新しく考案した *Helicobacter pylori* 輸送用培地 (HP 培地) の有用性

三菱化学ビーシーエル・化学療法研究室¹⁾, 大分医科大学第2内科²⁾

小林 寅詰¹⁾ 長谷川美幸¹⁾ 藤岡 利生²⁾ 那須 勝²⁾

(平成6年10月3日受付)

(平成6年11月4日受理)

Key words: *H. pylori*, transport medium

Helicobacter pylori は1983年に Marshall らによって発見されて以来, 本邦においても胃・十二指腸潰瘍の患者から高頻度に分離され, 潰瘍の形成との関連が注目されている。本菌は発育条件が厳しく, 検体の取扱い, 輸送には十分な注意が必要である。しかし本菌の検出を目的とした試料の保存性や輸送条件についての検討は不十分で, しばしば既存の輸送培地に問題があることを示唆する結果が認められた。今回, 私たちは新しく考案した *H. pylori* 輸送用培地 HP 培地と, その他の輸送培地 3 種類の試験菌の保持能力を比較したのでその結果を報告する。

材料と方法

輸送培地として, 当研究室で考案した *H. pylori* 輸送培地 HP 培地, ポルタジャーム ピロリ (bioMérieux 社), TCS ポーター (クリニカルサプライ), キャリーブレア培地 (日水) の 4 種を用いた。なお HP 培地はチオグリコレート培地をベースに馬血清, ヘミン, メナジオンおよび選択剤を加えた半流動の高層培地である。

胃潰瘍患者の胃粘膜から初代分離した *H. pylori* を 3mm 平方のろ紙に 10^6 CFU しみ込ませ, 各輸送培地に接種した。HP 培地は培地上部より 1 cm の位置に接種した。各培地とも室温 (約 20°C)

および 4°C で 96 時間まで保存し, 経時的に採取し, 培養した。また実際の患者より内視鏡で隣接した部位から 2 検体を採取し, 一方は速やかに培養を行い, もう一方は HP 培地に接種後, 4°C で輸送し, 培養を行った。輸送に要した時間は約 36~48 時間である。分離培地はコロンビア羊血液寒天培地 (BBL) および変法スキロー培地 (自家製) を用い微好気条件下で 35°C, 4~7 日間培養を行った。

結果と考察

Fig. 1 の a) および b) で各培地を用いて 4°C および室温条件における試験菌の保持能力を比較した。各培地とも低温条件で *H. pylori* の保持能力が優れることを示している。

両条件において HP 培地の *H. pylori* の保持能力が最も高く, 4°C では 36 時間まで, 20°C では 12 時間まで生菌数の減少は全くみられなかった。両条件とも HP 培地に次いでポルタジャーム ピロリ, TCS ポーターの順となりキャリーブレア培地の保持能力は最も低かった。この成績から HP 培地が *H. pylori* の輸送培地としての能力を有することが示唆された。

Table 1 に実際に潰瘍部より採取した臨床材料を HP 培地で輸送後および臨床材料の採取直後に培養した際の *H. pylori* の培養成績を比較した。18 検体のうち, 採取直後および輸送後にいずれも 11 検体から *H. pylori* を検出した。採取直後

別刷請求先: (〒174) 板橋区志村 3-30-1

三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

小林 寅詰

平成 7 年 1 月 20 日

Fig. 1 Comparison of variability of *Helicobacter pylori* GS9410-2 in different transport media

(一), 輸送後(+), その逆も各1例ずつ認められたが, その他は全て培養結果が一致した. 輸送培地ではしばしば基礎実験で得られた保持能力が, 実際の患者試料の輸送条件では反映されないことがある. その理由としては, 調製した菌液にはない生体の防御因子が関与するためである. しかし今回得られた HP 培地を用いた輸送後の成績は, ベッドサイドで実施した成績とほとんど一致した. 特に室温より 4°C における保持能力が優れている点は既報¹⁾の他菌種の報告と同様である. 通常, 栄養要求性の厳しい微好気性菌の *Haemo-*

Table 1 Growth rates of *H. pylori* from clinical specimens transported using HP medium

Patients	Site of isolation	Growth of the bacteria after cultivation	
		No transport	After transport
M. H	pyloric gland	—	—
M. H	fundic gland	—	—
N. M	pyloric gland	+	+
A. K	pyloric gland	—	—
A. K	fundic gland	—	—
T. S	pyloric gland	+	+
T. S	fundic gland	—	—
S. T	fundic gland	+	+
M. M	pyloric gland	+	+
M. M	fundic gland	+	+
W. N	pyloric gland	+	+
G. T	pyloric gland	—	+
G. T	fundic gland	+	+
K. K	fundic gland	+	—
O. S	pyloric gland	—	—
S. S	pyloric gland	+	+
S. S	fundic gland	+	+
S. R	fundic gland	+	+
Positive/Total		11/18 (61.1%)	11/18 (61.1%)

philus influenzae, *Neisseria gonorrhoeae* 等は輸送培地中で速やかに減少するといわれている¹⁾²⁾. しかし HP 培地は 4°C で 72 時間まで安定に維持する *H. pylori* の輸送には非常に適した培地であると考えられる.

文 献

- 1) 草野朱美, 手塚孝一, 森 節子, 松島康道, 大窪度, 小林寅詔, 池田文昭, 西田 実, 五島瑳智子: 各種の病原細菌の輸送条件に関する検討—市販の輸送培地中の生菌数の消長について—. 臨床と微生物, 12: 459—463, 1985.
- 2) Appelbaum, P.C., Spangler, S.K., Crist, R. & Crist, A.E. Jr.: Survival of bacteria in Difco culture swab and marion culturette II transport systems. J. Clin. Microbiol., 26: 136—138, 1988.

Evaluation of a New Transport Medium (HP Medium) for *Helicobacter pylori*

Intetsu KOBAYASHI & Miyuki HASEGAWA

Chemotherapy Division, Mitsubishi Kagaku Bio Clinical Laboratories, Inc.

Toshio FUJIOKA & Masaru NASU

Second Department of Internal Medicine, Oita Medical University