

3種併用効果の基礎実験. Streptomycin, PAS および Isoniazid

を同時に含む培地環境に継代した結核菌の研究

第2報 継代株から分離した one-step mutants に関する研究

宮 本 泰

神奈川県衛生研究所

受付 昭和31年8月31日

第1報¹⁾においては、SM, PAS および INH を同時に含む培地に、H₃₇Rv, H₂, H₇RvR-SM, BCG 等結核菌株4種類をそれぞれ継代した場合のそれらの株の薬剤感受性の推移について述べ、それらのいずれの株においても、3種薬剤のうちの少なくとも1種類に対しては感受性が何時までも維持され、そのために3種併用の環境では感受性の phenotype を示すこと、さらにこの場合、感受性が維持される薬剤の種類は菌株によっても異なりうることを述べた。本報告においては、各種の薬剤環境の下で、全 population が呈するこれらの感受性ないし耐性の発現の機構を、構成単位である個々の細菌細胞の呈する感受性ないし耐性を基礎として考察分析するために、第一段階としてこれらの mixed population より個々の細菌細胞——正確には“clone”すなわち“単一の細胞に由来し genotype の等しい集落”ともいうべきであるが、以下本文においては“細菌細胞”をこの意味に代用してある——を分離する実験を行い、分離した個々の集落——以下本文においては“集落”は“clone”の意味に使用する——について、各種薬剤環境の下における感受性を調べた。以上の成績について報告ならびに考察を行う。継代した4菌株のうちの1株 H₃₇Rv のみについて本実験を行った。

実験方法

菌株ならびに接種菌液：3種薬剤併用の環境、すなわちそれらの等濃度を同時に含む Kirchner 液体培地（以下K-培地と略）に継代を繰返して14代を経た H₃₇Rv株を使用した。本株の各薬剤別感受性はSM 1γ, PAS 10γ, INH 2.5γであつた。この株を小川培地上に増菌した菌塊をとり、水晶球入り丸底硬質ホルメンにて型の如く均等菌液を調製し、10mg/mlの菌液とした。このものの0.1ml すなわち湿菌相当量1mg あてを1本の培地に接種する方法で、全量360mgの菌量を薬剤含有の培地360本に接種し、耐性菌の直接分離を試みた。この菌液の生菌単位は小川培地では1mg当り 17×10^5 コ、また Kirchner寒天培地（以下K-寒天培地と略）上では 6.5×10^5 コであつた。次節に述べるように、各薬剤ならびに各濃度段

階別に培地を調製する必要のため、その上に接種する菌液にはそれぞれ各薬剤別各濃度別に培地のそれと同一の薬液を同濃度含ませるように接種直前にそれぞれ計算量の薬剤を加えた。

耐性菌分離培地の調製：上述のように耐性菌の直接分離のための培地として、1%小川培地とK-寒天培地の2種類を採用したが、両培地はこれを更にSM-, PAS-, INH-含有培地の3種類とし、かつ含ませる薬剤濃度を2段階として、SMは10γ, 100γ, PASは100γ, 1000γ, INHは1γ, 10γの如く種別し、各段階30本あて、各薬剤別には60本あて、総計180本の分離用培地を中試験管に7mlあて分注して斜面とした。すなわち薬剤含有小川培地とK-寒天培地をそれぞれ180本あて、計360本を調製した。湿菌相当量1mg あて接種後数日間は37°Cの孵卵器中に斜位に保ち、斜面上の液体が乾固した後にゴム栓に変えて立位に培養を続けた。

