

SM, INH を含む 3 者併用療法中における患者菌株の
SM, INH, (PAS) に対する感性の推移および
これと臨床的経過の関連に関する研究

第 1 編

大 里 敏 雄・清 水 久 子

結核予防会結核研究所

受付 昭和 39 年 10 月 3 日

STUDIES ON THE TRANSITION OF SENSITIVITY FOR SM, INH AND
PAS OF TUBERCLE BACILLI ISOLATED FROM THE PATIENTS
TREATED BY TRIPLE COMBINATION CHEMOTHERAPY
INCLUDING SM AND INH WITH SPECIAL
REFERENCE TO THEIR CLINICAL COURSE*

Toshio OHSATO and Hisako SHIMIZU

(Received for publication October 3, 1964)

Studies were made on the transition of sensitivity for SM, INH and PAS of tubercle bacilli isolated from the patients treated by triple combination chemotherapy including SM and INH. Thirty eight cases were selected from patients admitted to the author's sanatorium during the period from April 1, 1962 to November 30, 1963 according to the following criteria :

- 1) moderately or far advanced cases,
- 2) cases with definite cavity,
- 3) cases with positive bacilli both on smear and culture,
- 4) bacilli isolated from patients before the beginning of treatment showed no or few growth (less than 1% with that on the control media) on the media containing 10 $\mu\text{g/ml}$ SM and on the media containing 0.1 $\mu\text{g/ml}$ INH,
- 5) cases treated by triple combination chemotherapy including SM and INH after admission.

Sensitivity of tubercle bacilli isolated from these cases before and during treatment was examined by the following procedures :

- 1) Media : 1% Ogawa media,
- 2) Concentration of drugs
 - a) SM : each medium contains 2, 10 and 20 μg before coagulation, and because of absorption, actual concentration in each medium is estimated at 1, 5 and 10 $\mu\text{g/ml}$,
 - b) INH : 0.025, 0.05, 0.1, 0.5 and 1 $\mu\text{g/ml}$,
 - c) PAS : 0.1, 0.5 and 1 $\mu\text{g/ml}$,
- 3) Inoculation of bacilli : Bacillary suspension of 1 mg/ml was prepared from the isolation culture or subculture by using grinding flask. Suspension was diluted, and 10^{-3} , 10^{-4} and 10^{-5} mg of tubercle bacilli were inoculated on the series of each 2 test media.

The transition of sensitivity for drugs was studied with special reference to the transition of bacillary findings and the changes in roentgenological findings, and the results were sum-

* From Research Institute, Japan Anti-tuberculosis Association, Kiyose-machi, Kitatama-gun, Tokyo.

marized as follows :

1. Among 38 cases, 34 cases converted to negative both on smear and culture during chemotherapy.

2. No marked changes in the sensitivity of tubercle bacilli for the 3 drugs was demonstrated during chemotherapy among cases converted to negative. As shown in Table 1, the rate of strains showing more than 10% growth on the media containing 1 μ g SM and that showing more than 50% growth on the media containing 0.025 μ g INH and 0.1 μ g PAS, were nearly equal during chemotherapy.

3. Among cases converted to negative, no growth of bacilli was observed in 85 of 89 strains on the media containing 5 μ g SM, in 88 of 90 strains on the media containing 0.1 μ g INH, and in 56 of 62 strains on the media containing 1 μ g PAS (Table 2). The growth rate of bacilli grown on the media containing 5 μ g SM compared with that on the control media was less than 3%, and that on 0.1 μ g INH was less than 30%, and that on 1 μ g PAS was less than 1%.

4. Among 34 cases converted to negative, cavity closure was observed in 16 cases, and the remaining 18 cases were the so-called open negative cases.

5. Among cases converted to negative, cavity closure was observed more frequently among younger cases, cases with smaller cavity, and cases with non-sclerotic walled cavity than among cases with higher age, larger cavity and sclerotic walled cavity (Table 4). Furthermore, among open negative cases, smear positive but culture negative results were reported at 17 occasions in 9 cases, and on the contrary, such results were observed only at 1 occasion in 1 case among cavity closure cases (Table 5).

6. Cases showed continuous bacilli discharge was 4 in number, and the failure in negative conversion was explained by the following reasons: primary resistance to 10 μ g SM, decreased sensitivity to SM and INH, decreased sensitivity to PAS, and interruption of chemotherapy because of the sideeffect.

All cavitory cases sensitive to the 3 drugs in this study, converted to negative, and the failure in negative conversion was observed only among cases with decreased sensitivity especially at lower concentration of drugs than routinely used one. The fact suggests the importance of conducting sensitivity test for 3 drugs including lower concentration before the beginning of treatment.

