

PAS, INH 内服後喀痰中への混入量とその不活性化に関する研究

第 1 報 喀痰中遊離 PAS 濃度について

本 庄 茂 敏

北里研究所附属病院 (指導 小川辰次部長)

受付 昭和 34 年 8 月 14 日

I 緒 言

近時臨床上はもちろん、公衆衛生の面でも結核患者管理の必要性が強調されてくるにつれて、結核菌検索の占める地位が非常に重視されつつあり、しかも結核菌が塗抹陽性でありながら培養陰性に終わる例をわれわれは少なからず経験するようになった。その原因として諸家は喀痰中の抗結核剤、とくに PAS の関与をもつとも重視しており、喀痰中の菌量が少ないほどこの現象が起こりやすいと報じているので、微量排菌者の塗抹陰性に終わる喀痰では一層培養陰性の傾向が強であろうことが推測できる。

そこで私は PAS 投与中の患者の投薬中止後時間を追って喀痰を採取し、それにどの程度の遊離 PAS が含有されているものか、あるいは投薬中止後大体何時間経て採痰すれば PAS の影響を受けることなく適正な結核菌培養を行なうことができるかを知らうとして以下の実験を行なった。

II 実験方法

実験対象として当院入院中の PAS 投与患者 75 名中 PAS のカルシウム塩 (以下 PAS Cal と略) 毎日 10 g 3 回分服のもの、4 回分服のものとの 2 群について一時その内服を中止し、最後の投薬時より 1, 2, 4, 8, 12, 18, 24 および 36 時間後の 8 区分中 1 人 1 回ないし 4 回採取した喀痰を実験材料とした。

喀痰はまずパラトルオール、スルホン酸で除蛋白のうえコロジオン膜にて限外濾過して無色透明な液体とし、チアゾ化後津田試薬で発色せしめる 芦沢法¹⁾により遊離 PAS 濃度を測定した。すなわち発色させた喀痰の吸光度をベックマン吸光度計で測定しあらかじめ濃度既知の PAS 水溶液にて吸光度の標準曲線を作成しておき被検材料の喀痰にて測定した数値をこのグラフにあてはめてその濃度を算出した。

なお前もつておのおのの喀痰の限外濾液と蒸溜水との吸光度の差を求めておいて水溶液による標準曲線との誤差を補正した。

また実験の対象とした患者はすべて PAS のほかに

INH あるいはストレプトマイシンを併用しているが、この測定法ではそれらの薬剤は実験成績に影響しないのであえて問題にしなかつた。

III 実験成績

1) PAS Cal 10 g 宛 3 回分服している患者についての 3.3 g 最終服用後の成績

患者 48 名について最後の 3.3 g 服用後投薬を中止して延べ 99 件の喀痰を採取し、その遊離 PAS 濃度と最後の服薬から採痰までの時間との関係を示すと表 1 図 1 のごとくなる。すなわち服薬後 1~2 時間までは口腔中に残存する PAS のためか、非常に高濃度を示すものがあるがおおむね 3.0 γ /cc 以下の濃度である。

4 時間後の 17 件では 6.2 γ /cc が 1 件、2.0~3.0 γ /cc 4 件、他の 12 件は 0.2~1.7 γ /cc の間の濃度である。

8 時間後の喀痰は 1 例のみしか測定しなかつたが、3.6 γ /cc であつた。

12 時間後の 28 件中では 26 件が 0.1~1.6 γ /cc の範囲に密集しており、やや高く離れて 12.2 γ /cc と 5.1 γ /cc の濃度を検出したものが各 1 件認められた。

18 時間後の 10 件および 24 時間後の 12 件中、2.2 γ /cc が各 1 件、1.1 γ /cc が 18 時間後に 1 件、他はすべて 1.0 γ /cc 以下であつた。

36 時間後の 6 件はすべて 1.0 γ /cc 以下であり、うち 2 件は 0 γ であつた。

平均値は 1 件のみの 8 時間値を除けば、なだらかに低下している。

以上の成績から最小自乗法により傾向線を求めるとその実験式は $y = e^{\left(\frac{-0.048t - 0.281}{0.4343}\right)}$ となる。この式

