

ストレプトマイシン、パラアミノサリチル酸、イソニコチン酸ヒドラジドに対する耐性結核菌の検査方法についての知的補遺

第2報 感性菌と耐性結核菌を混入して実施した耐性検査成績

島 田 英 彦

北里研究所付属病院 (指導 小川辰次)

受付 昭和 35 年 6 月 6 日

I 結 論

私は第1報¹⁾で感性菌に含まれている自然耐性菌に関する研究を述べたが、耐性結核菌の検査は、薬剤の使い方を決める1つのよりどころとして実施する以上、自然耐性菌を見分けるとともに、薬剤によって耐性を獲得した耐性結核菌を見逃がさないように、可及的に正確に把握する必要がある。それで私はこの間の消息をつかむために、耐性菌と感性菌を種々の比に混入した菌液を、種々の量接種して耐性の検査をし、どの程度の耐性菌の混入しているときには、どの程度の接種菌量を用いれば検出できるかを検討するとともに、これらの一連の耐性検査のさいにみられた耐性結核菌の検出される割合につき考察し、さらに対照に発育した少量の集落を再検査し、少量の集落の再検査は耐性結核菌の検出にどのような意味をもつものであるか等について検討したので御批判を仰ぎたい。

II 検査方法

A. 初回の耐性検査

① 菌株：ストレプトマイシン (以下 SM と略す)、パラアミノサリチル酸 (以下 PAS と略す)、イソニコチン酸ヒドラジド (以下 INH と略す) に対して感性である人型結核菌 H₃₇Rv 株、および H₃₇Rv 株より one step 法により分離した SM 100 γ 耐性菌、PAS 10 γ 耐性菌、INH 100 γ 耐性菌等を 1% 小川培地に 2 週間前後培養したものを使用した。

② 培地：1% 小川培地に培地 1 cc について次のような濃度に混入して作った一組の培地を用いた。

SM…………… 100 γ , 10 γ , 1 γ , 0 γ

PAS…………… 100 γ , 10 γ , 1 γ , 0.1 γ , 0 γ

INH…………… 1,000 γ , 100 γ , 10 γ , 1 γ , 0 γ

③ 培養の方法：型のように菌液を作り、SM では耐性菌と感性菌の比を 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, 1:9 のように、PAS と INH では耐性菌と感性菌の比を 1:4, 1:9, 1:49, 1:99 のように混入して、10⁻¹ mg, 10⁻² mg, 10⁻³ mg, 10⁻⁶ mg は各 1 列宛を 10⁻⁴ mg と 10⁻⁵ mg とは 2 列宛を 0.1 cc の中に

含ませてそれぞれ SM, PAS, INH の一組の耐性検査培地に接種した。なお対照として検査の都度、感性菌のみ、耐性菌のみを前と同様にして 10⁻¹~10⁻⁶ mg を接種した。

④ 判定：すべて培養 4 週で行なった。

B. 耐性の再検査

① 菌株：SM, PAS, INH の耐性菌と感性菌を混入して接種したもののうち 10⁻⁴ mg, 10⁻⁵ mg, 10⁻⁶ mg 接種時の対照に発育したものである。

② 培地：A の場合と同様である。

③ 培養の方法：集落をかき集めて菌液を作り、前述の検査培地に同一の菌株の 10⁻¹ mg, 10⁻² mg, 10⁻³ mg, 10⁻⁴ mg を 0.1 cc の中に含ませて接種した。

④ 判定：A の場合と同様である。

III 成 績

A. 初回の耐性検査

① SM

表 1 でみるように耐性菌は 100 γ のものであるが、集落数は対照と比較すると約その半分であることは 10⁻³ mg の接種で分かる。また感性菌は 1 γ にわずかに発育する程度のものであつて 10 γ には発育しない。両株の発育の程度を 10⁻³ mg, 10⁻⁴ mg 接種で対照に発育した集落数で比較すると、ほぼ同数であるから、この両株は発育の点ではほぼ同等のものともみることができる。

これらを種々の量に混入して耐性培地に接種したときの対照の集落の数は、表 1 でみるように 10⁻¹ mg, 10⁻² mg ではいずれも無数で ∞ , ∞ である。それ以下の接種菌量では数えることができる集落数を示しているが、そのもつとも多いものと、もつとも少ないものをつてみると、10⁻³ mg は 114~220 コ、10⁻⁴ mg は 14~104 コ、10⁻⁵ mg は 4~16 コ、10⁻⁶ mg は 1~6 コである。

