

総 合 討 論

(座長 A : 佐藤 静夫・全農家衛研)

(座長 B : 村田 昌芳・広島大)

座長 A : 今回の 3 人の演者による講演の結果から、まず第一の問題として、本菌 (*P. multocida*) の感受性測定用培地に何を用いるのが適当かの問題があると思う。

各演者により、1) 高橋氏の場合は、接種菌のことも検討しており、トリプトソイブロス (TB) 培養時に菌株によって 10^9 (CFU/ml, 以下の標示も同様) と 10^8 のものがあり、これを接種時にどうするかの問題がでてくる。2) 次の問題点は測定用培地の問題で、高橋氏はいくつかの培地のうちで、DSA 培地 (同氏の成績中表 1 を参照) が良いといっている。阪野氏は DSA 培地も、もちろん良いが、入手やその他の応用面から、同等のもので、ミューラーヒントン培地 (MH) が適当だとしている。もう一点は高橋氏は合成抗菌剤 (サルファ剤など) の場合に 7.5% 溶血液加 MH を使っているが、その意義は後に伺いたい。さらにもう一つの問題点として、阪野氏が接種菌量を 10^7 /ml と提案している点は検討課題である。なお本菌用の培地として YPC 寒天 (村田ら) が多く用いられているが、これは MIC 測定の場合に問題がある。特に L-シスチンが入っていることが、逆に本菌の発育を低下させている (発育菌数や集落の大きさから) ので、MIC 測定上から問題があるとの意見 (阪野) もあった。この点を後に村田氏も加わって討議願いたい。

また、共通の問題としてサルファ剤 (SA) の耐性限界値をどうするかがある。この点も検討願いたい。

高橋氏に質問したいが、接種菌の元培養で、発育が良い株と悪い株があるとのことだが、接種菌液の調製時にどうしたか。

回答 (高橋勇) : TB の元培養を肉眼的に観察し、濁度の低い株は接種菌液調製時に濃くする (発育が良い株は 1,000 倍、悪い株は 100 倍希釈) ようにした。これでいずれの株もほぼ 10^6 /ml と

なる。

座長 B : 肉眼的にブイマンの濁度から本菌の発育を判定するというが、本菌は莢膜物質が産生されると菌数より (肉眼的に) 濃くみえる、という経験がある。

回答 (高橋勇) : 実際上、多数の株の MIC を測定するときに、全株の TB における菌数計算は困難なので、前述のような方法で、菌液を調製する方が、(どの菌株に画一的に希釈するよりは) 方法論としてはベターであろうと思う。

座長 A : 感受性測定培地への接種菌量は阪野氏は 10^7 /ml を提案し、高橋氏は 10^6 /ml を用いているが、これについての御意見を聞きたい。

質問 (高橋勇) : 阪野氏の成績では、接種菌数による MIC の差はあまりなかったようだが、どうか。

回答 (阪野哲也) : (接種菌量と MIC の関係について) OTC の場合は問題ないが、SA の場合 10^6 /ml と 10^7 /ml では差がでる。すなわち、 10^7 の場合に MIC が $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ あるものが、 10^6 以下だと $50 \sim 12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ に低下する。

座長 A : 安全圏をみると接種菌数が多い方がむしろ無難だということか。

回答 (阪野哲也) そう思う。それともう一点は菌数計算に使う寒天培地により、菌数が異なることがある。高橋氏と同様に菌数計算のときの培地には DSA 培地を用いているが、もし他の寒天培地を使うと半数とか一段階下の菌数となってしまふ。従って本菌の場合は菌数がいくらあったという場合に、どの寒天培地を用いて菌数検査したかということが問題となる。

座長 A : DSA 培地で測定した時に、 10^7 /ml 以下の菌数だと、いくつかの薬剤の場合に、低くなる (MIC 値が小さくなる) から、若干多い方が無難だということも云えるかと思う。

