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3報　喀痰および切除肺結核病巣より分離した結核菌を用いて接種菌量を種々にして実験した耐性検査の成績

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27日

I　緒　　論

第1報[1]では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）に対して感性菌である保存人型結核菌の $H_{37}Rv$ 株および黒野株を用い，第2報[2]では感性菌の $H_{37}Rv$ 株に，$H_{37}Rv$ 株から分離したSM，PAS，INHの耐性菌を混入して，ともに種々の菌量を接種して耐性の検査をした。

これらの保存結核菌による成績からは，耐性結核菌をなるべく見落とさないようにするのには，できるだけ多くの接種菌量を用いる必要のあること，また接種菌量を多くしても耐性検査のうえでは従来考えられていたほど障害にならないことが分かつた。また対照に発育した少数集落の耐性の再検査についても意味あるものであることが推定された。それで本報告では，さらに喀痰および切除肺結核病巣より分離した結核菌を用いて実験し，これらの事実がはたして可検材料についても，あてはまるものであるかどうかを検討したので御批判を仰ぎたい。

II　検　査　方　法

A．喀痰を材料とした耐性検査

① 喀痰：塗抹陽性の喀痰39例，塗抹陰性の喀痰8例である。これらは長期間種々の化学療法剤を使用した，あるいは使用しつつある入院中の肺結核症患者から採取されたものであつて，SM，PAS，INHに対して耐性を示す結核菌が含まれていると推定されたものである。採取の前日は型のように化学療法剤の投与を中止した。

② 培地：3％小川培地を台として，培地1 *cc* について次のように薬剤を混入した1組の耐性検査培地を用いた。

SM …… 100 γ，10 γ，1 γ，　　0 γ

PAS …… 100 γ，10 γ，1 γ，0.1 γ，0 γ

INH …… 100 γ，10 γ，1 γ，0.1 γ，0 γ

これらの培地は，製造後2～3日のうちに使用した。

③ 培養の方法：塗抹陽性の喀痰のうちの10例は，まず4％NaOHで約10倍に稀釈して4列を，さらに4％NaOHで10倍宛に稀釈して 10^2 倍，10^3 倍，10^4 倍，10^5 倍，10^6 倍にし，1列宛を，残りの塗抹陽性の29例および塗抹陰性の8例は 10^1～10^3 ないし 10^4 倍まで稀釈してその1列宛を耐性検査培地に0.1 *cc* 宛接種し，37°*C* の孵卵器に培養した。

④ 判定：毎週観察して5週まで継続した。そして結核菌の発育した最高の濃度をもつて耐性値とした。

B．喀痰の耐性検査において，発育した少数集落（対照および抗結核剤の混入培地）および切除肺結核病巣より分離した結核菌の耐性検査

① 可検材料：

㋑ 肺結核症患者の喀痰より分離した結核菌；

10倍，10^2 倍稀釈の喀痰を3％小川培地に接種したときにSM，PAS，INH等の混入された培地に発育した少数集落，すなわち1～31コまでのもの24株，および 10^5 倍，10^6 倍稀釈のような高度の稀釈のものを接種したときに対照に発育した少数集落すなわち1～54コのもの7株，このほか180コの1株合計8株であつて，ともに5週間の観察中に発育したものである。

㋺ 切除肺結核病巣より分離した結核菌；

肺病巣を前処理しないで1％小川培地に接種し2カ月の培養中に発育した菌株合計32株であつて，集落の無数のものが15株，26コ以上のものが3株，25コ以下のものが12株であつた。

② 培地：1％小川培地を台とした耐性検査培地であつて，抗結核剤の混入濃度はAの場合と同様である。

③ 培養の方法：分離した菌は2代培養をしないで，発育した集落の全部をかきとり，型のように菌液を作つて 10^{-1} *mg*，10^{-2}*mg*，10^{-3}*mg* を0.1 *cc* に含ませて前述の耐性検査培地に接種し，37° *C* の孵卵器に培養

