

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1報 現在行なわれている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の耐性検査における自然耐性結核菌の実態

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 緒 論

化学療法剤の広く使用されるにつれて, 耐性結核菌の感染による発病が報告されている^{1)~6)}。したがって耐性検査は従来のように単に化学療法剤を使用したときに耐性菌が出現するかどうかを検査するだけではなくて, 化学療法をしないときに認められた耐性菌がはたして耐性結核菌の感染によるものか, あるいは自然耐性菌であるのかを判定する必要に迫られている。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) の自然耐性菌については厚生省結核療法研究協議会の成績を柳沢⁷⁾が報告しているが, 詳細についてはふれていない。

それでここでは SM, PAS, INH に対して全く感性である 2 株の保存人型結核菌を耐性検査の培地に種々の量を接種して 8 週間にわたって観察し, 自然耐性菌の実態をつかむとともに, これらの成績から, 現在実施されている検査方法について 2, 3 検討したので御批判を仰ぎたい。

II 実験方法

① 菌株

H₃₇Rv 株, 黒野株を用いた。両菌株ともに毒力の強い保存人型結核菌であつて, SM, PAS, INH に対しては感性である。

② 培地

所定混入濃度の 50 倍量の SM, PAS, INH の溶液を作り, これを 5 cc 宛分注して凝固滅菌した 1% 小川培地に 0.1 cc 宛流し込み, 全斜面を潤し, 1 晩 37° C の孵卵器に保存して乾かし, 培地 1 cc について次のような混入濃度の 1 系列の培地を作つた。

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

③ 培養の方法

④ 第 1 回目の検査

1% 小川培地 2 週間培養のもので滅菌蒸留水により菌浮遊液を作り, SM, PAS, INH を混入して作つた 1 系列の耐性検査培地に, 5 mg, 1 mg, 10⁻¹ mg, 10⁻² mg, 10⁻³ mg を 0.1 cc 宛に含ませて培養し, 斜面を全部潤し, 斜面台に水平にねかして 1 晩 37° C の孵卵器で乾燥し, 翌日ゴムのキャップに変えて, 立てて培養し, 1 週ごとに 8 週まで観察した。なお接種菌数の多い列では高濃度の抗結核剤の混入のところに, 集落の発育する頻度が多いことが考えられるので, これらの菌株を多く集めるために 5 mg, 1 mg 等の接種菌量の多い列は同一の検査培地の 2~5 列に同時に培養した。

⑤ 抗結核剤の濃度の高い培地に発育した集落の再検査

継代をしないで, 集落を認めてから 1~2 週のうちに, その全部をかきとつて菌液を作り, SM, PAS, INH を前同様に混入した 1 系列の 1% 小川培地に 10⁻¹ mg, 10⁻² mg, 10⁻³ mg を接種して 4 週まで観察した。

④ 判定

④ 第 1 回目の検査

種々の菌量を接種した場合, 対照とほぼ同数の集落を認めた抗結核剤の最高の濃度で, しかも 8 週間の観察において, それよりも 10 倍量混入されている培地に集落の発育を認めない場合は, その濃度をその感性菌の最高発育濃度とし, その最高発育濃度の 10 倍, 100 倍, 1,000 倍等の濃度の混入されている培地に発育した集落を, 自然耐性菌とよぶことにする。

⑤ 抗結核剤の濃度の高い培地に発育した菌株の再検査

自然耐性菌の出現しないもつとも多い接種菌量すなわち SM では 10⁻³ mg, PAS では 10⁻¹ mg, INH では 10⁻² mg の接種において発育した最高濃度をもつ