検出集落の算定：接種後25日、50日、75日の3回に亘り、小川培地およびK-寒天培地上の発育集落数の有無を調べ、かつ算定を行った。

分離菌の各薬剤別感受性試験：分離された各集落のうちで、発育が良好で大集落を形成したものは例外であるが、他は概して形が小さかつたため、これを1代だけ薬剤を含まない小川培地に増菌したものについて、この菌塊をとつて前記同様の操作で均等菌液となし、薬剤を含ませたK-液体培地により感受性ないし耐性発現の有無および高耐性の有無を各薬剤について調べた。その目的のためにSM, PASではそれぞれ10γおよび100γの2種類の濃度を、またINHでは1γおよび10γの濃度を採用した。各濃度とも2本あての薬剤含有K-培地を用い、別に薬剤を含ませない対照培地を2本と3種類の薬剤を同時に1γあて含ませた3薬剤併用培地2本とを挿入した。培養3週の管底における深部発育の程度を、肉眼による発育程度に応じて、一十十十十十十十の如く、一より十まで8種類に区別して記載した。

Catalase 反応試験：30% H₂O₂ 水を集落に注いで発泡を見る方法によつた。

実験成績

分離菌 (one-step mutants) の数と集落発現の様式: 75日以上に亘る培養の期間を通じて, 180本の薬剤含有 K-寒天培地からは総計 6 コの集落を得たのみであった。その内分けは SM 10 γ より 5 コ, PAS 100 γ より 1 コであつて, SM 100 γ , PAS 1000 γ および INH 10 γ , 100 γ よりは 1 コも分離されなかつた。これに反して薬剤含有小川培地からは総計 244 コの集落を分離しえた。その内分けは SM 10 γ 培地より 30 コ, 100 γ より 1 コ, PAS 100 γ より 192 コ, 1000 γ よりは分離されず, INH 1 γ より 19 コ, 10 γ より 2 コの集落である。これらの集落発生の状態を時間的に追突したが, PAS 100 γ よりのそれには特異な所見を認めた。すなわち培養50日の観察では 100 γ 培地に僅かに 2 コの集落を見出したのみであつたにもかかわらず, その後の25日間に残りの 190 コの微小集落の発育を見たのである。しかして75日以後には更に新たな集落の発生を認めなかつた。

分離率ないし変異率 (Mutation rate) の値: 接種された全生菌数に対するこれらの分離集落数の比率から, この継代14代の population 中に含まれる耐性菌の出現頻度すなわち変異率ないし分離率を, 各薬剤別に, また培地の種類別に算出することができる。表1はこれらの分離集落数とそれぞれの分離率を示す。SM 10 γ 培地からの分離率は小川培地では 5.9×10^{-8} であつて, 第1報に述べたように感受性試験の成績の上で SM に対して感受性が保たれていたことが分離率の上にも現われている。

表1 3種併用環境に継代した H₃₇Rv 株から各種薬剤含有培地上に分離された one-step mutant の数とそれらの分離 (変異) 率

含有薬剤 および濃 度 (γ/mg)	小川培地		Kirchner 寒天培地	
	分離 集落数	分離 (変異) 率 Mutation Rate	分離 集落数	分離 (変異) 率 Mutation Rate
SM {	10	5.9×10^{-8}	5	3×10^{-7}
	100	2×10^{-8}	0	—
PAS {	100	3.8×10^{-6}	1	5×10^{-8}
	1000	—	0	—
INH {	1	3.7×10^{-7}	0	—
	10	4×10^{-8}	0	—

接種菌量: 小川培地…… 1.7×10^7 生菌単位/tube/mg
Kirchner 寒天培地…… 6.5×10^8 生菌単位/tube/mg
各濃度段階 30本あて, したがって各薬剤別には 60本あての培地を用い,
1本に 1 mg の菌を接種した

また, 第1報の感受性試験の成績に一致して, PAS に対しては小川培地では明らかに分離率が正常値よりも大きく 3.8×10^{-6} を示す。しかるに K-寒天培地でこれらの値が小さく分離集落数が少ないか全く分離されなかつたのは, 小川培地では発育しえた耐性菌が, この培地では菌自身の発育要求の異常のために, 発育が不可能であつ