表 1　喀痰で SM, PAS, INH の耐性検査をした例　その 1（花見　ガフキー 6 号）

抗結核剤の種類 ＼ 培地中の混入濃度（γ/cc） ＼ 観察の期間（週） ＼ 喀痰の稀釈倍数		10^1 (1)			10^1 (2)			10^1 (3)			10^1 (4)			10^2			10^3			10^4			10^5			10^6		
		III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V
SM	100 γ	55	60	60	60	80	80	59	67	68	20	34	51	3	⑤		−	1	①	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	10 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	70	∺	∺	−	29	29	−	6	7
	1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	170	∺	∺	16	44	56	1	2	3
PAS	100 γ	20	∺	∺	−	∺	∺	∺	∺	∺	4	∺	∺	−	18	30	30	170	∺	−	4	36	−	−	1	−	−	−
	10 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	5	55	60	−	5	5
	1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	−	−	−	−	14	15
	0.1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	70	116	120	1	5	11
INH	100 γ	1	②		−	3	3	−	−	−	−	1	②	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	10 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	5	∺	∺	−	17	110	−	3	④	−	2	4	−	−	1
	1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	70	∺	∺	13	50	60	−	−	−
	0.1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	26	54	60	−	1	1
	0	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	⑱			45	76	90	2	10	⑩

注：1）表中に示された記載は発育した集落数を示す。∺～＋ は無数で＋の数の多いほど集落数の多いことを示す。数字は集落数の実際の数を示す。－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。

表 2　喀痰で SM, PAS, INH の耐性検査をした例　その 2（小池　ガフキー 4 号）

抗結核剤の種類 ＼ 培地中の混入濃度（γ/cc） ＼ 観察の期間（週） ＼ 喀痰の稀釈倍数		10^1 (1)			10^1 (2)			10^1 (3)			10^1 (4)			10^2			10^3			10^4			10^5			10^6		
		III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V	III	IV	V
SM	100 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	12	22	22	−	−	−
	10 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	30	35	35	−	−	−
	1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	18	20	20	3	4	4
PAS	100 γ	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	10 γ	−	−	−	−	−	2	−	−	−	−	1		−	∺	∺	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	−	14	40	−	2	5	−	−	−
	0.1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	37	120	∺	−	3	2	−	−	7
INH	100 γ	−	2	2	−	8	8	−	−	−	−	−	1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	10 γ	12			2	30	30	1	1	1	−	1	8	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	1 γ	7	8	10	6	24	24	5	7	7	9	10	10	−	2	2	−	−	−	−	−	4	−	−	−	−	−	−
	0.1 γ	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	100	∺	∺	2	8	9	2	4	10
	0	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	∺	10	18	20	1	②	

注：　表 1 に同じ。

した。

④　判定：4 週で判定した。その他は A の場合と全く同様である。

III　成　　績

①　代表の 2 例の検査成績：

10 例の喀痰の検査成績のうちの 2 例を抽き出してここに説明する。

表 1 はガフキー 6 号の喀痰の成績であるが，SM は対照と抗結核剤の混入のすべての培地において，集落の

数えられる 10^5，10^6 倍稀釈接種で判定すると，10 γ 不完全耐性であるが，10^1～10^3 倍までの無数の集落の場合は 100 γ 不完全耐性である。PAS では有数の 10^5 倍稀釈では 100 γ 不完全耐性，10^6 倍稀釈では 10 γ 不完全耐性であるが，無数の 10^1～10^4 倍稀釈では 100 γ 不完全耐性である。次に INH では有数の 10^5 倍，10^6 倍稀釈では 10 γ 不完全耐性であるが，無数の 10^1 倍稀釈では 100 γ 不完全耐性，あるいは 10 γ 完全耐性（不確定）であるが，同じ無数の集落でも接種菌量の少ない 10^2，10^3，10^4 倍稀釈では 10 γ 不完全耐性である。