て、その菌の耐性値とした。

Ⅲ 実験成績

① SM, PAS, INH に対する感性菌の最高発育濃度と自然耐性菌の出現の状態

④ H₃₇Rv 株

成績は表1に示した。SM についてみると、10⁻³ mg の接種では8週観察でも、1γまでの発育であつて、10γでは発育していない。接種量がそれよりも多い10⁻¹ mg, 10⁻² mg では5週および4週にそれぞれ2コ以上の少数の集落を10γに認めるし、さらに多い1 mg 接種では、3週で10γに50コ以上の集落数を認めている。5 mg の接種では1週で無数の集落が10γに発育しているし、100γに5コ以上の集落を認めている。それでSMでは1γは最高発育濃度とみることができ、100γ, 10γに発育した集落は自然耐性菌とみることができる。

同様の見方をすればPASでは0.1γが最高発育濃度であつて1γに発育したものは自然耐性菌といえようし、INHでは<0.1γが最高発育濃度であつて、10γ, 1γ, 0.1γに発育したものは自然耐性菌といふことができる。

⑤ 黒野株

成績は表2のようである。黒野株においても全く同様であることは、表2にみられるようであつて、H₃₇Rv 株と同様に最高発育濃度はSMでは1γ, PASでは0.1γ, INHでは<0.1γである。そして自然耐性菌もH₃₇Rv 株とほぼ同様の傾向において認められる。

② 自然耐性菌の出現の頻度、集落数および集落の発育するまでの期間

上述のような接種の仕方では同一接種菌量を何系列かたてて、自然耐性菌の出現の株数、集落数、集落の発育の期間等について、総括してみると表3, 4, 5のようになる。

① 頻度

まず自然耐性菌の出現の頻度は、SMでは表3のように感性菌の最高発育濃度の100倍の100γおよび10倍の10γのみについてみた。100γの自然耐性菌はH₃₇Rv 株では5 mg, 1 mg のように接種菌量の多い8列からは6株みているが、10⁻¹~10⁻³ mg のように接種菌量が少ない5列中からは1株も耐性菌は認められない。黒野株でも1 mg 接種の5列からは4株認めているが10⁻¹~10⁻³ mg の4列からは1株も認めない。また10γの自然耐性菌はH₃₇Rv 株では5 mg, 1 mg 接種の8列からは8株(このうち6株は100γにも発育している)、10⁻¹~10⁻³ mg の5列からは3株認めている。黒野株においても、1 mg 接種の

5列からは5株(うち4株は100γにも発育している)、10⁻¹~10⁻³ mg 接種の4列からは3株の自然耐性菌を認めている。

次にPASでは表4のように感性菌の発育する最高発育濃度の1,000倍の100γの自然耐性菌はH₃₇Rv 株, 黒野株ともに接種菌量の如何にかかわらず1株も認めない。100倍の10γではH₃₇Rv 株, 黒野株ともに接種菌量の多い5 mg, 1 mg ではそれぞれ9列中の1株, 10列中の1株に自然耐性菌を認めているが、10⁻¹ mg 接種では両株ともに認めていない。次に10倍の1γではH₃₇Rv 株では5~1 mg の接種では9列中の8株(うち1株は10γにも発育している), 黒野株では10列中の7株(うち1株は10γにも発育している)に自然耐性菌を認めるが、10⁻¹ mg 接種では両株とも発育していない。

次にINHでは表5のように最高発育濃度の10,000倍の100γでは両株ともにそれぞれ12列および13列実施しているが、接種菌量の如何にかかわらず1株の自然耐性菌も認めない。次に1,000倍の10γではH₃₇Rv 株では大量の5 mg, 1 mg 接種の10列中より5株, 黒野株では10列中の7株に自然耐性菌を認めるが、10⁻¹~10⁻³ mg 接種では、それぞれ2列および3列実施しているが、1株も自然耐性菌は認めていない。次に100倍の1γではH₃₇Rv 株では大量接種の10列中の9株(うち5株は10γにも発育している), 黒野株では10列中10株(うち7株は10γにも発育している)に自然耐性菌を認めるが、10⁻¹~10⁻³ mg の少量接種ではいずれも自然耐性菌は認めていない。次に10倍の0.1γでは大量接種ではH₃₇Rv 株, 黒野株ともにそれぞれ10列を実施しているが、その全例に自然耐性菌を認めている(H₃₇Rv 株ではそのうちの9株, 黒野株では10株が1~10γにも発育している)。10⁻¹~10⁻³ mg 接種では2列中の1株, 3列中の1株に自然耐性菌が発育している。