たためと考えられる。

分離菌 (one-step mutants) の各薬剤に対する感受性および耐性: 小川培地より分離された集落, すなわち SM 10 γ よりの 30 コ (Si, $i=1, 2, \dots, 30$), PAS 100 γ 培地上に遅れて出現してきた 190 コのうちの任意の 38 コ (Pj, $j=1, 2, \dots, 38$) および同じく早期に分離された 2 コ (Pj, $j=39, 40$), INH 1 γ よりの 19 コ (Ik, $k=1, 2, \dots, 19$) および 10 γ よりの 2 コ (Ik, $k=20, 21$) について, また K-寒天培地より分離された集落の一部, すなわち, SM 10 γ よりの 2 コ (SK₁, SK₂), PAS 100 γ よりの 1 コ (PK₁) につき, それぞれ SM, PAS, INH の耐性限界濃度における発育の有無と高耐性の有無を調べた。別にこれら 3 種薬剤を 1 γ あて含む併用培地における発育をも検した。表2, 表3, 表4はこれらの成績ならびに同時に行つた catalase 反応の成績を示す。

Si の性状は, 表2に見られるように, 一般的には 3 種薬剤のうちの 2 種に対して耐性を示し, 他の 1 種に対して感受性が保たれていた。すなわち, 感受性ないし耐性に関してこれらの分離菌の母株の混合 population が示した性質と相似の性質を構成単位である個々の細菌細胞が示した。ただしこの場合には SM 含有培地より分離を行つたため, SM 耐性を示す菌が過半数を占め, その場合には INH 感受性が保たれていた。しかるに S₁ より S₁₃ までの菌において, S₁, S₇, S₉ 等の例外を除いて著明なことは, これらの菌が SM 10 γ 含有培地より分離されたにもかかわらず, 分離後 2 代目の感受性試験時に既に SM 10 γ に感受性を示していたことである。この場合には S₁₄~S₃₀ までの菌と異なり, INH 耐性が現われていた。いずれにしてもこれらの Si の大多数は S₁, S₇, S₉, S₁₃ を除けば, いずれも 2 重耐性を示し, さらに S₁, S₇, S₉ の 3 株に至つては 3 重耐性を示した。しかして PAS および INH 含有培地からは 3 重耐性菌は分離されなかつたから, 3 重耐性菌の分離率は $3/1.7 \times 10^6 \times 30 \times 3 = 2 \times 10^{-8}$ であつて, この値は通常の単一の薬剤耐性菌の分離率に匹敵する低い値であつた。

全体として, SM 10 γ 培地から分離された 30 コの菌のうち 9 コまでが, すなわちおよそ 30% の分離菌が phenotype または genotype に関して感受性復帰を示したことは注目すべきことである。

次に, 表3の Pj の性状については, 一般的に K-培地における発育が不良であつて, 薬剤を含まない対照培地にも遂に発育しえなかつた菌が 41 コ中 12 コ存在した。しかしこのものも小川培地には良好な発育を示し, 明らかに発育要求の異常を考えさせられた。これらの集落のうちで, また対照培地に + 以上の発育を示したものでも, PAS 10 γ 培地には全く生えず, phenotype または genotype に関して感受性復帰を示したものがおよそ 30% 存在した。いずれにしてもこの群では PAS 耐性のみが現わ

表2 SM培地上に分離された one-step mutants Si (i=1, 2, ……30) および SK₁, SK₂等の各種薬剤環境に対する感受性と catalase 反応性