以上のような条件において、まず 100 γ の耐性菌の検出できる範囲を耐性菌と感性菌との混入比と接種菌量からみると、表 1 でみるように 10⁻¹~10⁻³ mg 接種では、ともに 1:9 まで、10⁻⁴ mg 接種では 1:5 ま

表 1 初回の耐性検査〔その1〕SM における成績

混合の比 耐性菌：感性菌	SM 混入 の濃度 γ/cc	接種菌量			$10^{-4} mg$		$10^{-5} mg$		$10^{-6} mg$
		$10^{-1} mg$	$10^{-2} mg$	$10^{-3} mg$	a	b	a	b	
1 : 1	100 γ	■	176	50	2	2	—	15	—
	10	■	■	120	20	26	1	15	1
	1	■	■	128	21	54	5	5	5
	0	■	■	220	⑤	104	11	⑩	4
1 : 3	100 γ	■	88	10	3	3	—	1	1
	10	■	171	38	9	15	1	3	—
	1	■	■	54	26	16	4	2	—
	0	■	■	154	67	②	8	④	3
1 : 5	100 γ	■	41	7	2	1	4	—	—
	10	■	■	32	8	7	2	—	—
	1	■	■	54	20	10	5	4	—
	0	■	■	123	61	⑨	16	⑪	6
1 : 7	100 γ	■	46	6	—	—	1	—	—
	10	■	168	32	4	2	8	1	1
	1	■	■	91	15	10	13	4	—
	0	■	■	164	⑧	82	16	⑦	1
1 : 9	100 γ	■	54	6	—	—	—	1	—
	10	■	86	16	5	3	—	3	1
	1	■	■	60	25	8	1	8	3
	0	■	■	114	80	⑬	5	8	②
対照の感性菌	100 γ	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—
	1	■	■	24	1	3	7	6	1
	0	■	■	126	32	40	5	7	3
対照の耐性菌	100 γ	■	■	86	14	9	1	1	—
	10	■	■	141	23	32	5	6	—
	1	■	■	152	26	48	9	2	1
	0	■	■	154	22	56	14	14	—

注：1) 表中に示された記載は発育した集落数を示す。

- ① ■～■ は無数であることを、
+ の数の多いほど集落数の多いことを示す。
② 数字は集落数の実際の数を示す。
③ — は集落を認めないことを示す。

2) ○を印したのは、耐性の再検査をした菌株を示す。

で、 $10^{-5} mg$ 接種では、各混入比を 2 列宛実験しているが、その 1 列のみが 1:9 まで検出されているけれども、他の 1 列は検出されていないから、かなり不定であるといえることができるし、 $10^{-6} mg$ 接種では、1:3 までであつて、他は検出されていない。

次に 100 γ に発育した集落の割合をみると、対照の耐性菌だけでは $10^{-1} mg$ 接種では対照と 100 γ には同数の ■ の発育を示しているから完全耐性²⁾ (不確定)といえることができる。これに感性菌が混入されると、混入比の如何にかかわらず不完全耐性を示すが、100 γ に発育した集落数は、感性菌の混入比が増加するととも

に減少する傾向を認める。

$10^{-2} mg$ 接種でも感性菌の混入比がどのようであつても、いずれも不完全耐性を示すが、100 γ の集落数はいずれも計算可能であつて、不完全耐性の姿は $10^{-1} mg$ 接種に比してもつとはつきりするし、感性菌の混入比の多い 5, 7, 9 と少ない 1, 3 とに分けると、100 γ 耐性菌の集落数に差を認める。 $10^{-3} mg$ 接種ではじめて 0 γ より 100 γ の培地まで集落を数えることができるので、100 γ 耐性菌の理論的な割合がでてくる。