③ 集落数

表3, 4, 5でみるようにSMにおける100γ, PASにおける10γ, INHにおける10γのように高度の自然耐性菌では接種菌量の如何にかかわらず10コ以下の少ない集落であるが、この中でもPASは1コ, 3コであつて、この3者の中ではもつとも少ない。耐性の度の低いSM 10γ, PAS 1γ, INH 1γ, 0.1γの自然耐性菌では接種菌量の如何にかかわらずPASはやはりもつとも少なく1~6コであつて、INHはこれより多少多く2~16コである。もつとも多いのはSMであつて、接種菌量の多い5 mg, 1 mg では多数のものも認められるが、接種菌量の少ない例では10コ以下である。

④ 集落の発育するまでの期間

表 1 H₃₇Rv 株の SM, PAS, INH に対する

抗結核剤の種類・ 混入濃度(γ/cc)		接種菌量	5 mg								1 mg							
			観察期間(週)		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI
S M	100 γ		-	-	2	4	⑤											
	10 γ		+	+	+													
	1 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PAS	100 γ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 γ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 γ		-	-	-	-	②											
	0.1 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
INH	100 γ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 γ		-	-	-	-	-	3	⑥									
	1 γ		-	-	-	2	⑥							1	1	1	③	
	0.1 γ		-	-	-	11	37	37	40	40				1	2	2	6	
	0 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: 1) - は集落の発育を認めぬこと, 数字は実際の集落数, +~+ は無数の集落数を示す。
 2) ○を付したものは再検査を実施したものである。

表 2 黒野株の SM, PAS, INH に対する

抗結核剤の種類・ 混入濃度(γ/cc)		接種菌量	5 mg								1 mg							
			観察期間(週)		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI
S M	100 γ																	
	10 γ																	
	1 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PAS	100 γ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 γ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 γ		-	-	-	①												
	0.1 γ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
INH	100 γ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 γ		-	-	-	-	-	-	①					4	⑥			
	1 γ		M	M	③													
	0.1 γ		M	M	+	7	14	23	23	23	23							
	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: 表1に同じ。

表 3, 4, 5 でみるように早いのは SM であつて, 1~2週間で耐性菌を認めるものがある。次に PAS と INH では前者に比して遅れて発育しているが, 耐性の度の低いところでは, それでも 2~3 週で発育しているものもある。なお両者の差ははつきりしない。

③ 自然耐性菌と推定されるものの耐性の再検査の成績

これらの自然耐性菌とみられるものの大部分のものを再検査した。

まず SM の自然耐性菌の再検査の成績をみると表6

最高発育濃度と自然耐性菌の出現の状態

10 ⁻¹ mg								10 ⁻² mg								10 ⁻³ mg								
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	②	-	-	-	-	-	-	2	2	3	④	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
16	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
-	-	-	-	-	-	-	-																	
-	-	-	-	-	-	-	-																	
-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅																	
卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅																	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	80	卅	卅	卅	卅	卅	卅	

最高発育濃度と自然耐性菌の出現の状態

10 ⁻¹ mg								10 ⁻² mg								10 ⁻³ mg							
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	②	-	-	-	-	1	1	1	5	5	⑤	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	40	卅	卅	卅	卅	卅	卅
卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	30	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
-	-	-	-	-	-	-	-																
-	-	-	-	-	-	-	-																
-	16	卅	卅	卅	卅	卅	卅																
-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅																
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	4	卅	卅	卅	卅	卅	卅

のように H₃₇Rv 株で 100 γ に発育した 6 株は全部 100γ に発育した。10γ に発育したものは、2 株が 100γ であつて、残りの 9 株は 10 γ であつた。