No. Si	対照培地 (0γ)	INH		SM		PAS		3種併用環境 SM, PAS, INH (各 1γ)	catalase
		(1γ)	(10γ)	(10γ)	(100γ)	(10γ)	(100γ)		
*** 1	卅	+	-	+	-	+	-	-	+
▽ 2	卅	卅	-	-	-	+	-	+	+
▽ 3	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4	卅	卅	-	±	-	+	-	+	+
▽ 5	卅	卅	-	-	-	卅	-	+	+
▽ 6	+	+	-	-	-	+	-	-	+
*** 7	+	+	-	+	-	+	-	-	+
▽ 8	卅	卅	-	-	-	卅	-	-	+
*** 9	卅	卅	-	+	-	卅	-	-	+
▽ 10	卅	卅	-	-	-	+	-	-	+
▽ 11	卅	卅	-	-	-	±	-	-	+
▽ 12	卅	卅	-	-	-	+	-	-	+
▽ 13	卅	-	-	-	-	-	-	-	+
14	卅	-	-	+	-	+	-	-	+
15	卅	-	-	卅	-	+	-	-	+
16	卅	-	-	+	-	+	-	-	+
17	卅	-	-	卅	-	+	-	-	+
18	卅	-	-	卅	-	+	-	-	+
19	卅	-	-	卅	-	卅	-	-	+
20	卅	-	-	卅	-	+	-	-	+
21	卅	-	-	+	-	+	-	-	+
22	卅	-	-	+	-	+	-	-	+
23	卅	±	-	+	-	+	-	-	+
24	+	-	-	+	-	+	-	-	+
25	卅	±	-	+	-	+	±	-	+
26	卅	-	-	卅	-	+	-	-	+
27	+	-	-	+	-	+	-	-	+
28	+	-	-	±	-	±	-	-	+
29	卅	±	-	卅	-	卅	-	-	+
30	卅	-	-	+	-	+	-	-	+
SK ₁	卅	+	-	+	-	±	-	-	+
SK ₂	卅	+	-	+	-	-	-	-	+

Kirchner 液体培地に各薬剤を含ませ各段階 2本ずつを用いた。管底における発育程度を— ± + ++ 卅卅卅の 8段階に階級づけて記載した。SK₁, SK₂は Kirchner 寒天よりの分離菌 ***る 重耐性菌 ▽ SM感受性復帰を示した菌

れ、2重、3重耐性の傾向を示す菌は 5コ (P₃₅, P₁₇, P₁₉, P₂₀, P₂₁) にすぎなかつた。PAS 100γより早期に分離された 2コ (P₄₀, P₄₁) および PAS K-寒天培地より分離された 1コ (PK₁) は表に見る如く、対照培地に発育しえなかつた。

次に表4の Ik の性状について見ると、これらの分離菌は Si と同様であつて、概して 2重耐性すなわち INH-PAS耐性であり、この場合には SMに対してやはり感受性が保たれていた。また表2の Si と異なり、INHに対しては大多数が 10γ耐性を示した。Ik のすべてが catalase 反応陰性を示したことは、同じく INH耐性を示した Si

の一部が catalase 反応陽性を示したこととよき対応をなしている。

考 案

各種薬剤環境において、原株すなわち混合 population 全体が呈する耐性および感受性について第1報に報告を行つた所見と相似の所見を、構成単位である個々の細菌細胞——正確には“clone”——が示したことは興味深い点である。液体培地での最低発育抑制濃度の読みはことに全 population 中に含まれる比較的少数の耐性菌によつて支配されるから、本実験において、耐性領域から採

表 3 PAS 培地上に分離された one-step mutants Pj (j=1, 2, ……40) および
PK₁等の各種薬剤環境に対する感受性と catalase 反応性