で Y は喀痰中 PAS 濃度 (γ /cc)、t は PAS 内服後採痰までの経過時間を表す。e は対数の底である。

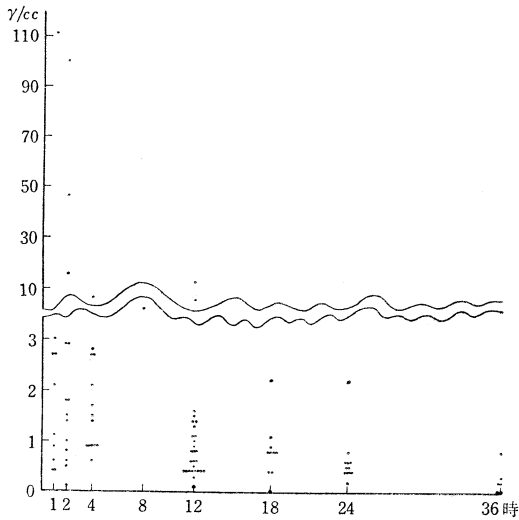
2) PAS Cal 毎日 10 g ずつ 4 回分服している患者についての 2.5 g 最終服用後の成績

前回同様に患者 27 名について延べ 57 件の喀痰中遊離 PAS 濃度と服薬後の経過時間との関係を示したのが表 2 および図 2 であるが、一般に 3.3 g 内服例よ

表1 PAS Cal 3.3g 内服後採痰までの経過時間と喀痰中遊離PAS濃度との関係

時間	1	2	4	8	12	18	24	36	
遊離PAS濃度 (γ/cc)	336.0	100.0	6.2	3.6	12.2	0.5	2.2	2.2	0.8
	111.3	46.2	2.8		5.1	0.4	1.1	0.8	0.3
	3.0	15.4	2.7		1.6	0.4	0.9	0.6	0.2
	2.7	2.9	2.7		1.5	0.4	0.8	0.6	0.2
	2.7	2.9	2.1		1.4	0.4	0.8	0.6	0
	2.1	1.8	1.7		1.4	0.4	0.8	0.5	0
	1.1	1.8	1.5		1.3	0.4	0.8	0.5	
	0.9	1.5	1.4		1.1	0.4	0.4	0.4	
	0.6	1.4	0.9		1.1	0.4	0.4	0.4	
	0.4	1.0	0.6		1.0	0.3	0	0.4	
0.4	0.8	0.6		0.9	0.1		0.4		
	0.6	0.6		0.8			0.2		
	0.5	0.6		0.8					
	0.1	0.6		0.8					
		0.4		0.6					
		0.4		0.6					
		0.2		0.6					
例数	11	14	17	1	28	10	12	6	
平均値	42.0	12.6	1.5	3.6	1.3	0.8	0.6	0.3	

図1 PAS Cal 3.3g 内服後採痰までの経過時間と喀痰中遊離PAS濃度との関係



りも低い値を示している。

服薬後1時間目に採った喀痰ではやはり高濃度の遊離PASを検出するものもあるが、おおむね0.5~3.0 γ/cc の範囲内にあり、2時間後の喀痰でも大体同様である。

4時間後の9件では2.1 γ/cc 1件、他は0.4~1.4 γ/cc の間にある。

8時間後の10件では14.0 γ/cc 、11.2 γ/cc および

3.4 γ/cc のもの各1件が高く離れて散在し、他は0.2~0.9 γ/cc の間に密集している。

12時間後の9件では1件のみ6.5 γ/cc のものとび離れているほかは0.2~1.2 γ/cc の間にある。

18時間後の6件ではすべて1.0 γ/cc 以下で0.4~0.8 γ/cc の間である。

24時間後の7件も、うち2件は0 γ で他の5件も0.2~0.8 γ/cc の間の低濃度である。

36時間のものは1件のみ測定したが0.2 γ/cc であった。

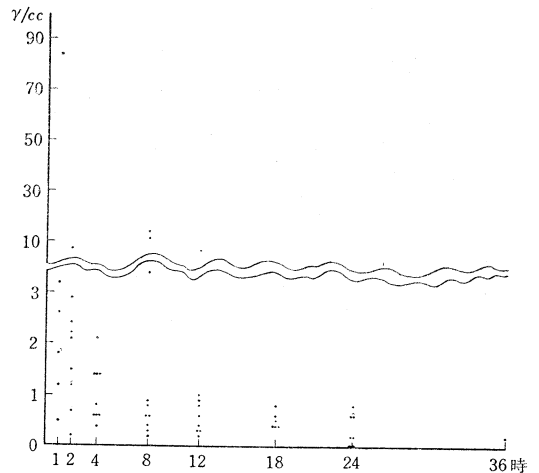
平均値もやや低いが3.3g内服例と近似の傾向を示している。

以上の成績から最小自乗法により傾向線を求めるとその実験式は $y = e^{\left(\frac{-0.0423t - 0.4782}{0.4343}\right)}$ となる。