表 2 はガフキー 6 号の喀痰の耐性検査の成績であるが，まず SM では集落の数えることのできるうちでもつとも多い 10^5 倍稀釈で判定すると 100 γ 完全耐性であるが，10^6 倍稀釈では 1 γ 不完全耐性である。次に無数の集落を認める 10^1～10^4 倍稀釈ではいずれも 100 γ 完全耐性（不確定）である。PAS では有数の 10^5 倍稀釈では 1 γ 不完全耐性，10^6 倍稀釈では 0.1 γ 完全耐性，無数の 10^1 倍稀釈では 10 γ 不完全耐性，1 γ 完全耐性（不確定）あるいは 1 γ 不完全耐性であり，10^2 倍稀釈では 10 γ 不完全耐性，10^3，10^4 倍稀釈では 1 γ 不完全耐性である。INH では有数の 10^5，10^6 倍稀釈ではそれぞれ 0.1 γ 不完全耐性および 0.1 γ 完全耐性であるが，無数の 10^1 倍稀釈では 100 γ 不完全あるいは 10 γ 不完全耐性，10^2 および 10^4 倍稀釈では 1 γ 不完全耐性，10^3 倍稀釈では 0.1 γ 不完全耐性である。

以上2例でみるように接種菌量が減少するにつれて，耐性値は次第に低くなる。

次に耐性菌の検出される割合であるが，対照および抗結核剤混入の最高の培地に発育した集落が，接種菌量が多くて無数の集落を示す場合に，不完全耐性の姿をとつているものは，これを稀釈して接種し数えることのできるところでみると，やはり不完全耐性である（表 1，SM 10 γ，INH 10 γ；表 2，PAS 1 γ）。

また集落が無数で完全耐性である場合，すなわち完全耐性（不確定）のものでは，前同様にして計算してみると完全耐性であるものもあるが（表 2，SM 100 γ）不完全耐性のこともある（表 1，INH 10^1 倍稀釈の (2)(3)）。なお対照に発育した集落が 10 コというように少ないところでは，計算できた耐性菌の割合は，有数の比較的集落の多い場合に比して耐性菌の混入の割合がまちまちに現われる（表 1，10^6 倍稀釈接種；表 2，10^6 倍稀釈接種）。

以上は 2 例を示したものであるが，残りの 8 例においても同様の傾向を示している。

② 接種菌量と耐性値との統計的観察：

SM，PAS では 10 γ 以上，INH では 1 γ 以上の濃度に発育した耐性菌の出現率を接種菌量別に分けて比較した。

表 3　喀痰を材料としたときの集落数と耐性値の出現との関係

抗結核剤の種類	菌株数	濃度 γ/cc ＼ 集落数の区分	∰～＋	200～26	25～1
SM	39株	100γ	24 } 37 (94.8%)	20 } 33 (84.6%)	12 } 23 (58.9%)
		10γ	13	13	11
		1γ	2	5	14
		0.1γ		1	2
		0			
PAS	13株	100γ	1 } 7 (53.8%)	2 (15.3%)	1 (7.7%)
		10γ	6		
		1γ	5	7	7
		0.1γ	1	4	4
		0			1
INH	36株	100γ	5 } 27 (75.0%)	2 } 17 (47.2%)	0 } 10 (23.4%)
		10γ	13	7	1
		1γ	9	8	9
		0.1γ	9	18	19
		0		1	7

表 4　切除肺結核病巣より分離した結核菌を用いて耐性検査をしたときの対照に発育した集落数

培養期間	集落数 ＼ 接種菌量		10^{-1} mg	10^{-2} mg	10^{-3} mg
3 週	無数		21 (6)	18	9 (3)
	有数	26以上	0 (1)	1	5 (3)
		25以下	1 (1)	1	2
	0		2	4	8 (2)
4 週	無数		23 (7)	21	12 (5)
	有数	26以上	1	1	7 (1)
		25以下	0 (1)	1	1
	0		0	1	4 (2)
5 週	無数		23 (7)	21	14 (6)
	有数	26以上	1	2	5
		25以下	0 (1)	1	2 (1)
	0		0	0	3 (1)