すなわち表 2 でみるように 1:1 では、耐性菌だけでは、100 γ 耐性菌は対照に比して 1/2 であるから、

表2 初回の耐性検査〔その2〕SMにおいて出現した耐性結核菌の割合の実際値と理論値

接種菌量 耐性菌 の割合	10 ⁻³ mg		10 ⁻⁴ mg		10 ⁻⁵ mg	
	理論値	実際値	理論値	実際値	理論値	実際値
混合の比 耐性菌：感性菌						
1 : 0		$\frac{1}{2}$		$\frac{1}{2}, \frac{1}{6}(\frac{1}{3})$		$\frac{1}{14}, \frac{1}{14}(\frac{1}{14})$
1 : 1	$\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{6}$	$\frac{1}{25}, \frac{1}{52}$	$\frac{1}{14} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{28}$	$\frac{15}{11}, 0$
1 : 3	$\frac{1}{2} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{8}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{3} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{12}$	$\frac{1}{8}, \frac{1}{23}$	$\frac{1}{14} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{56}$	$\frac{1}{4}, 0$
1 : 5	$\frac{1}{2} \times \frac{1}{6} = \frac{1}{12}$	$\frac{1}{18}$	$\frac{1}{3} \times \frac{1}{6} = \frac{1}{18}$	$\frac{1}{30}, \frac{1}{60}$	$\frac{1}{14} \times \frac{1}{6} = \frac{1}{84}$	$\frac{1}{4}, 0$
1 : 7	$\frac{1}{2} \times \frac{1}{8} = \frac{1}{16}$	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{3} \times \frac{1}{8} = \frac{1}{24}$	0, 0	$\frac{1}{14} \times \frac{1}{8} = \frac{1}{112}$	$\frac{1}{16}, 0$
1 : 9	$\frac{1}{2} \times \frac{1}{10} = \frac{1}{20}$	$\frac{1}{19}$	$\frac{1}{3} \times \frac{1}{10} = \frac{1}{30}$	0, 0	$\frac{1}{14} \times \frac{1}{10} = \frac{1}{140}$	$\frac{1}{8}, 0$
対照に発育した 集落数	114 ~ 220 =		14 ~ 56 =		4 ~ 16 =	

注：()の中は平均値を示す。

さらに感性菌が同量混入されると100γの耐性菌は1/2×1/2=1/4となる。同様にして1:3では1/8, 1:5では1/12, 1:7では1/16, 1:9では1/20ということになる。しかし実際に認めた100γの耐性菌の割合が理論値とほぼ一致するのは感性菌が9と混入されたときだけであつて, 3, 5, 7と感性菌が混入されたところでは, かなりくい違いがある。次に10⁻⁴ mg接種では, 各混入のものについて2列宛実験したが, 耐性菌の検出される割合は1:3の1列のみがほぼ理論値に一致するだけであつて, 他はいずれも理論値に比して少ない。次に10⁻⁵ mg接種も2列宛実験しているが検出されている100γの耐性菌の割合は, そのいずれの混入比のものでも一致せず, がいして理論値に比して多い。

② PAS

表3でみるようにPAS耐性菌は10γに対照の約半数の集落を発育する耐性菌であるが, このほかに10⁻² mg, 10⁻³ mg および10⁻⁵ mgの接種で, ごくわずかではあるが, 100γにも発育している。感性菌は, 0.1γにわずかに発育し, 1γには発育していない。この両者の発育の状態をみると, 同じ接種菌量で耐性菌が感性菌に比して発育した集落数が少ないから, 耐性菌は感性菌に比して発育がよくないことが分かる。

次に耐性菌と感性菌の混合の比は表3でみるように1:4, 1:9, 1:49 および1:99のようにSMに比してさらに耐性菌の少量に混入したものについても実験をした。

このように耐性菌と感性菌とを種々に混入して耐性検査培地に接種したときの対照培地に発育した集落数は10⁻¹~10⁻³mgまでの接種では無数であつて, それぞれ

卍, 卍, 卍であつて, 10⁻⁴ mg接種では92~150コ, 10⁻⁵ mg接種では20~62コ, 10⁻⁶ mg接種では6~64コであつた。

上のような条件において, まず10γのPAS耐性菌の検出できる範囲をみると, 10⁻¹ mg, 10⁻² mg, 10⁻³ mgの接種では1:99まで, 10⁻⁴ mg接種では1:9までであつて, それ以下の少ない混入比では2列中の1列において検出される程度であつて, かなり検出が不安定となる。さらに接種菌量が10⁻⁵ mgに減少すると1:4混入のところまでであつて, これ以下の少ない混入比では1:49の混入比の1列のみが検出されにすぎない。さらに10⁻⁶ mg接種ではいずれの混入比でも検出されていない。