次に黒野株の 100 γ に発育した 4 株では、2 株が 100 γ、2 株が 1 γ である。10 γ に発育したのも 8 株

中 5 株が 10 γ であつて、1 株は 100 γ、2 株は 1 γ であつた。この中の 1 株は 5 週で 5 コの集落を認め たものを再検査したものであつたが、10⁻³ mg の接種 では対照に 4 コの集落を認めたものである。この株は 10⁻¹ mg 接種でもやはり 1 γ であつた。他の 1 株は

表 3 SM に対する自然耐性菌の出現の頻度, 集落数および集落の発育するまでの期間

自然耐性菌の耐性の度 (γ/cc)		100 γ				10 γ			
		系列数	発育した株数	集落数	集落発育までの期間 (週)	系列数	発育した株数	集落数	集落発育までの期間 (週)
菌株の種類	接種菌量								
H ₃₇ Rv 株	5 mg	4	4	2~5	II~VII	4	4 (4)	II~III	II~III
	1 mg	4	2	1~1	V~VII	4	4 (2)	2~II	II~IV
	10 ⁻¹ mg	1	0			1	1	2	V
	10 ⁻² mg	2	0			2	2	1~3	II~III
	10 ⁻³ mg	2	0			2	0		
黒野株	5 mg								
	1 mg	5	4	1~5		5	5 (4)	II~III	I~II
	10 ⁻¹ mg	1	0			1	1	5	V
	10 ⁻² mg	2	0			2	2	5~5	II~V
	10 ⁻³ mg	1	0			1	0		

注: 1) 集落数および集落の発育するまでの期間は 2 株以上のものについては, それぞれ最小~最大を示す。

2) 発育した集落数の項目中の () はその系列に後で 100 γ の耐性菌を認めたものを示す。

表 4 PAS に対する自然耐性菌の出現の頻度, 集落数および集落の発育するまでの期間

自然耐性菌の耐性の度 (γ/cc)		100 γ		10 γ				1 γ			
		系列数	発育した株数	系列数	発育した株数	集落数	集落発育までの期間 (週)	系列数	発育した株数	集落数	集落発育までの期間 (週)
菌株の種類	接種菌量										
H ₃₇ Rv 株	5 mg	4	0	4	1	1	VIII	4	4(1)	1~2	IV~VIII
	1 mg	5	0	5	0			5	4	1~6	V~VIII
	10 ⁻¹ mg	1	0	1	0			1	0		
	10 ⁻² mg										
	10 ⁻³ mg										
黒野株	5 mg	5	0	5	1	3	VI	5	5(1)	1~3	II~V
	1 mg	5	0	5	0			5	2	1~1	IV~VIII
	10 ⁻¹ mg	1	0	1	0			1	0		
	10 ⁻² mg										
	10 ⁻³ mg										

注: 1) 表 3 の注 1) に同じ。

2) () は後で 10 γ に発育した株数を示す。

2 週後に無数の集落を認めたものを再検査したもので, その後 5 週で 100 γ に 5 コの集落を認めたものであつて, 10⁻³ mg の対照の集落も多かつたのであるが自然耐性菌ではない。

以上の成績中 H₃₇Rv 株の 10 γ に発育したものの 11 株中初回の検査で同じ薬剤の 100 γ の濃度に発育したものが 6 株あつたし, 黒野株の 10 γ に発育した 8 株中でも後で同一の薬剤の 100 γ に発育したものが 4 株あつた。

次に PAS の成績は表 7 のように H₃₇Rv 株の 10 γ 自然耐性菌の 1 株, 黒野株の 1 γ の自然耐性菌の 1 株が再検査で発育を示さなかつたので, この 2 株をとり除いて検討することにする。まず H₃₇Rv 株の 1 γ

で発育した 7 株は 10 γ が 4 株, 1 γ が 3 株であつた。次に黒野株の 10 γ 自然耐性菌 1 株は 10 γ であり, 1 γ 自然耐性菌の 6 株の中の 1 株は不発育なので残りの 5 株についてみると 100 γ が 1 株, 1 γ が 3 株, 0 γ が 1 株であつた。

