

# 耐性結核菌感染例から分離した菌の毒力について

宮 部 潤 子

国立東京第一病院内科 (医長 小山善之)

受 付 昭 和 34 年 4 月 13 日

結核の化学療法の発展に伴い、各種抗結核剤に対する耐性菌の出現が問題になつてゐるが、治療経過中の耐性獲得ばかりではなく、耐性菌そのものによる感染も重要な問題となつてきた。

私は最近国立東京第一病院に入院した肺結核患者のうち耐性菌感染と思われる 4 例を経験し、その治療前ないし治療開始直後 (ただし 1 例は治療 4 カ月) に分離した菌のモルモットに対する毒力を測定する一方、臨床経過を観察した。

### 実験材料および方法

#### 1) モルモットに対する毒力の測定

治療開始前または開始直後の喀痰を被検材料とした。ただし 1 例は、入院時 1 回のみ培養陽性で、以後 4 カ月間培養陰性であつたため初期の材料が使用できず、治療 4 カ月後に分離した菌株を使用した。そのときの INH, SM, PAS 耐性は入院時と同じであつた。

3% 小川培地使用直接法により、対照培地と同程度に菌が発育した INH 含有培地の中でもつとも INH 濃度の高いものから集落を掻き取り、同濃度の INH を含む培地に 1 回継代したものを使用菌株とした。これから菌液を作り、ツベルクリン反応陰性、体重 400 g 前後のモルモット 2 匹ないし 6 匹の大腿皮下に接種した。接種菌株については同時にカタラーゼ反応と INH, SM, PAS 耐性、および接種生菌単位を測定した。

接種後 1 カ月にツベルクリン反応を行い、2 カ月に剖検した。体重および脾重量を測定し、各部リンパ節と脾、肝、肺の病変を肉眼的に観察し、-, ±, +~卍の 6 段階に分けて記載した。この+の数をもルモット個体ごとに合計した数値を指数とし、同一菌株を接種した群についての平均値を求め、毒力の程度を± (平均指数 0~2), + (2<~8), ++ (8<~14), 卍 (14<) と表現した。なお各部リンパ節と臓器はそれぞれ乳剤として INH, SM, PAS 耐性測定を行い、発生集落についてカタラーゼ反応を検し、病変が接種菌株によることをたしかめるとともに剖検材料中の生菌単位をほぼ推定して毒力判定の参考とした。

#### 2) 1 日喀出生菌数と耐性の測定

各症例についてはほぼ 1 週 1 回、1 日喀出生菌数<sup>1)</sup>と

INH, SM, PAS 耐性を 3% 小川培地による直接法で測定した。培地中の薬剤濃度は INH 0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10  $\gamma/ml$ , SM 0, 1, 3, 10, 100  $\gamma/ml$ , PAS 0, 1, 10, 100  $\gamma/ml$  とした。

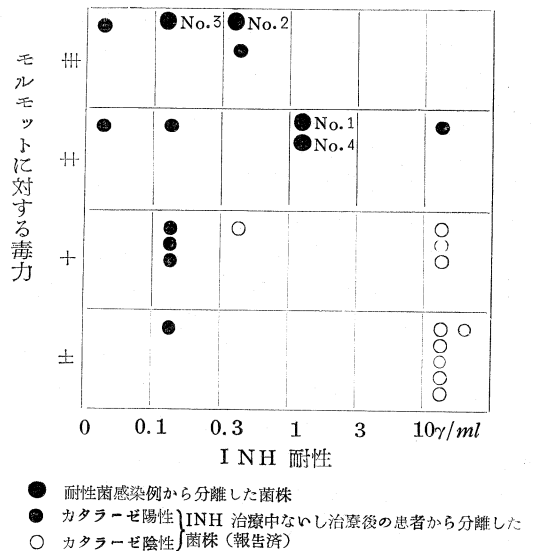
### 実験結果

被検菌株の毒力と INH, SM, PAS 耐性は表 1 のとおりであつた。INH 耐性と毒力とカタラーゼ反応の関係を示すと図 1 のとおりとなつた。すなわち 4

表 1 供試菌株の毒力および薬剤耐性

症 例	毒 力	各薬剤に対する耐性 $\gamma/ml$		
		INH	SM	PAS
1. [黒]	卍	1	100	1
2. [黒]	卍	0.3	100	10
3. [黒]	卍	0.1	<1	10
4. [黒]	++	1	100	1