次に検出された10γの耐性菌の割合は, まずPAS耐性菌だけについてみると, 対照の約1/2であることは前に述べたようであるが, 混入した場合をみると, 10⁻¹mg接種では1:4の混入が10γ完全耐性(不確定)の姿を示すが, それ以下の混入比では, いずれも不完全耐性を示している。10⁻² mg, 10⁻³ mg接種では対照が卍, 卍あるが, いずれの混入比においても不完全耐性であつて, 10γに発育する集落数が無数であつても有数であつても, 耐性菌の混入比が減少するに従つて, 10γ耐性菌の割合も減少する傾向を示している。次に10⁻⁴mg接種ではじめて対照もPAS混入の培地もともに集落を数えることができるので, 10γ耐性菌の割合の理論値と実際値がはつきりする。まず理論値をみると, 1:4で1/2×1/5=1/10, 同様にして1:9で1/20, 1:49で1/100, 1:99で1/200となるわけであるが, 実際に10γに発育した集落の割合は1:4の1列が理論値に近いだけであつて, 他の混入比のものは一致しな

表 3 初回の耐性検査〔その3〕PAS における成績

混合の比 耐性菌：感性菌	接種菌量 PAS 混入 の濃度 γ/cc	接種菌量			10 ⁻⁴ mg		10 ⁻⁵ mg		10 ⁻⁶ mg
		10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	a	b	a	b	
1 : 4	100 γ	+	7	-	-	-	-	-	-
	10	+	+	46	10	22	1	4	-
	1	+	+	78	16	25	5	-	-
	0.1	+	+	92	20	18	2	6	-
	0	+	+	+	121	150	⑨	20	⑨
1 : 9	100 γ	+	+	-	1	-	-	1	-
	10	+	+	26	6	1	-	-	-
	1	+	+	32	11	3	4	4	-
	0.1	+	+	52	8	3	-	5	-
	0	+	+	+	115	150	32	⑩	⑩
1 : 49	100 γ	+	-	3	-	-	-	-	-
	10	+	36	6	-	4	-	1	-
	1	+	62	5	1	1	1	-	-
	0.1	+	50	14	12	4	2	-	-
	0	+	+	+	141	128	⑪	11	⑥
1 : 99	100 γ	18	6	-	-	-	-	-	-
	10	+	28	4	-	1	-	-	-
	1	+	44	4	-	1	1	-	-
	0.1	+	46	48	18	18	8	-	1
	0	+	+	+	130	92	38	⑫	⑭
対照の感性菌	100 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	+	+	+	22	15	-	8	-
	0	+	+	+	+	+	80	150	24
対照の耐性菌	100 γ	-	5	2	-	-	-	2	-
	10	+	+	150	58	28	12	18	3
	1	+	+	155	52	32	8	15	4
	0.1	+	+	+	52	62	12	16	5
	0	+	+	+	90	65	14	34	5

注：表 1 に同じ。

い。しかし耐性菌の混入比の少なくなるとともに、実際の発育した耐性菌の割合も少なくなる傾向にあることは接種菌量の多い場合と同様である。10⁻⁵ mg 接種でも 10 γ の耐性菌を検出できたところでは、10 γ の集落の割合は理論値とは全く一致しない。以上は耐性菌と感性菌の発育が同等と仮定したときの理論値をもつて論じたのであるが、実際には、耐性菌の発育が悪いのであるから、耐性菌の理論的な割合はもつと少なくなるはずである。

なおこのPASの場合で特有なことは、この10 γ 耐性菌に 100 γ の耐性菌が混ざっていることであるが、10⁻² mg、10⁻³ mg および 10⁻⁵ mg 接種で少数の集落を認

めたのみであるから、この 100 γ の耐性菌はかなり不安定のものであろう。これに感性菌が混入されることによって、10⁻¹ mg、10⁻² mg 接種では 100 γ のところに理論的に考えられるよりも多くの耐性菌が発育していることは、PAS 耐性菌の不安定性を暗示しているものであろう。

⑨ INH

表 4 でみるように、この INH 耐性菌は 10⁻³ mg 接種では、ほぼ対照と同程度に発育するところの 100 γ 完全耐性菌と考えることができる。この耐性菌は感性菌に比して発育が悪いことは接種菌量が同じである場合の対照に発育した集落数をみると分かる。また感性菌は