次に INH の成績は表 8 に示すようであつて, 10 γ および 1 γ の自然耐性菌についてのみ検査し, 0.1 γ に発育した自然耐性菌は検査していない。不発育が 3 株あつたのでこれを除いたものについてみると, その全部が発育した濃度あるいはその 10 倍量の濃度において耐性を示していた。

以上のように SM, PAS, INH に認めた自然耐性菌の大部分は, その再検査では, その濃度あるいはそれ

表5 I NH に対する自然耐性菌の出現の頻度、集落数および集落の発育するまでの期間

菌株の種類	接種菌量	自然耐性菌の耐性の度 (γ/cc)		100 γ		10 γ		1 γ		0.1 γ		0.01 γ			
		再検査した株数	SMの濃度 (γ/cc)	系列	発育した株数	系列	発育した株数	系列	発育した株数	系列	発育した株数	系列	発育した株数		
				集落数	集落発育までの期間 (週)	集落数	集落発育までの期間 (週)	集落数	集落発育までの期間 (週)	集落数	集落発育までの期間 (週)				
H ₃₇ Rv 株	5 mg	5	0	5	5	1~7	IV~VI	5	5(5)	2~16	V~VI	5	5(5)	11~38	III~IV
	1 mg	5	0	5	0			5	4	3~12	IV~VIII	5	5(4)	1~2	III~V
	10 ⁻¹ mg	1	0	1	0			1	0			1	1	1	V
	10 ⁻² mg	1	0	1	0			1	0			1	0		
	10 ⁻³ mg	1	0	1	0			1	0			1	0		
黒野株	5 mg	5	0	5	4	1~3	V~VI	5	5(4)	2~16	IV~VI	5	5(5)	7~17	III~IV
	1 mg	5	0	5	3	5~6	V~VII	5	5(3)	3~12	V~VIII	5	5(5)	1~5	II~V
	10 ⁻¹ mg	1	0	1	0			1	0			1	1	4	VII
	10 ⁻² mg	1	0	1	0			1	0			1	0		
	10 ⁻³ mg	1	0	1	0			1	0			1	0		

注: 1) 表3の注1)と同じ。

2) 1 γ の欄の () は後で 10 γ に発育した菌株数を示す。0.1 γ の欄の () は後で 1 γ に発育した菌株数を示す。

表6 SM に対する自然耐性菌の再検査の成績

菌株	自然耐性菌の耐性の度 (γ/cc)	再検査した株数	接種菌量	再検査の耐性値			備考
				10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	
				SMの濃度 (γ/cc)			
H ₃₇ Rv 株	100γ	6株	100 γ	6	6	6	
			10 γ				
			1 γ				
			0 γ				
			10γ	11株	100 γ	4	3
			10 γ	7	8	9	
			1 γ				
			0 γ				
黒野株	100γ	4株	100 γ	4	4	2	
			10 γ				
			1 γ				
			0 γ				
			10γ	8株	100 γ	1	1
			10 γ	6	5	5	
			1 γ	1	2	2	
			0 γ				

注: 1) 表中の数字は株数を示す。

2) ——— は判定の基準にした接種菌量。

より高い濃度において耐性を示すものが大部分であったが、耐性の度合をみると、その濃度に発育したものよりも高い濃度の耐性を示したのものもつとも多いのは I NH であり、次に SM であり、PAS はその傾向がもつとも弱かった。