座長 B : その点だが、一般にグラム陰性桿菌は

接種菌数を多くすると感受性が低下する(MIC値が大となる)傾向がある。接種菌数はなるべく少ない方がよいとの意見があり、菌数が多いと(薬剤間)の差が出難くなるという人がある。

座長A: (接種菌量が) 10^6 /ml か、あるいは 10^7 /ml かについて、MIC に大きな差ができれば問題であろうが、一般の人は無難な点から後者の方がよいと考えるだろう。この点、沢田氏の意見はどうか。

回答(沢田拓士): 私は感受性試験の経験が多くはないが、(本菌は)ブイオンで18時間培養では、MH を使ったのでは生きてこないの、接種菌は6時間培養 (10^8 /ml) でやっている。18時間培養の成績はもっていない。

発言(阪野哲也): 私もかつて液体培地で一夜培養で接種しても菌が生えてこなかった経験がある。その時は DSA 培地でなく、感受性測定用培地を使ったためかも知れない。なお今回発表した最後の方の成績の場合、(接種菌の培養に)液体培地を使わず、DSA 培地の一夜培養菌をかき落して菌液とした。

座長B: 今の阪野氏の方法で、寒天培地からかき取って菌液を作ることは技術的に問題がある。生食水では菌が死ぬのでブイオンの10倍希釈を用いる方がよいという人もある。また沢田氏が言った培養早期の菌の方が活性が強いということはある。もう一点、高橋氏は培地に血清か何かを加えていたと思うが、どうか。

回答(高橋勇): サルファ剤、トリメトプリムの場合に血液を培地に加えている。これは化学療法学会で、これらの薬剤については7.5%ウマ溶血液を加えたMH(または類似培地)を使用するように指定しているので、それに従った。

座長B: 血液成分を加えるのは妥当であろう。これまでに感受性の測定法に関し、十分な結論がでなかったが、本日はどうするか。

意見(高橋勇): 事務局の立場でいうと、阪野氏が方法について詳しく検討しているようなので、このことは本日の演者、座長で小委員会を作り、十分時間をかけて後日討論したらどうかと思う。

意見(某氏): TB で培養すると株により発育が悪いものがある。発育のバラつきがないよう促進物質を加えることも一課題である。

座長B: TB の場合はブドウ糖が入っているの、菌増殖に伴う酸性化により菌死にやすくなるかと思う。感受性測定にMHとDSAのどちらかに統一するとすれば、どちらがよいだろうか。

意見(高橋勇): 私はMHを本菌で使ったことがないので、何ともいえない。先に示した成績の通り、MHの変法である感受性測定用寒天培地(ニッスイ)では本菌が発育しなかったの、一般の薬剤の場合にはDSA培地を用いた。

座長B: 本菌はMHのみでは発育が悪くはないのか。

回答(阪野哲也): MHはDSAより発育は劣るが、本菌がある程度の発育を示し、感受性試験に使用が可能である。

座長B: 先ほど高橋氏から提案があった、関係者による小委員会であるべく早く標準法をまとめる方向でお願いしたい。

参考意見(高橋欣也・日生研)本菌の培地について私の経験をいうと、ハートインュジョン培地に寒天を加えると発育が悪くなるが、これは寒天中の不飽和脂肪酸の影響と思われた。しかしOxoid No. 1の寒天を用いた時は発育がよかった、ということがあった。

座長B: 以上で討論を終りたい。

(編集部より) 今回は以上のように、数多くの意見や質疑応答があった。その内容についてそれぞれの発言者と回答者に内容メモをお願いしたが、時間の関係などで提出がなかった場合が多かった。そこで編集部の責任において当日の録音テープから、討論等の要点を再生、集録した。録音内容の要約と文章化には困難が伴ったが、話者の主趣はできるだけ正しく読者に伝えるよう努力した。なお発言内容記事中カッコ内の文は編集部で補足したものである。しかし意味のとり違いなどがないとは限らない。その場合は、お申し出いただき、後日訂正したい。