表4 初回の耐性検査〔その4〕INHにおける成績

混合の比 耐性菌：感性菌	接種菌量 INH 混入 の濃度 γ/cc	接種菌量			$10^{-4} mg$		$10^{-5} mg$		$10^{-6} mg$
		$10^{-1} mg$	$10^{-2} mg$	$10^{-3} mg$	a	b	a	b	
1 : 4	1,000 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	卍	卍	18	5	3	-	-	-
	10	卍	卍	28	3	6	1	-	-
	1	卍	卍	18	5	1	1	2	-
	0	卍	卍	卍	卍	卍	142	117	㊸
1 : 9	1,000 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	卍	34	2	-	-	-	-	-
	10	卍	116	8	1	3	-	-	-
	1	卍	95	7	-	4	-	-	-
	0	卍	卍	卍	卍	卍	㊸	165	㊹
1 : 49	1,000 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	104	6	-	-	-	-	-	-
	10	+	17	3	-	-	-	-	-
	1	+	14	-	-	-	-	-	-
	0	卍	卍	卍	卍	卍	151	135	㊹
1 : 99	1,000 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	34	4	-	-	-	-	-	-
	10	151	10	-	-	-	-	-	-
	1	164	12	-	-	-	-	-	-
	0	卍	卍	卍	卍	卍	118	145	㊺
対照の感性菌	1,000 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	0	卍	卍	卍	卍	卍	147	156	44
対照の耐性菌	1,000 γ	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	卍	卍	71	16	30	4	1	-
	10	卍	卍	125	38	39	5	6	-
	1	卍	卍	142	45	59	3	4	2
	0	卍	卍	86	34	27	7	6	1

注：表1に同じ。

1 γ に発育しない。耐性菌と感性菌の混入の比はPASの場合と同様であるが、耐性菌と感性菌をこのように混入して、耐性検査培地に接種したときの対照に発育した集落数は、 10^{-1} ~ $10^{-4} mg$ までは無数であつて、それぞれ卍, 卍, 卍, 卍 のようであつて、 $10^{-5} mg$ は 58~165 \square , $10^{-6} mg$ は 14~41 \square である。以上のような条件において、前と同様まず INH 100 γ 耐性菌の検出できる範囲をみると、 $10^{-1} mg$, $10^{-2} mg$ 接種では 1 : 99 まで、 $10^{-3} mg$ 接種では 1 : 9 まで、 $10^{-4} mg$ 接種では 1 : 4 までであつて、 $10^{-5} mg$, $10^{-6} mg$ 接種ではともに 1 : 4 の混入比でも検出できない。次に検出された INH 100 γ 耐性菌の集落数の割合をみると、

$10^{-1} mg$, $10^{-2} mg$ 接種では、いずれも不完全耐性であるが、100 γ における集落数が無数であつて、しかも 1 : 4, 1 : 9 のように混入比の比較的多いところでは混入比による差ははつきりしないが、100 γ における集落数の数えられるところでは、混入比の少なくなるに従つて、100 γ 耐性菌の集落の割合は減少している。

なお、INH 耐性菌は 100 γ 完全耐性菌ではあるが、発育は感性菌に比して悪いので、耐性菌に感性菌を混入した場合は耐性菌の発育の割合は著明に減少しているものと思われる。耐性菌と感性菌の混入したところでは 0 γ から 100 γ まで集落の数えることのできる場所がないので、100 γ 耐性菌の出現する理論値と現われ

表 5 対照に発育した少数集落の耐性の再検査の成績
〔その1〕SM における成績

菌株番号	混合の比耐：感	検査の種類		再検査				
		接種菌量	初回の検査	再検査				
				10 ⁻⁴ mg 10 ⁻⁵ mg 10 ⁻⁶ mg	10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	10 ⁻⁴ mg
(1)	1 : 1	100 γ	15	■	86	15	4	
		10	15	■	106	27	2	
		1	5	■	■	126	22	
		0	⑪	■	■	■	74	
(2)	1 : 1	100 γ	2	■	74	18	3	
		10	20	■	■	40	5	
		1	21	■	■	64	9	
		0	⑫	■	■	72	8	
(3)	1 : 3	100 γ	1	■	■	■	104	
		10	3	■	■	■	88	
		1	2	■	■	■	106	
		0	⑬	■	■	■	126	
(4)	1 : 3	100 γ	3	■	86	76	3	1
		10	15	■	124	26	3	
		1	16	■	■	50	11	
		0	⑭	■	■	174	44	
(5)	1 : 5	100 γ	-	-	-	-	-	
		10	-	-	-	-	-	
		1	4	■	58	32	8	
		0	⑮	■	■	88	14	
(6)	1 : 5	100 γ	1	■	108	8	-	
		10	7	■	122	16	-	
		1	10	■	124	32	4	
		0	⑯	■	■	76	14	
(7)	1 : 7	100 γ	-	■	40	8	1	
		10	4	■	92	11	2	
		1	15	■	138	7	3	
		0	⑰	■	■	44	11	
(8)	1 : 7	100 γ	-	-	-	-	-	
		10	1	-	-	-	-	
		1	4	■	■	18	8	
		0	⑱	■	■	166	25	
(9)	1 : 9	100 γ	-	70	-	-	-	
		10	3	■	30	9	1	
		1	8	■	■	12	-	
		0	⑲	■	■	68	11	
(10)	1 : 9	100 γ	-	-	-	-	-	
		10	1	-	-	-	-	
		1	3	■	■	■	58	
		0	⑳	■	■	■	121	