No. Pj	対照培地 (0γ)	INH		SM		PAS		3種併用環境 SM, PAS, INH (各 1γ)	catalase
		(1γ)	(10γ)	(10γ)	(100γ)	(10γ)	(100γ)		
1	+	-	-	-	-	-	-	-	+
2	+	-	-	-	-	+	+	-	+
3	+	-	-	-	-	-	-	-	+
4	+	-	-	-	-	+	-	-	+
5	±	-	-	-	-	±	-	-	+
6	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	±	-	-	-	-	-	-	-	+
10	±	-	-	-	-	-	-	-	+
11	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	+
13	+	-	-	-	-	-	-	-	+
▽ 14	+	-	-	-	-	-	-	-	+
▽ 15	+	-	-	-	-	-	-	-	+
▽ 16	+	-	-	-	-	-	-	-	+
17	+	±	±	-	-	±	-	-	+
▽ 18	+	-	-	-	-	-	-	-	+
19	+	±	-	±	-	+	+	-	+
20	+	±	-	±	-	+	+	-	+
21	+	-	-	±	-	+	-	-	+
▽ 22	+	-	-	-	-	-	-	-	+
23	+	-	-	-	-	±	-	-	+
24	+	-	-	-	-	+	-	-	+
25	+	-	-	-	-	+	-	-	+
26	+	-	-	-	-	±	-	-	+
27	±	-	-	-	-	±	-	-	+
28	-	-	-	-	-	±	-	-	+
29	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30	+	-	-	-	-	+	+	-	+
31	+	-	-	-	-	+	-	-	+
32	-	-	-	-	-	+	+	-	+
33	+	-	-	-	-	+	+	-	+
34	-	-	-	-	-	+	+	-	+
35	+	-	-	-	-	+	-	-	+
36	+	-	-	-	-	+	+	-	+
37	+	-	-	-	-	+	-	-	+
38	+	-	-	-	-	+	-	-	+
39	-	-	-	-	-	-	-	-	+
40	-	-	-	-	-	-	-	-	+
PK ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Kirchner 液体培地に各薬剤を含ませ各段階 2本ずつを用いた。管底における発育程度を - ± + ++ +++ の 5段階に階級づけて記載した。PK₁ は Kirchner寒天よりの分離菌 ▽…明らかに PAS 感受性復帰を示した菌

取を行った one-step mutant の感受性が原の母集団のそれと類似を示してもよいわけであろう。原株である H₃₇Rv株は SM感受性, PAS耐性, INH耐性を示したの

に対して, 分離された細菌細胞の方も, PAS含有培地からのものはPAS耐性を, INH含有培地からのものはINHおよび PAS 耐性を示し, 両者とも SM 感受性は保たれ

表4 INH培地上に分離された one-step mutants Ik (k=1, 2, …21)の各種薬剤環境に対する感受性と catalase 反応性

No. Ik	対照培地 (0γ)	INH		SM		PAS		3種併用環境 SM, PAS, INH (各 1γ)	catalase
		(1γ)	(10γ)	(10γ)	(100γ)	(10γ)	(100γ)		
1	+	±	±	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	-	-	±	-	-	-
3	+	+	+	-	-	+	+	-	-
4	+	+	+	-	-	+	+	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	-	-	-	-	-	-	-
8	+	+	+	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	-	-	-	-	-	-
11	+	+	+	-	-	+	+	-	-
12	+	+	+	-	-	±	-	-	-
13	+	+	+	-	-	+	-	-	-
14	±	-	-	-	-	+	+	-	-
15	+	+	+	-	-	+	-	-	-
16	+	+	+	-	-	+	-	-	-
17	+	+	+	-	-	+	-	-	-
18	+	+	+	-	-	+	-	-	-
19	+	+	+	-	-	-	-	-	-
20	+	+	+	-	-	±	-	-	-
21	+	+	±	-	-	±	-	-	-

Kirchner 液体培地に各薬剤を含ませ各段階2本ずつを用いた。管底における発育程度を- ± ++ + + + + + + の8段階に階級づけて記載した。I₂₀, I₂₁はINH 10γよりの分離菌, 他は1γよりの分離菌である

ていた。さらに SM 10γ含有小川培地から採取された30コの中の9コは SM 培地から分離されたにもかかわらず、1回増菌を行つた次の代の菌群では既に SM 10γに対して、phenotype または genotype に関して感受性を示し、そのうちの7コは他の2薬剤に耐性を示して、それが分離された原株の phenotype と相似の性質を示した。S₁₄よりS₃₀までの株はSM 10γ耐性を示したが、このものはINH 1γには感受性を示し、その代りにPAS耐性を示すことによつて2重耐性を保持した。すなわち表2全体を通覧するときには、これら3種薬剤に関する2重耐性の発現に際して、対になるべき薬剤の組合せに関しては、何等か選択性が存在するようであつて、一般的には SM-INH の2重耐性の成立は回避されるような傾向が見られた。ただし培地の環境が変ればこの関係は破れ、K-寒天培地から分離された2株SK₁ SK₂においては初めて SM-INH 2重耐性が見られた。3重耐性の成立が少ないことに対しても、これと同様な選択的な機構が働いているかも知れないことを否定することはできない。