注：1) 表中の数字は株数を示す。
2) ( ) は 10^{-1}mg と 10^{-3}mg の同時接種，( ) のないものは 10^{-1}mg，10^{-2}mg，10^{-3}mg の同時接種のときを示す。

① 喀痰（直接法）；

$10\sim10^6$ 倍に稀釈して接種した塗抹陽性の 10 例，$10\sim10^3$ 倍まで稀釈して接種した塗抹陰性の 29 例および塗抹陰性の 8 例，合計 47 例の耐性検査を実施したもののうち SM の検査 39 例，PAS の検査 13 例，INH の検査 36 例について，対照に発育した集落を無数のもの（卅～＋），200～26 コのもの，25～1 コのものの 3 段階に分けて耐性出現率をみた。有数のものを 25 コを境にして区別したのは，昭和 31 年の検査指針の再検査の基準が25コ以下であつたからである。

成績は表 3 のようであつて，SM，PAS，INH ともに集落の少なくなるとともに耐性菌の出現率は次第に減少してくる。

㊁　切除肺結核病巣より分離した結核菌(間接法)；$10^{-1}\sim10^{-3}$ *mg* まで接種した 24 株と 10^{-1} *mg*，10^{-3} *mg* のみを接種した 8 株についての成績を集めてみた。

まず耐性検査培地の対照に発育した集落数を㋑と同様に無数，有数（26 コ以上と 25 コ以下）に分けて 3 週，4 週，5 週の培養期間中に発育した集落数を対比してみると，表 4 のようである。まず $10^{-1}\sim10^{-3}$ *mg* を接種したものからみてゆくと当然のことながら，接種菌量の増すとともに，また培養期間のふえるとともに集落数が多くなるが，ここで注目すべきことは 10^{-3} *mg* 接種では発育しなかつたものが多いことであつて，3 週で 8 株 (33.3%)，4 週で 4 株，5 週で 3 株が発育していない。10^{-1} *mg* と 10^{-3} *mg* を接種した 8 株についても同様の傾向がみられた。これは切除材料より分離された結核菌は一般のものに比して発育が悪いためかもしれない。なお分離したときの集落数と耐性検査時の集落数との間には相関関係は認めない。

次に前同様にして SM，PAS，INH の耐性結核

表 5　切除肺結核病巣より分離した結核菌を用いたときの耐性菌の出現株数

抗結核剤の種類	培養期間＼接種菌量	10^{-1} *mg*	10^{-2} *mg*	10^{-3} *mg*
SM	3 週	7 (4)	6	2 (3)
	4 週	10 (4)	8	3 (3)
	5 週	11 (6)	8	5 (3)
PAS	3 週	3 (3)	1	0 (2)
	4 週	4 (4)	4	4 (3)
	5 週	5 (5)	5	5 (3)
INH	3 週	9 (4)	9	9 (1)
	4 週	12 (5)	10	9 (3)
	5 週	12 (5)	11	10 (4)

