さらに実際に問題となるディスク法測定の個々の値が基準となる希釈法のMIC値の存在範囲にどの程度含まれるかの検討を要すると考えられた。そこで理論的に希釈法 MIC の 68.2% を含む標本平均 ± 標準偏差の幅と，95% を含む 95% 信頼区間（危険率 5% の棄却限界の幅）を求め 1 濃度推定 MIC 値がそれぞれにどの程度含まれるかを検討した。Table 5 に示すように前者には 67.1%，後者では 95.5% が包含された。

したがつてディスク法推定 MIC 値は個々の値としてみても基準となる希釈法 MIC 値の存在範囲に近い分布を示していることがたしかめられた。

希釈法 1 濃度ディスク法の再現性（バラツキ）の比較：

ついで測定精度としての再現性の程度（バラツキの大小）を各薬剤，各菌株の組合せのそれぞれについて不偏分散推定量を算出し，分散比を求めて，信頼度 95% で有意差の有無を検討した。Table 6 に示すように 24 ケース中 23 には有意差はみられず，1 ケースは有意の差でディスク法の方がバラツキが少く，したがつて再現性がよいとの成績であつた。

Table 6 キシヤク法と 1 濃度デイスク法による感性値（MIC）のバラツキの比較

薬剤	菌株	個数	不偏分散推定量 (F) $\frac{\Sigma(\bar{X}-X)^2}{N-1}$		分散比 $\frac{F_1}{F_2}$ $F_1>F_2$	$F(0.05)^{n-1}_{n-1}$	有意差の有無
			キシヤク法	デイスク法			
PC	No. 2	8	1.0714	0.87553	1.223	<3.79	−
	〃 3	8	2.8392	7.81071	2.750	< 〃	−
	〃 4	7	4.6190	2.10142	2.195	<4.28	−
	〃 5	8	2.1250	4.7455	2.233	<3.79	−
SM	No. 2	8	3.2678	1.5535	2.103	< 〃	−
	〃 3	8	2.2857	1.3200	1.731	< 〃	−
	〃 4	8	3.1250	0.4914	6.359	> 〃	+
	〃 5	8	4.5000	1.2942	3.476	< 〃	−
TC	No. 2	8	2.0000	0.8469	2.299	< 〃	−
	〃 3	8	1.4285	4.0141	2.809	< 〃	−
	〃 4	8	2.8571	3.8021	1.330	< 〃	−
	〃 5	8	2.2857	2.9012	1.269	< 〃	−
CP	No. 2	8	0.1250	0.2535	2.028	< 〃	−
	〃 3	8	1.4285	2.7641	1.566	< 〃	−
	〃 4	8	0.7857	0.7600	1.033	< 〃	−
	〃 5	8	1.1428	2.1364	1.869	< 〃	−
EM	No. 2	8	1.2678	1.3169	1.038	< 〃	−
	〃 3	8	3.1250	7.1971	2.303	< 〃	−
	〃 4	8	0.5000	1.2255	2.451	< 〃	−
	〃 5	8	1.2678	0.8192	1.547	< 〃	−
KM	No. 2	8	3.6741	1.6155	2.227	< 〃	−
	〃 3	8	2.2678	6.9735	3.074	< 〃	−
	〃 4	9	2.0277	2.4125	1.189	<3.50	−
	〃 5	7	2.8095	0.9014	3.116	<4.28	−

考案ならびに総括

以上，藤井，桑原博士により集計された感受性測定法としての希釈法とディスク法の成績を推計学的に処理して，次の結果が得られた。

薬剤と菌株の組合せとしての 24 の検討データ中，両方法による MIC 値平均は 22 がよく一致し，1 ケースでは不一致であつたが有意差はなく，1 ケースでは有意差をもつて不一致であつた。この有意差をもつて不一致のケースについて更に個数の多いデータが得られたので検討したところ，両者の不一致は希釈法側の成績にバラツキの多いため生じた結果との推定が可能であつた。またディスク法による個々の MIC 値も希釈法 MIC 値の標準偏差の区間（68% 区間），および 95% 信頼区間にそれぞれ 68.5%，95.5% が包含され，ディスク法 MIC 値が希釈法 MIC 値分布の範囲にほぼ同様に分布していることが証明された。また両方法による MIC の分散（バラツキ）の差を各データ毎に検討し，24 ケース中 23 に有意差はなく 1 ケースでは有意差をもつてディスク法のバラツキが少いという成績が得られた。

以上の成績から 1 濃度ディスク法

による MIC 値が希釈法による MIC 値を推定し得ないという結果は得られなかつた。むしろ希釈法にほぼ近い精度で希釈法による MIC 値を，0.048～100/ml の範囲内で推定し得たとの成績であつた。1濃度ディスク法が簡易検査ではあるが同時に行なつた最も基本的とされている2倍希釈法 MIC 値をある程度推定し得，またその測定精度においても必ずしも劣らない成績を示したことは1濃度ディスク法は次のような特徴を有しているからと考えられる。