図 1 INH 耐性と毒力とカタラーゼ反応の関係



例ともカタラーゼ反応陽性で、1  $\gamma/ml$  耐性株は 2 例とも毒力++, 0.1  $\gamma/ml$  耐性株および 0.3  $\gamma/ml$  耐性株は毒力卍で、いずれも強毒であつた。なお図 1 にはす

に報告した)種々の程度のINH耐性株と感受性株の毒力をも比較のため付記した。

次に各症例別に検討する。

〔症例1〕 51才, 男, 病型(学研) B<sub>3</sub>Kb<sub>3</sub>

生来健康で, 昭和16年に当院機関庫員として就職した。ツベルクリン反応については不明である。昭和22年春, 定期健康診断で右上肺野の病巣を発見されたが, 諸検査の結果休止性のものと判定され, 治療を行うことなく放置した。その後毎年の定期健康診断では陰影, 一般状態とも変化がなかった。昭和24年から30年まで保清係を勤め, その間結核病棟の清掃あるいは塵芥処理に従事したこともあったが, 結核病棟勤務期間の詳細は不明である。昭和30年春から炊事係となった。

昭和32年4月上旬熱発し, 咳嗽, 喀痰を伴い, X線像で右上野に空洞を含む浸潤乾酪型病巣を発見した。ツベルクリン反応陽性, 喀痰塗抹結核菌陰性であった。5月上旬入院しただけにSM・PAS・INH3者併用を開始したが, その直後の培養でINH1γ/ml, SM100γ/ml, PAS10γ/ml含有培地と3剤混合培地(INH1γ/ml + SM10γ/ml + PAS1γ/ml)のそれぞれに対照培地と同程度の菌の発育を認めた。1日喀出生菌数は1たんやや減少したが3カ月で再増加し, X線像もやや増悪した。PZA・INH併用療法に変え, 最初菌数は減少したが再増加し, このころ反対側にシュープが起つた。SMを追加したところ一応急性症状は緩解したが, ときどき熱発し, 主病巣の空洞は拡大して喀出生菌数も不変であった。はじめは認めなかったINH3γ/ml耐性菌を少数認めるようになったが, PAS耐性およびSM耐性は不変であった。33年7月からSMをカナマイシン1g筋注週2回に変えたが無効で, 2カ月後にはカナマイシン100γ/ml耐性を獲得した。その後も経過不良である。

入院直後に分離したINH1γ/ml耐性株はカタラーゼ反応陽性で毒力は++であった。

〔症例2〕 51才, 男, 病型 B<sub>1</sub>Piv→C<sub>1</sub>T<sub>2</sub>Piv

16才のころ, 右側胸下部, ついで左前胸上部に皮下膿瘍を生じ, 肋骨カリエスと診断され, 切開および搔爬を受けた。前後を通じ約半年で治癒したが, 当時のツベルクリン反応については不明である。昭和22年から当院守衛として勤務し, 昭和25年から30年まで保清係として症例1と同様に結核病棟の清掃ないし塵芥処理を行う機会を有した。この間定期健康診断で異常を認められたことはなかった。

昭和32年6月, 定期健康診断で左上野外側部に直径約4cmの類円形濃厚陰影を発見された。輪廓不鮮明で葉門結合を伴っていた。左肺尖部には小さい線維乾酪型病巣が少数散在し, 両側の肋骨横隔膜角に軽度の肋膜癒着を認めた。ただちにSM・PAS・INH3者

併用を始め, 10日後に入院した。ツベルクリン反応陽性, 喀痰塗抹陰性であった。一応肺癆を疑い種々検索を加えたが腫瘍は否定され, 培養の結果INH0.3γ/ml, SM100γ/mlにそれぞれ耐性を有する菌が証明された。入院後間もなく喀痰は消失し, 胃液培養は陰性を続け, X線像では陰影の境界が次第に鮮明となり結核腫の形となった。抗結核剤に加えて9月末からACTH10単位筋注を隔日に行つたところ, 11月末のX線像で結核腫中に透亮像を生じ, 少量の喀痰が現われ, それ以後培養で少数の集落を認めるようになった。耐性は入院当初と同様であった。外科的治療が考慮されたが, 本人の希望により32年12月に退院した。