注：　表 4 に同じ。

表 6　対照培地に発育した少数集落の耐性の再検査

患者名およびガフキー番号	菌株番号	抗結核剤＼再検した菌株の性状		SM				PAS				INH			
		稀釈	集落数	初回検査	再検査 10^{-1} *mg*	再検査 10^{-2} *mg*	再検査 10^{-3} *mg*	初回検査	再検査 10^{-1} *mg*	再検査 10^{-2} *mg*	再検査 10^{-3} *mg*	初回検査	再検査 10^{-1} *mg*	再検査 10^{-2} *mg*	再検査 10^{-3} *mg*
[redacted] 8 号	①	10^5倍	30 コ	100 γ	100 γ	100 γ	100 γ	10 γ	100 γ	100 γ	100 γ	0.1 γ	0.1 γ	0.1 γ	0.1 γ
	②	10^6倍	1 コ	100 γ	100 γ	100 γ	100 γ	10 γ	10 γ	10 γ	10 γ				
[redacted] 6 号	③	10^5倍	20 コ	100 γ	100 γ	100 γ	100 γ								
[redacted] 6 号	④	10^4倍	180 コ	10 γ	10 γ	10 γ	1 γ	10 γ	100 γ	100 γ	100 γ	1 γ	10 γ	10 γ	10 γ
	⑤	10^6倍	10 コ	10 γ	10	10 γ	10 γ	10 γ	100 γ	100 γ	10 γ	10 γ	10 γ	10 γ	10 γ
[redacted] 4 号	⑥	10^4倍	54 コ	100 γ	100 γ	100 γ	100 γ	0.1 γ	10 γ	10 γ	10 γ	0.1 γ	0.1 γ	0.1 γ	0.1 γ
[redacted] 5 号	⑦	10^6倍	1 コ	100 γ	100 γ	100 γ	10 γ	0.1 γ							
[redacted] 5 号	⑧	10^5倍	5 コ	1 γ	100 γ	10 γ	10 γ								
[redacted] 6 号	⑨	10^6倍	2 コ	1 γ	100 γ	100 γ	100 γ	0.1 γ	10 γ	10 γ	1 γ	0.1 γ	0.1 γ	0.1 γ	0.1 γ
[redacted] 6 号	⑩	10^5倍	3 コ	10 γ	10 γ	1 γ	1 γ	1 γ	10 γ	10 γ	1 γ				
[redacted] 4 号	⑪	10^5倍	3 コ	100 γ	100 γ	100 γ	100 γ	0.1 γ	10 γ	1 γ	0.1 γ	0.1 γ	1 γ	0.1 γ	0.1 γ

菌の出現率を接種菌量と観察期間との相関において検討してみると，表5のようになる。検査指針により 10^{-3} *mg* 接種，3週判定で出現率をとつてみよう。まず 10^{-1}～10^{-3} *mg* 接種の24株についてみるとSMでもPASでもINHでも，接種菌量の多い 10^{-1} *mg*，10^{-2} *mg* 接種に比して，また観察期間の長い4週，5週に比して，かなり見落しが多いことに気が付く。10^{-1} *mg*，10^{-3} *mg* 接種の8株もほぼ同じ傾向を示している。

③ 喀痰の直接耐性検査において，対照および抗結核剤の混入してある培地に発育した少数集落の耐性の再検査：

㋑ 対照に発育した少数集落の結核菌；

11株について検査した。表6でみるように塗抹陽性の喀痰を 10^{4}～10^{6} 倍に稀釈して接種したものであつて，集落数はもつとも多いので180コ，もつとも少ないので1コであつて，11株中の6株は10コ以下である。

10^{-1} *mg*，10^{-2} *mg*，10^{-3} *mg* を接種したが，対照に発育した集落数をみると，10^{-1} *mg*，10^{-2} *mg* では全部無数であつたが，10^{-3} *mg* では8株が無数，26コ以上が2株，25コ以下が1株であつた。検査指針により 10^{-3} *mg* 接種で判定し初回検査と比較してみよう。まずSMについての11株の成績をみると7株は一致しているが，⑧⑨の2株は耐性値が高く，④⑩の2株は低くなつている。次にPASの8株では初回検査に比して高く出たのは①④⑥⑨の4株であつて，他の4株は差がない。またINHの6株では④の1株だけが高いが，その他は差がない。