表2 PAS Cal 2.5g 内服後採痰までの経過時間と喀痰中遊離PAS濃度との関係

時間	1	2	4	8	12	18	24	36
遊離PAS濃度 (γ/cc)	84.0	7.3	2.1	14.0	6.5	0.8	0.8	0.2
	3.2	2.9	1.4	11.2	1.0	0.6	0.6	
	2.6	2.4	1.4	3.4	0.9	0.5	0.6	
	1.8	2.2	1.4	0.9	0.8	0.4	0.2	
	1.2	2.1	0.8	0.8	0.6	0.4	0.2	
	0.5	1.5	0.6	0.6	0.4	0.4	0	
		1.2	0.6	0.6	0.3		0	
		0.7	0.6	0.4	0.3			
		0.2	0.4	0.3	0.2			
					0.2			
例数	6	9	9	10	9	6	7	1
平均値	15.6	2.3	1.0	3.2	1.2	0.5	0.3	0.2

図2 PAS Cal 2.5g 内服後採痰までの経過時間と喀痰中遊離PAS濃度との関係



3) 2.5 γ/cc 以上, 5.0 γ/cc 以上および 10.0 γ/cc 以上の遊離 PAS 濃度の出現する確率

1) および 2) の実験成績から 12 時間後, 18 時間後および 24 時間後に採つた喀痰についての上記濃度の出現する確率をみると表 3 のごとくなる。すなわち 3.3 g 内服患者では 12 時間後の喀痰中「2.5 γ/cc 以上」の遊離 PAS 濃度の出現率は 30.1 % でかなり高いが, 「5.0 γ/cc 以上」は 5.37 % であり, 「10.0 γ/cc 以上」となると 0.01 % 以下できわめて低い。

18 時間後では「2.5 γ/cc 以上」検出される率が 0.28 % で, 「5.0 γ/cc 以上」の出現率はほとんど 0 に等しい。

24 時間後になると「2.5 γ/cc 以上」の濃度で 0.1% 以下であり, 「5.0 γ/cc 以上」はほとんど出現しない。

2.5 g 内服患者では 12 時間後「2.5 γ/cc 以上」の濃度の出現率が 25.79 % , 「5.0 γ/cc 以上」が 2.87 % であつて, 「10 γ/cc 以上」は 0 % に近い。そして 18 時間以上経つと「2.5 γ/cc 以上」の出現率もほとんど 0 である。

表 3 PAS Cal 内服後採痰までの経過時間と喀痰中遊離 PAS の濃度別出現率

内服量	濃度 時間	2.5 γ/cc	5.0 γ/cc	10.0 γ/cc
		以 上	以 上	以 上
3.3 g	12時間	30.1 %	5.37 %	0.01% >
	18時間	0.28 %	≒ 0 %	≒ 0 %
	24時間	0.1% >	≒ 0 %	≒ 0 %
2.5 g	12時間	25.79%	2.87 %	≒ 0 %
	18時間	≒ 0 %	≒ 0 %	≒ 0 %
	24時間	≒ 0 %	≒ 0 %	≒ 0 %

4) 同一患者の喀痰中の遊離 PAS 濃度の時間的推移を追求した例

イ) 患者 K. (図 3)

PAS Cal 毎日 10 g ずつ 3 回分服患者について 3.3 g の最終内服後投薬を打切つて 1, 2, 4 および 12 時間目の 4 件の喀痰中における遊離 PAS の最高濃度は 4 時間後の 2.7 γ/cc で他はほぼ 1.0 γ/cc であつた。

ロ) 患者 W. (図 4)

PAS Cal 毎日 10 g 宛 3 回分服患者について 3.3 g の最終内服後, 投薬を打切つて前例と同様に採つた 4 件の喀痰での 1 時間後の濃度は 2.7 γ/cc , 2 時間後が最高で 2.9 γ/cc を示し, 4 時間後 1.5 γ/cc , 12 時間後は 0.4 γ/cc と下降した。

ハ) 患者 F. (図 5)

PAS Cal 毎日 10 g ずつ 4 回分服の患者について 2.5 g の最終内服後, 投薬を打切つて前同様の方法で採痰し, 約 3 カ月の間隔をおき前後 2 回測定を行なつた