IV 総括および考察

表7 PAS に対する自然耐性菌の再検査の成績

菌株	自然耐性菌の耐性の度 (γ/cc)	再検査した株数	接種菌量	再検査の耐性値			備考
				10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	
				PASの濃度 (γ/cc)			
H ₃₇ Rv 株	10γ	1株	100 γ				
			10 γ				
			1 γ				
			0.1 γ				
			0 γ				
			不発育	1	1	1	
黒野株	1γ	7株	100 γ				
			10 γ	4	3	1	10γにも発育したものが1株あった
			1 γ	3	2	3	
			0.1 γ	2	3		
			0 γ				
			不発育				
黒野株	10γ	1株	100 γ				
			10 γ	1	1	1	
			1 γ				
			0.1 γ				
			0 γ				
			不発育				
黒野株	1γ	6株	100 γ	1		1	
			10 γ		1		10γにも発育したものが1株あった
			1 γ	3	2	2	
			0.1 γ	1			
			0 γ	1	1	1	
			不発育	1	1	2	

注: 表6に同じ。

表 8 I NH に対する自然耐性菌の再検査の成績

菌株	自然耐性菌の濃度 (γ/cc)	再検査した株数	接種菌量 I NH の濃度 (γ/cc)	再検査の耐性値			備考
				10 ⁻¹ mg	10 ⁻² mg	10 ⁻³ mg	
H ₃₇ Rv 株	10γ	5株	100 γ	2	2	1	
			10 γ	1		1	
	1γ	9株	1 γ				10γ にも 発育した ものが 5 株あつた
			0.1 γ				
	10γ	6株	0 γ				
			不発育	2	3	3	
黒野株	10γ	6株	100 γ	5	6	6	
			10 γ	3	2	1	
	1γ	8株	1 γ				10γ にも 発育した ものが 4 株あつた
			0.1 γ				
	10γ	6株	0 γ	1	1	1	
			不発育	4	4	2	
	10γ	6株	100 γ	4	4	2	
			10 γ	2	1	2	
	1γ	8株	1 γ				10γ にも 発育した ものが 4 株あつた
			0.1 γ				
	10γ	6株	0 γ				
			不発育	6	6	6	

注：表6に同じ。

私は H₃₇Rv 株、黒野株の 2 株を用いて実験したが、自然耐性菌の点については両株は全く同様の傾向を示した。私の実験はこの 2 株だけであつて、この成績が感性菌のすべてに当てはまるかどうかは分からないが、ここでは実験した 2 株の成績を基として、耐性検査の方法や判定について 2, 3 私見を述べてみたい。耐性の検査においては、自然耐性菌が出現してくる可能性のあることは私の実験が示したようである。自然耐性菌が混入してくると種々の混乱が起こるから自然耐性菌の出現を極力避けなければならない。自然耐性菌の発育をみない接種菌量は SM では 10⁻³ mg, PAS では 10⁻¹ mg, I NH では 10⁻² mg 以下であつて、この接種菌量よりも多いと自然耐性菌が出現する。わが国の検査指針⁸⁾では間接法では 10⁻³ mg, 10⁻⁴ mg を接種するということになっているから、自然耐性菌の出現を避ける意味から考えると、この接種菌量は理論にかなつていないといえよう。

次に自然耐性菌の発現は間接法では一応このようなことで避けることはできるが、しかし実際問題として、直接法の場合は必ずしも接種菌量が 10⁻³ mg 以下のような状態にもつていけるとはかぎらない。自然耐性菌と推定されるものは、再検査してみると、大部分発育した濃度あるいはそれ以上の濃度に耐性である。しかもわれわれの実際に観察している 3~4 週、あるいは 5~6 週の期間内でもみられる。したがつて直接法において接種菌量の多い耐性検査の場合には、化学療法を実施しないのに出現した耐性菌については、耐性菌の感染か、自然耐性菌なのかを鑑別する必要があるし、化学療法剤の使用にあるいは使用後に発現した耐性菌についても自然耐性菌なのか、あるいは化学療法剤の投与によつて獲得された真の意味の耐性菌かの鑑別をしなければならない。