注：表1に同じ。

表 6 対照に発育した少数集落の耐性の再検査の成績
〔その2〕PAS における成績

菌株番号	混合の比耐：感	検査の種類		再検査				
		接種菌量	初回の検査	再検査				
				10 ⁻⁵ mg あるいは 10 ⁻⁶ mg	10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	10 ⁻⁴ mg
(1)	1 : 4	100 γ	-	-	-	-	-	
		10	1	3	-	-	-	
		1	5	1	-	-	-	
		0.1	2	■	■	44	2	
(2)	1 : 4	100 γ	0	㉑	■	■	+	38
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	-	-	-	-	
		0.1	-	■	■	84	3	
(3)	1 : 9	100 γ	0	㉒	■	■	+	50
		10	1	-	-	-	-	
		1	4	24	1	-	-	
		0.1	5	18	68	12	-	
(4)	1 : 9	100 γ	0	㉓	■	■	106	16
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	■	■	49	3	
		0.1	-	■	■	66	8	
(5)	1 : 49	100 γ	-	■	■	81	9	
		10	-	■	■	51	51	
		1	-	■	■	42	-	
		0.1	2	■	■	+	22	
(6)	1 : 49	100 γ	0	㉔	■	■	+	54
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	-	-	-	-	
		0.1	-	■	■	48	1	
(7)	1 : 99	100 γ	-	■	■	+	50	
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	-	-	-	-	
		0.1	-	■	■	30	-	
(8)	1 : 99	100 γ	0	㉕	■	■	+	50
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	-	-	-	-	
		0.1	1	■	■	32	1	
(9)	1 : 99	100 γ	-	■	■	140	25	
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	-	-	-	-	
		0.1	1	■	■	+	32	1
(10)	1 : 99	100 γ	0	㉖	■	■	+	25
		10	-	-	-	-	-	
		1	-	-	-	-	-	
		0.1	1	■	■	+	32	1

注：表1に同じ。

た実際値とが一致するかどうかは分からない。

B. 耐性の再検査

① SM

表5にみるようにAの①の実験において 10^{-4} mg, 10^{-5} mg, 10^{-6} mg 接種したときに、対照に発育した2~50コまでの間の少数の集落のものを各混入比につき2株宛集め、 10^{-1} ~ 10^{-4} mg の種々の量を接種して耐性の再検査をした。検査指針により 10^{-3} mg で判定すると、1:1, 1:3, 1:5の混入比では、初回の検査と同じ耐性値を示したが、1:7の混入比では1株は最初の検査に比して一段高い耐性値を、他の1株は一段と低い耐性値を示した。1:9のものでは1株は同じ値を他の1株は一段と低い耐性値を示した。すなわち耐性菌の混入の少ないものにおいては、初回の検査に比して差を示すものが多い。なお菌株(9)では 10^{-1} mg の判定では 10^{-3} mg に比して一段高い耐性値を、菌株(6)では 10^{-4} mg で判定すると一段と低い耐性値となる。

② PAS

Aの②の実験において 10^{-5} mg および 10^{-6} mg 接種のとき、対照に発育した6~64コの少数の集落を各混入比について2株宛を前と同様にして耐性の再検査をした。成績は表6のようであつて 10^{-3} mg で判定すると、初回の検査と同一であつたものは、菌株(8)だけであつて、初回に比して高い耐性を示したのは(2)(4)(6)(7)の4株であつて、反対に低い耐性を示したものは(1)(3)(5)の3株である。すなわちPASの場合はSMの場合に比して初回の検査に比して差の多いものが多い。なおPASの場合自然耐性菌の認められない最高接種菌量の 10^{-1} mg で判定すると、(1)と(3)の2株だけが 10^{-3} mg に比して高い耐性を示すことになるが(1)は初回と同じであつて(3)は初回に比して一段低い耐性値を示している。