すなわち1濃度ディスク法では阻止円の大きさから連続的な数値で MIC 値を表現しうるという不連続な値しか得られない希釈法に比し，明らかにすぐれた長所を有していること。希釈法ではその操作が繁雑でいかに研究室と言えども各薬剤ごとに毎日施行することは不可能で被検菌株を保存しておいてまとめて実施するのが現状である。細菌の感受性は保存中にその感受性の変動，または耐性感性菌の Population の変化することが知られており，希釈法による感性値と臨床効果との相関の不一致の一因として重視すべきことが紺野[1]により明らかにされている。しかし一方ディスク法では臨床材料からの起因菌の分離に引き続いて手軽に行なうことができるので，その臨床効果の推定に，またその解析に，希釈法よりも更に有要な場合の可能性もある。また希釈法ではその希釈を行なつた範囲内の MIC 値しか測定できず，高感性の菌（低 MIC の菌）では希釈範囲から外れて希釈法実験のやり直しを行なう必要に迫られることがある。一方1濃度ディスク法では，臨床的有用範囲内では阻止円の大いさからただちに高感受性菌の低 MIC をもある程度推定することができるわけで，やり直しを行なう必要はない。

また臨床的感受性測定として －～卅 などの定性的判定が重視慣用されているが，その判定の基準となる MIC 値の境界濃度は人により国によりディスクの製品により差があり，一定していない。例えば PC の極めて感受性卅 の境界濃度は B.B.L. ディスクの 2u(ディスク含有量) から TUNEVALL[9] の 0.1 u/ml と 20 倍程度もの差がある。それぞれの基準を定めた学者には，それぞれの意見を有していたものと思われ，その良否を軽々しく決定することはできない。しかもディスク法で起因菌 MIC 値が判定すれば臨床的にはその薬剤投与時の体液中濃度（例えば胆道感染，敗血症などでは胆汁内濃度，血中濃度など）とその薬剤の作用型式を参考に使用薬剤の選択に具体的指針が得られ，また他のいかなる報告とも対比することができるわけである。実際に私[6]はさきにディスク法により測定した起因菌に対する薬剤の MIC 値とその薬剤を与えた場合の臨床効果の集計を行ない，臨床効果と MIC 値との間にある程度の相関が成立し，主要薬剤についての臨床的感性耐性の限界に相当する MIC 値を推定することができた。また MIC 値が判明すれば細菌学的にも菌の耐性分布の地域的，年次的変動の観察に充分役立つことも考えられる。

しかし，藤井，桑原博士も述べておられるように今回の集計成績における測定値のバラツキは希釈法でもかなりみられたが，将来実験条件を更に規制することによつてさらにその幅をせばめ測定精度を向上させることができると思われる。同様に1濃度ディスク法についても今回の集計においても桑原教授[2]の記載によれば，指定培地としての感性ディスク用培地の使用が5カ所にすぎないことなど，その実験条件は希釈法と同様一定したものでなくかなりひらきのあつたものと思われる。従がつて1濃度ディスク法も希釈法と同様実験条件を更に規制することにより希釈法同様精度を向上させることができると推定される。

総　括

一般細菌検査として行なわれた場合のディスク法の測定精度を同様に一般検査として行なわれた場合の2倍希釈法の測定精度と比較する目的で，藤井[3]，桑原博士により行なわれた *Staph. aureus* 2株，*Str. faecalis* 1株，*E. coli* 1株の TC, CP, KM, SM, PC, EM に対する感受性測定値の集計成績を推計学的に検討し，つぎの成績が得られた。

1) 3濃度ディスク法と1濃度ディスク法の －，卅 などの定性的判定の再現性の検討は，判定基準に相当する MIC 境界濃度が1濃度法では示されているが，3濃度法では示されていない。また －～卅 の幅が1濃度法では広く，3濃度法ではせまい。すなわち判定基準が異なると考えられるので，その再現性の比較を行なつても方法の優劣を論ずる目的には役立たない。

2) 各種菌株，各種薬剤の組合せ 24 ケースについて1濃度ディスク法と希釈法の MIC 平均値は 22 がよく一致し．1ケースでは不一致ではあつたが有意差はなく，1ケースでは有意差をもつては不一致であつた。有意差をもつて不一致のケースについては更に個数の多い成績について検討したところ，両者の不一致は希釈法の成績のバラツキの大きいために生じたとの推定が可能であつた。

3) 1濃度ディスク法による MIC 値 191 のうち希釈法 MIC 値の標準偏差の区間（理論値 68%）に 68.5% が 95% 信頼区間に 95.5% が含有されディスク法による測定 MIC が希釈法測定値 MIC とほぼ同様範囲に存在していることが推定された。