以上を総括するとPASでは再検査において耐性の上昇を認めたものが多いし，SM，INHでは少ない。

㋺ 抗結核剤の混入した培地に発育した少数集落の結核菌；

表7のようにSMでは100γのもの4株，PASでは1～100γのもの12株，INHでは1～100γのもの9株，合計25株を検査した。発育した集落は1～31コであつて，耐性の再検査で対照に発育した集落数は 10^{-1} *mg* 接種では全部無数であつたが，10^{-2} *mg* 接種では20株が無数で，26コ以上が2株，25コ以下は2株であつたし，10^{-3} *mg* 接種では10株が無数で，8株が26コ以上，6株が25コ以下であつた。この集落数は，㋑の対照に発育した菌株に比してがいして少ない。前同様に 10^{-3} *mg* 接種で判定すると，発育した濃度より高い耐性を示したものはPAS 10γの濃度に発育した2株と1γに発育した1株との3株である。低い耐性を示したものはPAS 100γの1株，PAS 10γの1株，INH 100γの3株，INH 1γの1株合計6株である。そして残りの16株すなわち75％は一致している。この場合 10^{-1} *mg* で判定すると，その全部が発育した濃度かそれ以上の濃度に耐性を示している。

なお㋑㋺ともに接種菌量の減るにつれて耐性値は低くなつている。

表7 抗結核剤の混入した培地に発育した少数集落の耐性の再検査

抗結核剤の種類	抗結核剤の濃度	菌株数	再検査の菌株の性状 集落数	再検査の菌株の性状 発育までの期間(週)	再検査の成績 接種量／濃度	10^{-1} *mg*	10^{-2} *mg*	10^{-3} *mg*
SM	100γ	4株	1～7	Ⅲ～Ⅴ	100γ	4	4	4
					10γ			
					1γ			
					0			
PAS	100γ	3株	11～25	Ⅳ～Ⅴ	100γ	3	3	2
					10γ			1
					1γ			
					0			
	10γ	8株	1～31	Ⅲ～Ⅴ	100γ	5	3	2
					10γ	3	5	5
					1γ			1
					0			
	1γ	1株	11	Ⅳ	100γ	1	1	
					10γ			1
					1γ			
					0			
INH	100γ	3株	2～30	Ⅳ～Ⅴ	100γ	3	2	
					10γ		1	2
					1γ			1
					0.1γ			
					0			
	10γ	4株	2～12	Ⅲ～Ⅴ	100γ	1	1	
					10γ	3	3	4
					1γ			
					0.1γ			
					0			
	1γ	2株	2～4	Ⅳ～Ⅴ	100γ			
					10γ			
					1γ	2	1	1
					0.1γ		1	1
					0			
対照の集落数						Ⅲ～Ⅲ	Ⅱ～＋	＋～有 数

注：1) 表中の数字は株数を示す。
2) 集落数，発育までの期間は最少～最多，最短～最長を示す。

Ⅳ 総括および考察

わが国の検査指針[3]では，直接法でも間接法でも集

落が無数の場合は完全耐性であっても一応不確定として，再検査し数えることのできるところで確定している。また間接法では 10^{-3} *mg*, 10^{-4} *mg* を接種してなるべく有数にして判定している。

東村[4)~7)]もカナマイシンをはじめとして，その他の抗結核剤の耐性検査には対照に発育する集落の数が 20～150 コとくに50コに近いように接種することを提唱している。この提案は検査指針の考えとほぼ同様である。

ところで私の今度の喀痰，切除肺病巣より分離した結核菌を用いた実験および再検査の実験においては，集落の有数は無数に比して，また有数でも25コ以下では，26コ以上の場合に比して耐性菌を見落とすことを示している。この事実は保存人型結核菌を用いた第2報の成績とほぼ同様である。したがつて，耐性結核菌を見落とさないようにするのには接種菌量を多くすべきである。

接種菌量を多くすれば種々の弊害があると称されている。その1つは耐性菌の割合がはつきりしないことであり，他の1つは見せかけの耐性があるということである。しかしこれらのことは耐性検査や臨床的な処理のうえにはあまり障害にならないであろうことは前報でも述べたが，今回の実験においてこれを再確認した。