退院後は自宅でINHとSulfisoxazolおよびINHとPZAを服用し, 33年5月から半日軽勤務についたが, 同年10月に感冒様の症状が起り, 結核腫の周辺に浸潤巣が拡大したので入院した。喀痰塗抹, 培養とも陽性で, 耐性はINH10γ/ml, SM100γ/ml, PAS1γ/mlとなっていた。

初回入院中, 治療4カ月に分離したINH0.3γ/ml耐性株はカタラーゼ反応陽性で毒力は++であった。

〔症例3〕 23才, 女, 病型 B<sub>2</sub>Kb<sub>1</sub>

生来健康で, 16才のときBCG接種を1回受けたがその後はツベルクリン反応を行わなかった。昭和27年4月, 当院附属看護学院入学時にはツベルクリン反応陽性で胸部X線写真には異常はなかった。昭和30年3月卒業後は看護婦として当院小児科病棟と内科一般病棟に勤務していた。学院3年生のとき, 結核病棟で約3カ月実習を行つた。また寄宿舎では肺結核の化学療法を受けたことのある同僚と同室だつたことがあり, やはり同室だつた他の1人もこの症例に続いて肺結核を発病したが, その例は培養陰性に終つた。

昭和32年6月, 咳嗽発作, 喀痰および左側胸痛が始まり, ときどき熱発し, 次第に体重減少した。X線像で左下野内側部に境界不鮮明の小陰影が密集して存在するのを認め, ただちに入院した。喀痰塗抹検査を数回行つたが結核菌は陰性であり, 気管支造影で該部に気管支拡張を認めたので, 同部の気管支肺炎を疑い, SMを除く各種の抗生物質を投与したが軽快しなかった。7月上旬にいたり, 喀痰塗抹検査で結核菌を発見し, ただちにSM・PAS・INH3者併用を開始した。その後判明した入院当初の喀痰培養成績では大部分がINH0.1γ/ml耐性, 一部が0.3γ/ml耐性であった。SM1γ/ml感受性, PAS10γ/ml耐性でPAS100γ/ml耐性菌も少数認めた。その後喀出生菌数にはほとんど変化がなく, 5カ月後にはSM10γ/ml耐性を獲得した。昭和33年1月に左下葉切除術を受け, 経過良好で34年1月から勤務している。

抗結核剤投与前に分離したINH 0.1  $\gamma/ml$  耐性株はカタラーゼ反応陽性で毒力は卍であつた。

〔症例4〕 27才，男，病型B<sub>1</sub>Kb<sub>2</sub>→A<sub>2</sub>Kc

12才のころBCG接種を受けたところ、潰瘍を形成して治癒までに約1年を要した。ツベルクリン反応はそのさい陽転したが、その後は検査しなかつた。昭和31年5月から当院薬剤科に勤務していたが、学校および職場の健康診断では昭和33年5月まで異常を認めなかつた。同年4月ごろから食思不振であつたが、平常どおり勤務していた。

昭和33年10月20日、突然熱発し、咳嗽、咯痰がはなはだしく次第に血痰をみるようになり、10月30日に咯血したのでただちに入院した。

入院時ツベルクリン反応陽性、高熱があり、咯痰塗抹陽性であつた。X線像では左上野の浸潤乾酪型病巣を認め、その中に空洞と思われる透亮像もみられた。ただちにSM筋注とバス・ヒドロジッド化合物2g毎日内服を開始したが、10日後のX線像ではほぼ均等な濃厚陰影が左上、中野から下野の一部にも及んで広がっていた。その後滲出型病巣は次第に消退したが、左上野の主病巣は入院時より拡大し、その中に多房性空洞を認めるにいたつた。入院時の咯痰培養成績では、INH 1  $\gamma/ml$ 、SM 100  $\gamma/ml$ 、PAS 1  $\gamma/ml$ 、3剤混合の各培地に対照と全く同程度の菌の発育を認めた。そのINH 1  $\gamma/ml$  耐性株はカタラーゼ反応陽性で毒力は卍であつた。