③ INH

Aの③の実験で 10^{-5} mg, 10^{-6} mg を接種して対照に発育した14~58コのように少数の集落の5株を前と同様にして耐性の再検査をした。 10^{-3} mg で判定すると表7のようである。

すなわちいずれの菌株においても、全く初回の検査と一致した。

IV 総括および考察

耐性結核菌をなるべく見落とさないように検出するためには接種菌量を多くする必要がある。このことは従来までも多くの学者^{3)~5)}によつて、唱えられていたところである。われわれの今回の実験もこの事実を裏書きしている。しかし接種菌量が多いと、みせかけの耐性^{6) 7)}が現われると称されている。みせかけの耐性として考えられることは、自然耐性菌であるが、このことに関して

表7 対照に発育した少数集落の耐性の再検査の成績
〔その3〕INHにおける成績

菌株番号	混合の比 耐:感	検査の種類 接種菌量 INHの濃度 γ/cc	初回の検査 10 ⁻⁵ mg あるいは 10 ⁻⁶ mg	再検査			
				10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	10 ⁻⁴ mg
				(1)	1:4	1,000 γ 100 10 1 0	- - - - ⊗
(2)	1:9	1,000 γ 100 10 1 0	- - - - ④	- - - - ⊗	- - - - ⊗	- - - 1 7	
(3)		1,000 γ 100 10 1 0	- - - - ⊗	- - - - ⊗	- - - - ⊗	- - - - 78 38	
(4)	1:49	1,000 γ 100 10 1 0	- - - - ⊗	- - - - ⊗	- - - - ⊗	- - - - 115 51	
(5)	1:99	1,000 γ 100 10 1 0	- - - - ④	- - - - ⊗	- - - - ⊗	- - - - 156 39	

注:表1に同じ。

は前にも述べたように、化学療法等によつて獲得された耐性菌と種々の点において異なるから、注意すれば鑑別できる。

次に問題になることは、不完全耐性が一見完全耐性のような姿で現われることである。この事実はわれわれの実験においてもみることができたが、このような姿をとるのは、耐性菌の混入量が対照の1/2あるいは1/5といったようになり多量であつて、しかも接種菌量が 10^{-1} mg, 10^{-2} mg といったようなときだけに限られている。したがつて、この程度のものが完全耐性(不確定)と見誤られても、臨床的な処置のうえには大きな誤りはひき起こさないであろう。耐性菌が1/5より少なく混入されている場合には不完全耐性を示すが、接種菌量が多くて発育した耐性菌が無数であつても、耐性菌の混入量の多少によつて、検出された耐性菌の割合にも大まか

ではあるが差を認めることができる。

次に接種菌量を少なくして、一組の検査培地の全部に100コ前後の数えることのできるような集落が発育して、耐性菌の割合がはつきり示された場合は、前者のような無数の場合に比して、より正確な割合として認められることは当然であるが、しかしこのときの耐性菌の割合も、混入比より推定した理論値と一致するのはごくわずかである。発育した集落が前者よりもさらに少なくても10の桁になると、全く区々となつてその相関は認められない。すなわち耐性菌の有数から割り出した実際の割合は無数の場合の割合に比して優れてはいるとしても、通常検査として行なわれている限りでは、この割合はごく大まかなものであると解釈されなければならない。このように考えると、接種菌量の多い無数の集落の場合と、接種菌量の少ない有数の場合とでは、耐性検査の成績は同等に評価されてもよいように思われる。したがって接種菌量を多くして耐性菌を見落とさないようにするというのも、目的によつては実施されてもよいのではないかと思われる。