なお，対照に多数の集落を認めたときに抗結核剤の混入した培地に 1～2 コの少数の集落を認めることがあるが，この場合は化学療法を実施していることであるから，自然耐性菌ということよりも，化学療法剤によつて獲得された少量耐性菌を考えねばならない。化学療法剤の使用の継続した患者においては，当初 1～2 コの耐性菌であつたものが，数カ月後の検査では無数の耐性菌となつていることが多い。すなわちこれらの例は耐性結核菌の多くなる前駆とみなされるべきであろう。

次に対照に発育した少数集落の再検査であるが G.P. Youmans[8)] らは 5 コ以下，アメリカの Trudeau Society[9)] では 10 コ以下，J. Marks[10)] は 100 コ以下のときは再検査をすることを提案している。われわれの実験では 25 コ以下の少数集落であつても，耐性を示している場合は，それよりも 10 倍あるいは 100 倍量の菌を接種した場合でも，やはり耐性を示している。ただこのように数が少ないと 150 コ前後の数に比べると耐性菌の割合は区々となるから不完全，完全を区別しないで，大まかに耐性とだけ記しておけばよかろう。次に耐性を示していないときはどうか？われわれの実験では真に耐性菌でないこともあつたし耐性菌を検出したこともある。後者の場合は対照の中に耐性菌が混ざつておつて，再検査によつて対照の中で発育した菌が抗結核剤の混入している培地に発育したものであろう。このようなことはいずれの抗結核剤にも認めたが，PAS においてもつとも多い。このことは前報においても認めたところである。したがつて耐性を示していないものについては少ない耐性菌を拾い上げる意味でぜひ再検査を実施することが望ましい。

以上を総括すると，私は喀痰の直接法による検査においても，喀痰や切除肺結核病巣より分離した結核菌の間接法による検査においても保存人型結核菌で実験した成績とほぼ同様の傾向を認めたことになる。

V 結 論

喀痰および切除肺結核病巣より分離した結核菌を材料として種々の菌量を接種して，SM，PAS，INHの耐性を検査するとともに，大量の菌の接種の場合に抗結核剤の高濃度に混入した耐性検査培地に発育した少数集落，および少量の菌の接種の場合に対照に発育した少数集落の耐性の再検査を実施し，次のような成績を得た。

1) 47 例の喀痰，24 株の切除肺病巣より分離した結核菌，ならびに再検査の 36 株の実験によると，接種菌量の少なくなるとともに耐性結核菌の検出の率が次第に減少した。

2) 高濃度の抗結核剤の混入された培地に発育した少数集落は，大部分はその濃度あるいはそれよりも 10 倍の濃度に耐性を示した。

3) 対照の集落が少ないもので耐性を示しているものは，多量の接種においても耐性を示していた。また耐性を示していないものを再検査してみると耐性を示す菌株がみられた。それは SM，PAS，INH ともに認めたが，とくに PAS において著明であつた。

以上の成績から耐性結核菌を見逃がさないようにするのには，接種菌量を多くすること，また対照に発育した少数集落を再検査することが望ましい。

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校閲，御指導ならびに斎藤直蔵博士の御助力に対して感謝いたします。

文 献

1) 島田：結核，35：622，昭35.
2) 島田：結核，35：679，昭35.
3) 検査指針：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.
4) 東村：医学と生物学，49：87，昭33.
5) 東村：医学と生物学，51：55，昭34.
6) 東村：Chemotherapy, 7：213，昭34.
7) 東村：結核，35：109，昭35.
8) G.P. Youmans et al.：Am. Rev. Tbc., 61：569, 1950.
9) American Trudeau Society：Report of the Clinical & Laboratory Subcommitees of the Commitee on Medical Research；Am. Rev. Tbc., 65：100, 1952.
10) J. Marks：Acta tbc. scandinav., 32：63, 1956.