## 考 案

薬剤耐性結核菌による感染については1949年Furtos<sup>3)</sup>ら、Brennan<sup>4)</sup>らがSM高耐性菌感染各1例を報告したのをはじめとして多くの報告<sup>5)~11)</sup>があるが、耐性菌感染例は一般にきわめて低率でほとんど5%以下である。INH耐性菌感染についてMeissner<sup>12)</sup>は1953年から1955年までの未治療患者1,060例から分離した1,677株について調査し、これに1952年に593例から分離した1,009株の検査成績を加えて報告している。その中でほぼ確実に耐性菌感染と考えられる例として、カタラーゼ陰性、モルモットに対し弱毒のINH 50  $\gamma/ml$  耐性菌による1例と、同じくカタラーゼ陰性、弱毒のINH 1  $\gamma/ml$  耐性菌による1例とをあげている。

わが国においても田坂<sup>15)</sup>がSM耐性菌感染1例を報告したのをはじめとして多くの報告<sup>14)~18)</sup>があり、とくにINH耐性菌感染については平沢<sup>19)</sup>の1例がある。千葉<sup>17)</sup>によれば、昭和29年から31年までの初発病者74例中、INH 0.1  $\gamma/ml$  および1  $\gamma/ml$  に多少の菌の発育を認めたものは各1例にすぎなかつた。中泉<sup>18)</sup>の成績によれば、昭和29年から31年までの

初発病者101例中INH 0.1  $\gamma/ml$  耐性5例、1  $\gamma/ml$  耐性2例となつている。

以上のように耐性菌感染とくに高耐性菌感染はさほど多くはないが、中泉<sup>18)</sup>によれば年ごとに増加する傾向がみられる。耐性菌感染症例の多くは、家庭もしくは職場において耐性菌を喀出している開放性患者に接する機会をもつていたと考えられるが、私の症例1, 2および3についても同じことがいえる。この報告の症例以外にも当院勤務者中に近年発病した者が数例あり、それらは培養陰性のため耐性菌感染か否か不明であるが、感染防禦については今後さらに注意を要するものと思われる。

耐性菌感染例の治療前の咯痰中の耐性菌population構成は、各種段階の耐性をもつ混合菌群で感染されることもあろうが、感受性菌感染後化学療法によつて耐性を獲得した例のそれと比べ、より単純な場合が多いと考えられる。これに反し、治療によつて生体内で耐性が獲得される場合は、病巣内の菌が一斉に同程度の耐性を獲得すると考えることはむずかしく、ことにINHやPASに関しては複雑なpopulation構成を示す場合が多い。この報告の症例について治療開始前あるいは開始直後の耐性検査成績をみると、症例4においてはINH 1  $\gamma/ml$ 、SM 100  $\gamma/ml$ 、PAS 1  $\gamma/ml$  までの各濃度段階に対照と同程度の菌の発育を認め、それ以上の濃度段階には菌の発育を全く認めなかつた。均一の耐性度をもつた菌で感染を受けたことが推測される。症例1についてもほぼ同様のことがみられたが、症例3はただ1回の間接法による耐性検査しかできなかつたので、population構成を推測することは不可能である。症例3は測定上ややまちまちの耐性を示したが、INH耐性分布については0.1  $\gamma/ml$  と0.3  $\gamma/ml$  の中間に山があるものと考えられた。

INH耐性結核菌のカタラーゼ活性減弱およびモルモットに対する毒力減弱については、Middlebrook<sup>20)21)</sup>らの報告以来幾多の研究がなされ、ほぼ定説化しているが、モルモットに対して弱毒化した菌が人体に対してもはたして弱毒化しているかどうかは種々論議のあるところである<sup>21)22)</sup>。

もしモルモットに対して弱毒のINH耐性菌が人体に対しても弱毒であるなら、そのような菌によつて新たな感染が起ることはまれであろうと考えられる。耐性菌感染例から治療前に分離したINH耐性菌についてモルモットに対する毒力を測定し、強毒菌をもつ例と弱毒菌をもつ例との割合を調べたとき、もしINH耐性強毒菌感染例の占める割合が一般のINH耐性分離株についての強毒株の占める割合より明らかに大きいなら、モルモットに対する毒力と人体に対する毒力とは平行するという考えに1つの根拠を与えうるのではなからうか。逆にもし耐性菌感染例から分離したINH耐性菌