前述のように、SM-PAS-INH 3重耐性菌は3コ分離され、分離率は 2×10^{-8} であつたが、これによつて、3種併用環境に継代を14代継続した菌群から3重耐性菌の

出現する頻度は、単一の薬剤に対する耐性菌出現頻度にほぼ等しい値であることが判つた。しかもこれら3重耐性を示した菌S₁, S₇, S₉のいずれもが、3種併用の培地環境には感受性を示したのである。

2重耐性、3重耐性の如何にかかわらず、S₂, S₄, S₅の3例を除き、他の分離菌のすべて (P_j, I_kのすべても含む) が、3種併用の培地環境には感受性を示した。このことは臨床との関連においても重要な事柄と思われる。

耐性培地上に分離されたにもかかわらず、一代増菌の後において、すでに3種薬剤のすべてに感受性を示した分離菌を数株えたことは注目すべきことである。S₁₃, P₁₄, P₁₅, P₁₆, P₁₈, P₂₂等がそれである。

SM 10γ 小川培地より分離された30コのうち9コが、また、PAS耐性培地よりの分離菌のうちで対照培地に以上の発育を示した16コの中の5コが、phenotype または genotype の上で感受性復帰を示した。すなわち、前者では S₂, S₃, S₅, S₆, S₈, S₁₀, S₁₁, S₁₂, S₁₃ の9コ、後者では P₁₄, P₁₅, P₁₆, P₁₈, P₂₂ の5コがそれである。この成績から、3種薬剤に曝露されてきた原株の population 中のSM耐性およびPAS耐性菌のおよそ1/3が phenotype または genotype に関して感受性復帰を示す

ことが判つた。これに反して分離されたINH耐性菌にはこの現象は見られなかつた。このような感受性復帰の原因について、それが genotype に関する真の感受性復帰であるとすれば分離後一代増菌を行つた際に population の交代が行われ、その間に感受性 population の急速な増殖があつたためとも説明されるが真相は詳かでない。

第1報において、原株について、INH耐性の読みが、K-培地と卵培地とで異なることを述べたが、このような性質は分離されたこれらの細菌細胞についても、その中のINH耐性のものについては認められた。Fischer, Knoxらの研究によつてINH耐性菌の発育要求の問題は新たな進展を見せつつあるので、著者らの研究によつて新たな課題が生じてくるまで成績の報告を行わない予定である。

ここでCatalase反応性とINH耐性との関係について二、三の考察を行うと、表2と表4を比較して判ることは、本反応陰性なる性質はINH耐性ないしその耐性の程度によつて一義的に規定されるものでないことが判る。INH耐性を示すone step-mutantsがSM培地より分離され、これらの一つ一つはgenotypeの同一な、単一細胞に由来するものと考えられる集団、すなわちcloneであると考へた方が妥当であつて、mixed populationではないにもかかわらず、すべて本反応陽性であつた。これに反して、表4より判るように、INH培地上に分離されたone-step mutantsはすべて本反応陰性を示した。すなわち、分離されるまでのその集落に含まれるgenerationのみに関する履歴の如何により、集落の発育過程においてINHとの接触の機会を持つか否かによつてcatalase反応性が規定されるように思われる。