次に耐性の再検査であるが、対照に発育した集落が少ないときは、一応その菌は体内の菌を代表するものではないから、再検査^{8)~10)}すべきであるといわれている。私の実験ではSM, PAS, INHの3つの中で最初の成績もつとも一致しなかつたのはPASであつて、次にSMであり、INHがもつともよく一致した。このような一致、不一致は対照中に混入されている耐性菌の量および耐性菌と感性菌との発育の相違によつてもたらされるものであろうが、対照における集落数が少なくても、最初の検査で耐性菌であつたものは、再検査でも大部分は耐性であるし、ときにより再検査の耐性値が低くでることもあることなどを考えると、初回検査で耐性のあつたものは、そのまま耐性であることを再検査しないで認めてもよいと思う。次に感性の姿をとつているものを再検査した場合に耐性菌を見付けることをしばしば経験した。したがって少数集落の再検査の真の意味は、感性菌らしい姿をしているものから耐性菌を見付けだすということであろう。こういう観点では、私はPASにこのような傾向をもつとも多く認めた。

V 結 論

耐性検査に用いる接種菌量と耐性結核菌の検出域との関係および対照に発育した少量の集落の再検査の意味等を検討するために、SM, PAS, INHに対して感性である人型結核菌H₃₇Rv株、およびH₃₇Rv株よりone step法によつて分離したSM 100γ, PAS 10γ, INH 100γの耐性株を種々の比率に混入した菌液を用いて10⁻¹~10⁻⁶ mgまでの種々の量を接種して耐性の検査をするとともに、10⁻⁴ mg以下の少量の菌を

接種したときに対照に発育した約50コ以下の少数集落について再度耐性の検査を実施し、次のような成績を得た。

(1) 接種菌量と耐性結核菌の検出域

① SMにおいて耐性菌と感性菌の比を1:1~1:9までに混入した実験では、10⁻¹~10⁻³ mg接種では1:9まで、10⁻⁴ mg接種では1:5まで検出したが、10⁻⁵ mg接種では1:1の混入でも不定であつて、10⁻⁶ mgでは1:1のものでも検出できなかつた。

② PASの耐性菌と感性菌との混入比1:4~1:99の実験では、10⁻¹~10⁻³ mg接種時では1:99まで、10⁻⁴ mg接種では1:9までは確実に検出できたが、それ以上の混入比では不確実であつた。また10⁻⁵ mg接種では1:4までは確実であるが、それより少ない混入比では10⁻⁴ mgのとき以上に不確実となり、10⁻⁶ mg接種ではそのいずれの混入比のものでも検出できなかつた。

③ INHでもPAS同様の混入比のものについて検査したが、10⁻¹ mg, 10⁻² mg接種では1:99まで、10⁻³ mg接種では1:9まで、10⁻⁴ mg接種では1:4まで検出できたが、10⁻⁵ mg, 10⁻⁶ mg接種ではそのいずれの混入の比でも検出できなかつた。

(2) 検出された耐性結核菌の割合

接種菌量が多くて、発育した集落数が無数でも、不完全耐性のときは、混入比の少なくなるとともに、示された耐性菌の割合が少なくなるし、接種菌量が少なくて、有数であつた場合でも、必ずしも混入比から割り出した理論値とは一致しないことが多かつた。

(3) 対照に50コ以下に発育した菌株について再検査を実施すると、SMでは耐性菌と感性菌との混入比が1:5のところでは初回の検査とほぼ一致したが、1:7, 1:9の混入比のところでは1株だけが初回の検査に一致し、他の菌株はそれよりも高かつたり低かつたりであつた。PASでは1:4の1株, 1:99の1株, 合計2株だけが一致したが、5株が高く、1株が低かつた。INHでは全部が一致したが、耐性を新しく見付けたものはなかつた。

慶応義塾大学医学部石田二郎教授、北里研究所付属病院小川辰次部長の御指導と御校閲に対して感謝いたします。

文 献

- 1) 島田：結核，35：622，昭35.
- 2) 衛生検査指針I，細菌血清学検査指針(VI)改訂，厚生省編集，昭33.
- 3) C.A. Colwell et al. : Am. Rev. Tbc., 63 : 679, 1951.
- 4) Michael, Kenney et al. : Am. Rev. Tbc., 70 :

- 923, 1954.
- 5) 小川他：綜合研究結核研究委員會化学療法科会，昭26.
- 6) Gardner Middlebrook : Am. Rev. Tbc., 70 : 923, 1954.
- 7) 小酒井：臨床病理，4 : 278, 昭31.
- 8) G.P. Youmans et al. : Am. Rev. Tbc., 61 : 569, 1950.
- 9) Report of the Clinical & Laboratory Sub-committees of the Committee on Medical Research (American Trudeau Society) : Am. Rev. Tbc., 65 : 100, 1952.
- 10) J. Marks : Acta tbc. scandinav., 32 : 63, 1956.