例であるが, 第 1 回目の喀痰中濃度は 1 時間後 1.2 γ/cc , 2 時間後が最高で 2.2 γ/cc , 4 時間後および 8 時間後はそれぞれ 0.6 γ/cc , 0.4 γ/cc と低下した。

第 2 回目の喀痰では各時間ともに前回よりやや高い濃度を示したが, 消長の傾向はおおむね一致している。すなわち 1 時間後は 1.8 γ/cc , 2 時間後が 2.9 γ/cc で最高, 4 時間後 2.1 γ/cc , そして 12 時間後は 0.9 γ/cc であつた。

図 3 患者 K.
PAS Cal 3.3 g 内服後の喀痰中遊離 PAS 濃度推移

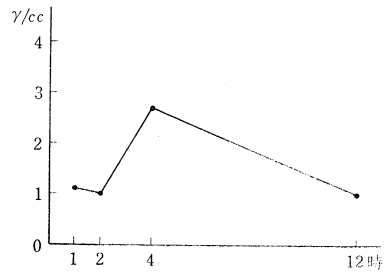


図 4 患者 W.
PAS Cal 3.3 g 内服後の喀痰中遊離 PAS 濃度推移

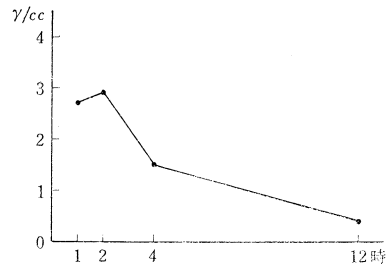
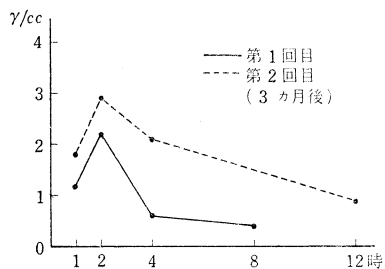


図 5 患者 F.
PAS Cal 2.5 g 内服後の喀痰中遊離 PAS 濃度推移



ニ) 患者 M. (図 6)

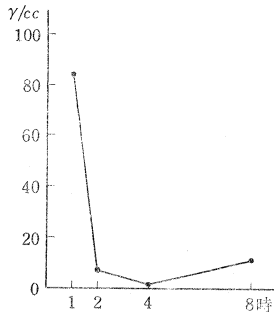
PAS Cal 毎日 10 g ずつ 4 回分服の患者で 2.5 g の最終内服後投薬を打切つて検査した例。

本例は 1 時間後の喀痰中濃度が非常に高く 84.0 γ/cc を示し, 2 時間後では急激に低下して 7.3 γ/cc となり, 4 時間後さらに 1.4 γ/cc と低下, その後再び上昇

して8時間後の喀痰では11.2 γ/cc を検出した。

以上4例にみるごとく、対象患者の異なるに従い喀痰中遊離PAS濃度の時間的推移も異なつたパターンを示している。

図6 患者 M.
PAS Cal 2.5 g 内服後の喀痰中遊離
PAS 濃度推移



IV 総括および考案

喀痰中に混入していた抗結核剤が培養のさいに培地中に入るとして、もしその量が阻止濃度以上であれば感性的結核菌はたとえその材料中に混在していても発育しないし、また阻止濃度以下であつたとしても抗結核剤によつて傷めつけられた結核菌であれば発育しないようなこともありうると思われる。事実小川²⁾、中村^{3) 4)}、山岡⁵⁾、東村⁶⁾らは菌液による実験によりこのことを証明している。それで私は喀痰の正確な培養検査を実施するためにはまずこれら抗結核剤が投与されたのちどの程度に喀痰中に検出されるかを実験することが必要と思ひ、その手はじめとしてPASについて実験した。

PAS についての報告は Fruhlinger⁷⁾ がはじめてであつて、その後2, 3の報告があるがいずれも実験例数も少なく、投与後の検査の時間も短い。

私は前述のように3.3 g 服用の患者および2.5 g 服用の患者について、前者は48例、延べ99件、後者は27例、延べ57件につき時間も1時間より36時間の間の8回にわたつて実験した。その結果はがいて個人差が著明であるがこれを平均すると、3.3 g 服用の患者、2.5 g 服用の患者ともに服用後1時間の濃度をもつとも高く、経過時間の長びくに従い次第に減少している。なお3.3 g 服用患者に比し2.5 g 服用の患者では平均値が比較的低いことは当然であろう。