4) 両方法による MIC 値の分散（バラツキ）の差を

検討し，24ケース中23には有意差はなく，1ケースではディスク法の分散が有意差をもつてすくないとの成績であつた。

以上のことから1濃度ディスク法によるMIC値が希釈法によるMIC値を推定し得ないという成績は全く得られなかつた。従がつて1濃度ディスク法でも将来更に実験条件を規定することにより精度の向上がみられ臨床検査としてある程度希釈法によるMIC値の推定に役立ち，更に利用価値を増大する可能性があると考えられた。

終りに有意義な企画を実施され，また貴重なデータを集計分配されてその自由な検討を許された石山俊次，藤井良知，桑原章吾博士に厚く感謝の意を表します。

文　献

1) 紺野昌俊：同一病巣内における菌の感受性の差について。最新医学 22(8)：1873～1880, 1967
2) 桑原章吾：感受性測定値はどの程度信頼できるか？ 最新医学 22(8)：1881～1885, 1967
3) 藤井良知：感受性測定とその周辺問題。最新医学 22(8)：1861～1863, 1967
4) 石山俊次，藤井良知，桑原章吾：昭和41年12月12日付配附印刷物
5) 桑原章吾：感受性検査成績からの薬剤の選択とその問題点。内科 20(2)：213～218, 1967
6) 金沢　裕：化学療法剤感受性測定法としてのディスク法。Chemotherapy 9(1)：50～67, 1961
7) Y. KANAZAWA : Clinical use of the disc sensitivity test. Antimicr. Agents & Chemoth. 1961：926～942, 1962
8) Y. KANAZAWA : Single disc method for minimum inhibitory concentration (MIC) determination. J. Antibiotics, Ser. A 19(4)：175～189, 1966
9) G. TUNEVALL & H. ERICSSON : Sensitivity test by disc method as a guide for chemotherapy. Antibiot. & Chemoth. 4(8)：886～893, 1954
10) 川上保雄：抗生物質の微生物学的検定法。化学の領域増刊 11：64～77, 1953

ACCURACY IN THE SINGLE-DISC METHOD FOR BACTERIAL SENSITIVITY DETERMINATION

With Special Reference to a Statistical Evaluation of the Data presented at the 13th East Japan Congress of Chemotherapy

YUTAKA KANAZAWA and TOSHIO KURAMATA
Niigata Railway Hospital

A total of 4 strains of organisms, *i.e.*, 2 strains of *Staphylococcus*, 1 of *E. coli* and 1 of *Enterococcus* were determined for their susceptibilities to a series of 6 antibiotics at several research laboratories by single-disc method, three-disc method and 2-fold dilution method and the results then tabulated by Dr. KUWAHARA and Dr. FUJII at 13th East Japan Congress of Chemotherapy.

Statistical analysis of the data at the fiducial level of 95% were performed with the results as follows :

1) With the single-disc method, values for MIC on which the criteria for quantitative response(*i.e.*, −, + *etc.*) can be based are given, whereas, with three-disc method, no MICs are shown. In addition, the interval between the upper and lower limit of criteria for quantitative response is substantially shorter with three-disc method than with single-disc method. Inasmuch as the two methods employ criteria for quantitative response not in common, it is of no import to attempt to institute a comparison of reproducibility of the data between the two.

2) No significant differences were found between the mean values for MICs obtained by single-disc method and 2-fold dilution method, in 23 cases of all the 24 different combinations of bacteria with drugs studied. Moreover, in 22 cases of all the 24 combinations, mean values of MICs obtained by the single-disc method were found implicit in the fiducial limit of means of MICs by the 2-fold dilution method, thereby stressing consistency between the two assay techniques. In one case, with significant difference, however, the discrepancy was assumed to be caused by the experimental errors in the dilution method from the results of the statistical analysis of the more numerous data further added.

3) Within the range of standard variances (theoretically 68% and the 95% confidencial range for assays by the 2-fold dilution method, 68.5% and 95.5% of a total of 191 parameters as obtained by the single-disc method were found existent respectively. It follows that the MIC values obtained by

the single-disc method are conjectured to share their distribution practically in fairly common with those obtained by the 2-fold dilution method.

4) Analysis of variance revealed the absence of significant differences between the two assay methods in 23 cases of the total of 24 different bacteria-drug combinations. In one case, variance for assays by the single-disc method was smaller than the one by the dilution method : the single-disc method in this case had greater reproducibility.

The results, therefore, in no way provided evidence in support of incapability of the single-disc method to estimate MIC values obtained by the 2-fold dilution method. Conversely, the results indicate that advantage is implicit in the ability of the single-disc method with the simple procedure to conjecture fairly accurately the values to be obtained by the 2-fold dilution method which requires rather cumbersome procedure.