まず自然耐性菌は I NH においては 10 γ, SM, PAS においては 100 γ, 10 γ のような比較的高度のものをみるが、これらはいずれも集落数が 10 コ以下であつて、しかも接種菌量が多いときにかぎつている。またそれ以下の比較的低い耐性のものでも、PAS では 1~6 コ, I NH では 1~38 コのように自然耐性菌の集落数はいずれも少ないが、SM では接種菌量の少ないときは 1~5 コのように発育する集落数は少ないが、接種菌量の多いときは無数のこともしばしばみられる。それで直接法で高い耐性を示すものでは、集落数が多いものは耐性菌の感染によるか化学療法剤の投与によつて耐性となつた耐性菌で 10 コ以下の少ないものは自然耐性菌と考えてよいであろう。低い耐性では I NH, PAS においては集落が多い場合は、やはり耐性菌の感染によるか化学療法剤の投与によつて耐性を獲得した耐性菌で、少ないときは自然耐性菌と考えるべきであろう。SM では集落の少ないときは自然耐性菌と考えてよからうが接種菌量の多いときには自然耐性菌であつても沢山の集落を認めるから、この場合は自然耐性のことも考慮して慎重に判定すべきであろう。

なお自然耐性菌の出現する頻度をみると、SM でもつとも多く、ついで I NH であり、もつとも少ないのは PAS である。集落数のもつとも多いのは SM であつて、次に I NH であり、もつとも少ないのは PAS であること、また発育するまでの期間がもつとも早いのは SM であることなどはこの事実を裏書きするものであろう。したがつて直接法による耐性検査では SM に耐性が認められた場合は、自然耐性菌が多いことを考慮に入れて成績を判定しなければならない。

V 結 論

SM, PAS, I NH に対して感性である保存人型結核菌 H₃₇Rv 株、黒野株を培地 1 cc について、これらの抗結核薬が 100 γ, 10 γ, 1 γ, 0.1 γ, 0 γ と混入

された1系列の1%小川培地に5 mg, 1 mg, 10^{-1} mg, 10^{-2} mg, 10^{-3} mg と接種し8週まで観察し発育した自然耐性菌の実態につき実験した結果, 次のような成績を得た。

① 検出の頻度: もつとも多かつたのはSMに対するものであり, 次にINHであつた。PASはもつとも少なかつた。

② 検出と接種量: SMでは $5 \sim 10^{-2}$ mg, PASでは $5 \sim 1$ mg, INHでは $5 \sim 10^{-1}$ mgの接種菌量において自然耐性菌を認めたが, 10^{-3} mgでは抗結核薬のいずれを問わず自然耐性菌を認めなかつた。

③ 耐性の度: 最高のをみるとSMでは100%, INHでは10%, PASでは10%であつた(ただしSMでは1,000%は検査していない)。

④ 集落数: SMでは100%の耐性菌では, いずれも10コ以下であるが, 10%の耐性菌では無数のものもあつた。INHでは100%のものでは10コ以下であるが, 1%ではもつとも多いもので16コであり, 0.1%の耐性では38コであつた。PASではさらに少なくても10%のものも1%のものも大部分は1~3コであつて, もつとも多いものでも6コであつた。

⑤ 出現するまでの期間: SMが比較的早くて, 早いものでは1~2週でみられた。PASでは1株だけ

2週で, 他は4週以後であつた。またINHではいずれも4週以後であつた。

⑥ 抗結核薬の濃度の高い培地に発育した耐性菌株の再検査の成績: 大部分はその発育した濃度かあるいはその10倍, 100倍量の濃度でも発育する耐性菌であつた。

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) Wallace Fox et al.: Tubercle, 38: 71, 1957.
- 2) D.A. Mitchison et al.: Tubercle, 38: 85, 1957.
- 3) 佐藤 他: 結核, 33 (増刊号): 396, 昭33.
- 4) 大里: 結核, 33 (増刊号): 396, 昭33.
- 5) 後藤 他: 結核, 34 (増刊号): 121, 昭34.
- 6) 昭和33年結核実態調査: 結核予防会発行, 昭35.
- 7) 柳沢: 日本医事新報, 1516: 1887, 昭28.
- 8) 厚生省編纂: 衛生検査指針I (細菌血清検査指針(VI)改訂), 昭33.