も一般と同様多くが弱毒化しているならば、換言すればモルモットに対し弱毒化した菌株でも人体に新たな活動性病変を起しうる場合には、モルモットに対する毒力と人体に対するそれとの平行関係ははなはだ疑問といわざるをえない。先に引用した症例報告についてみると、Katz<sup>8)</sup>の例のINH 20  $\gamma/ml$  以上耐性株は著しく強毒であつたが、Meissner<sup>12)</sup>の50  $\gamma/ml$  耐性株および1  $\gamma/ml$  耐性株はいずれもカタラーゼ陰性の弱毒株であつた。私の例は、治療により生じたと思われる同程度のINH 耐性菌に比べ、図1のとおりすべて強毒であり、弱毒株が1つもなかつたことは注目に値する。さらに多くのINH 耐性菌感染例について毒力測定成績を積み重ねることにより、モルモットに対する毒力と人体に対する毒力との問題も解決に近付くのではないかと思われる。

耐性菌感染例の臨床経過については、耐性薬剤の種類や病巣の状況とも関係があり一概にはいえないが、有効な薬剤が1つでも少ないことはそれだけ不利と思われる。症例1ははじめからSM・PAS・INH 3重耐性菌を有し、各種併用療法の効果はほとんどみられず、カナマイシンに対してもすぐに耐性を獲得し、次第に悪化する傾向にある。症例2は一たん閉鎖性病巣となつたが再発し、INH 耐性上昇を認めた。症例3ははじめ感受性であつたSMに対しても治療中に耐性を獲得し、喀出細菌数もほとんど減少しなかつたが、幸い外科的治療が成功して治癒した。症例4は症例1と同じく3重耐性菌感染で、まだ観察期間は短いがX線像の増悪などの点から治療には相当困難を伴うものと予想される。

## 結 論

1) 耐性菌感染と思われる4症例を経験した。4例中3例は勤務上、化学療法を受けている開放性結核患者に接する機会が多かつた。

2) 治療前あるいは治療開始直後(ただし1例は治療4カ月)に各症例の喀痰から分離した菌株はINH 1  $\gamma/ml$  耐性2株、0.3  $\gamma/ml$  耐性、0.1  $\gamma/ml$  耐性各1株であるが、すべてカタラーゼ反応陽性でモルモットに対する毒力が強かつた。

3) 各種併用化学療法による治療効果は少なく、肺葉切除術の成功した1例を除いては経過不良であつた。

稿を終るにあたり、御懇切な御教示、御指導を賜つた医長小山善之博士、検査科小酒井望博士ならびに結核病棟三上次郎博士に深謝致します。

## 文 献

- 1) 小酒井望 他：臨床病理，1：32，昭28.
- 2) 宮部潤子：日内会誌 48 卷 6 号に発表予定.
- 3) Furtos, N.C., et al. : J.A.M.A., 140 : 1274, 1949.
- 4) Brennan, A.J., et al. : J.A.M.A., 140 : 1275, 1949.
- 5) Tinne, J.E., et al. : Lancet, (ii) : 901, 1950.
- 6) Harold, J.T. : Lancet, (ii) : 658, 1951.
- 7) Thomas, O.F., et al. : Lancet, (i) : 1308, 1954.
- 8) Katz, S., et al. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 881, 1954.
- 9) Cummings, M.M., et al. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 637, 1954.
- 10) Beck, F. : Am. Rev. Tuberc., 72 : 151, 1955.
- 11) Chaves, A.D., et al. : Am. Rev. Tuberc., 72 : 143, 1955.
- 12) Meissner, G. : Beitr. Klin. Tbk., 116 : 125, 1956.
- 13) 田坂定孝 他：臨床，3：243，昭25.
- 14) 柳沢 謙：日本医事新報，1516：1887，昭28.
- 15) 西谷 強：日結，13：47，昭29.
- 16) 伊藤忠雄 他：診断と治療，45：1089，昭32.
- 17) 千葉保之 他：日結，16：666，昭32.
- 18) 中泉直正：結核研究の進歩，22：94，昭33.
- 19) 平沢亥佐吉：日結，16：585，昭32.
- 20) Middlebrook, G., et al. : Science, 118 : 297, 1953.
- 21) Middlebrook, G., et al. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 852, 1954.
- 22) 牛場大蔵：日結，15：115，昭31.