私の成績は Fruhlinger、中村、山岡らの投与量とも異なるしまた測定の間も異なるので成績の詳細の点は比較しがたいが、ほぼ同じような傾向の成績を示しているとみることができる。次に小川らの定量培養法によれば8% 苛性ソーダを喀痰に等量に加えてこれを2倍に稀釈しその0.1 cc を5 cc ずつ分注した3% 小川培

地に接種するのであるから、培養された喀痰が5 cc の培地に平等に分注されたとすると、喀痰は培地によつて $2 \times 50 = 100$ 倍に稀釈されることになる。

小川培地では培地1 cc についてPASが0.1 γ 以上であれば結核菌は発育しない。喀痰についていえば100倍に稀釈されたもののPASの混入量が0.1 γ/cc 以上であれば発育しない。すなわち喀痰の中にPASの量が10 γ/cc 以上混入されれば結核菌は発育しないことになる。この量以上を示す時間をみると、平均では3.3 g 服用では2時間まで、2.5 g 服用では1時間までであるが、1回でも10 γ 以上検出された最長の時間をみると、3.3 g 服用では12時間経過後に1回あり、2.5 g 服用では8時間が最長であつてこの時間に2回検出されている。

また統計学的に5 γ/cc および10 γ/cc 以上の濃度の検出される確率を算出しても前述のように18時間経過後ではほとんど0である。

これらの成績から、培地中におけるPASの量を阻止濃度以下にすることだけを考えてみると、われわれの今までに実施しつつある毎食後の1日3回分服の場合でもあるいは4回分服においても夕食後からの服用を中止して翌朝採痰する、すなわち19時間経過後に、または採取前日の朝から中止して翌朝採取する、すなわち38時間経過後に採取することは理に適つていると考えられよう。

しかし阻止濃度以下であつても、菌液による小川や山岡、東村らの実験によれば発育に影響を及ぼすから抗結核剤を投与してから喀痰採取までの時間をなるべく長くすることが望ましい。しかしそのような考慮によつても生活力の弱つている結核菌は発育しないかもしれない。

V 結 論

1) PAS Cal 毎日10 g ずつ3回分服の患者について3.3 g 最終投与後のと、4回分服の患者について2.5 g の最終投与後、いずれも投薬を中止して喀痰中遊離PAS濃度の時間的推移をみると両者の間に傾向としては大差が認められないが、3回分服患者のほうがわずかに高い値を示した。

2) PAS Cal 内服後1時間目および2時間目の喀痰中の遊離PASは非常に高濃度を呈し、1時間目の最高336 γ/cc 、2時間目の最高100 γ/cc の濃度を検出した。

3) 服薬後8時間目の喀痰11件中4件が3 γ/cc 以上でそのうち2件は10 γ/cc 以上であつた。12時間目の37件中5.1 γ/cc 、6.5 γ/cc および12.2 γ/cc の濃度がそれぞれ1件あり、24時間目の19件中にも2.2 γ/cc のものが1件検出された。

4) 統計学的にPAS Cal 服用後12時間目までの

喀痰中には「2.5 γ /cc 以上」あるいは「5.0 γ /cc 以上」の遊離 PAS を含んでいる可能性がかなりある。しかし 18 時間目以後になると「2.5 γ /cc 以上」の濃度でもその出現する確率はきわめて低いかあるいは 0 に近い。

5) 喀痰中遊離 PAS 濃度の時間的推移は個人差が大きい。

6) 以上により結核菌培養に影響しない遊離 PAS 濃度の喀痰を得るためには採痰前なるべく長時間、少なくとも 18 時間以上 PAS の投与を中止することが望ましい。やむをえずそれ以内の時間に投与を受けた患者の喀痰にあつてはその拮抗剤を含有する培地でもつて培養すべきであろう。

終りにのぞみ御校閲を賜つた東京女子医科大学平野

憲正教授および御指導をいただいた北里研究所附属病院小川辰次部長ならびに北里研究所西村民男博士に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 芦沢久子 他：抗研誌, 10:169, 昭30.
- 2) 小川辰次 他：綜合研究結核 研究委員会 細菌科会に報告, 昭27.
- 3) 中村善紀：日結, 13:954, 昭29.
- 4) 中村善紀：結核診療, 8:45, 昭30.
- 5) 山岡憲二 他：結核, 32 (特集号):347, 昭32.
- 6) 東村道雄：医学と生物学, 44:108, 昭32.
- 7) B. Fruhlinger et al.: Am. Rev. Tuberc., 68:42, 1953.