採取された各種の細菌細胞の中には、このようにINH耐性ならびに感受性なる両種類のものを含むことが判り、INH耐性を示した原株population中にもINH感受性菌が混在したことが明らかになり、この点では第1報における予想は正当であつた。しかしSiの一部に見られるように、1コの細菌細胞にINH耐性とcatalase陽性の両性質が共存することは、その際には予想しなかつたところである。この種のcatalase反応陽性のINH耐性菌はモルモットに対して菌力の低下を示さなくとも不思議ではない。したがつて3種併用環境に継代を行つた原株H₃₇Rvがそうであつたように、INH耐性にかかわらず菌力の低下を見ない場合に、その原因をmixed populationのみに帰せしめる必要はないことが判つた。

耐性領域から採取したこれらの原株の構成員である細菌細胞の感受性および耐性を分析総合することによつて、原株のpopulation phenotypeの構成に関して、将来一層詳細な知見を得ることができると思われる。

総括

1) 3種併用の液体培地環境に継代を14代継続したH₃₇Rv株より、SM, PASおよびINHに対するそれぞれのone-step mutantsを、これらの薬剤を含む小川培地とK-寒天培地上に分離し、原株populationの構成員であるこれら個々の細菌細胞の感受性ないし耐性を、原株の感受性ないし耐性phenotypeと比較対照した。

2) K-寒天培地からは総計僅かに6コの集落を得たにすぎず、分離率が低かつたが、小川培地では総計244コを数えた。小川培地ではSM 10 γ において 5.9×10^{-8} 、PAS 100 γ において 3.8×10^{-6} 、INH 1 γ において 3.7×10^{-7} の耐性菌分離率をそれぞれ示し、原株の感受性の程度が分離率の上にもよく現われていた。

3) SM培地およびINH培地から分離した細菌細胞は概して2重耐性を示し、PAS培地からのものは概してPASのみに耐性を示した。明らかな3重耐性菌はSM培地上に3コ分離され、その分離率は 2×10^{-8} であつて、14代継代の後においても、このように単一薬剤に対する耐性菌分離率に等しい値にとどまつた。

4) SM 10 γ 培地からの分離菌にかかわらず、次の代の感受性試験に際して、すでにSM感受性の復帰を示した菌はINHおよびPASの2重耐性を示し、これに対して、SM耐性の維持されていた菌の場合は、同時にPAS耐性による2重耐性を示し、その場合にはINHは感受性であつた。しかし、SM-INHの2重耐性の成立は、一般的には回避される傾向であつた。すなわち、これらの2重耐性を呈する薬剤の組合せには選択性の傾向が見られた。

5) 耐性培地から分離されたにもかかわらず、次の代の感受性試験に際して3種薬剤のすべてに対して感受性を示した菌が得られたこと、ならびに、3種のうちの1種すなわちそれが分離された培地の薬剤に対して、phenotypeまたはgenotypeの上で感受性復帰を示した菌が得られたことは、臨床との関連において注目すべきことである。分離されたSM耐性菌およびPAS耐性菌のうちで十以上の良好な発育を示したものの殆どが分離後2代目において既に感受性復帰を示した。INH耐性培地からの分離菌にはこの現象は見られなかつた。この感受性がgenotypeに関する真の感受性復帰であるか、あるいはphenotypeに関する見かけの感受性復帰であるかについては今後の研究にまたねばならない。

6) 2重耐性のみならず、3重耐性の菌においても、3種併用の培地環境においては感受性を示し、発育が完全に抑制されたことは臨床との関連においても注目すべきことである。

7) catalase反応性については、それがINH耐性ないしその耐性度によつて、一義的に規定されるものでなく、集落の発育過程にINHとの接触の機会があつたか否かの履歴によつて規定されるように思われた。

8) 第1報に図示した phenotypeの模式図は、混合 population 全体に関するものであつたが、今回の成績によつて、耐性領域から採取したそれらの構成員である個々の細菌細胞の中にも、これと相似の感受性 mosaic を呈するものが多数存在することが明らかになつたことは興味深い。

擱筆に臨み、御校閲を賜つた児玉威所長ならびに国立予防衛生研究所結核部長柳沢謙両博士に深謝する。

引用文献

- 1) 宮本 泰・上野一恵：結核，30：659，1955.