緒 言

治療により菌陰性化の起こる場合と、菌陽性を持続する場合、あるいは一度陰性化した菌が再陽性化する場合とでは、菌の薬剤感性に相違がみられる。すなわち、菌の陰性化する例では、菌が薬剤耐性を獲得することは比較的まれであるが、菌陽性を持続する例では使用薬剤に対して臨床的耐性を獲得することが多い。またいつたん陰性化した例の再排菌の場合には、相当数に耐性が出現している。

しかし、これらの耐性というのは、臨床的な耐性検査によつて調べられたもので、検査された薬剤濃度はもつとも低いものでも、その薬剤の結核菌に対する最低発育阻止濃度 (minimal inhibitory concentration, M. I. C.) よりも 2~3 倍濃いものが多い。現行の耐性検査は SM については 10 γ (含有濃度 20 γ)、INH は 0.1 γ 、PAS

は 1 γ がもつとも低い濃度であるが、M. I. C. は SM で 2.5 γ ~5 γ (5 γ ~10 γ 含有)、INH は 0.04~0.05 γ 、PAS は 0.25~0.5 γ 程度と考えられる。したがつて、臨床的耐性検査によつていわゆる耐性に達しない感性の低下を調べることはできない。

菌の薬剤感性は治療によつてどのように推移するのだろうか。また感性の推移と患者の臨床的経過の間になんらかの関連があるだろうか。あるとすればどのような関連なのか。この点に関して分析された報告はほとんど見当たらない。

著者は患者菌株の薬剤感性の推移を低濃度より細かく検討し、この成績と臨床的な経過との関係を調べ、患者の経過を予測しうる資料が得られるかどうかを研究した。この目的のために、SM、INH に対する感性低下がないと判定した (後述) 有空洞、多量排菌例を対象として上述の検討を行なつた。

研究対象とその選定

本研究の対象となつた患者は、次の各条件を満たすものとした。すなわち

- (1) 入院時明らかな空洞を有するもの
- (2) 病巣の拡りが学研の2以上のもの
- (3) 入院時の菌検査で多量の排菌のあるもの（塗抹陽性で培養による菌分離量が 卍 以上のもの）
- (4) この菌が SM, INH の 2 剤に対し臨床的耐性を示さないもの

* 臨床的耐性なしとは、SM 10 γ , INH 0.1 γ 含有培地に菌の発育を認めないか、発育の程度が対照培地の 1% 以下のものとした。

- (5) 入院後に SM, INH 2 剤を含む治療の行なわれているもの

以上の5つの条件のすべてを満たすものを、昭和 37 年 4 月から、38 年 11 月までの間の入院例について選定した結果、一応 41 例が得られた。しかし、41 例のうちには空洞が明らかとはいえない 1 例、SM 投与が KM に変更された 1 例、および臨床的耐性を有することが判明した 3 例の計 5 例が含まれている。耐性を有する 3 例のうち 2 例は、菌陰性化に失敗した例の検討の項に記述した。また菌の薬剤感性の推移は、空洞のない 1 例を含め 35 例について検討したので、本成績から全く除外したものは、41 例中のうち 2 例である。

対象 39 例の Background factor については、成績の項でも Factor 別にふれるが、ここでは全分析対象 39 例の因子を示しておく。

性別：男 29 例，女 10 例。

年齢：20 才代 15 例，30 才代 10 例，40 才代 6 例，50 才代 5 例，60 才代 3 例。

治療歴：なし 34 例（初回治療前ないし初回治療の継続中に入院）。

あり 5 例（再治療前ないし再治療の継続中に入院）。

治療内容：SM-INH-PAS	25 例，
SM-INH-Isoxyl	12 例，
SM-INH-SF	2 例，

このうち SM 毎日投与がはじめの 2~3 カ月行なわれたものは 23 例，週 3 回法 1 例，週 2 日法 15 例である。

臨床経過の観察期間：6 カ月以上 9 例，9 カ月以上 14 例，12 カ月以上 9 例，15 カ月以上 3 例，18 カ月以上 3 例，21 カ月以上 1 例。

研究方法

1. 菌の薬剤感性の測定

入院時および SM, INH 2 剤を含む治療中に毎月 1 回以上の喀痰培養によって分離された菌株について次に述べる方法を用いて、SM, INH, PAS 3 剤に対する感性

を検査した。

(1) 培地：1% 小川培地

(2) 含有薬剤濃度：

- (a) SM：1 γ , 5 γ , 10 γ —表示濃度（含有量ははおの 2 γ , 10 γ , 20 γ ）—の 3 濃度
- (b) INH：0.025 γ , 0.05 γ , 0.1 γ , 0.5 γ , 1 γ の 5 濃度
- (c) PAS：0.1 γ , 0.5 γ , 1 γ の 3 濃度

標準薬液，稀釈薬液，薬剤含有培地は、結核菌検査指針（1958 年）に従つて作製した。

(3) 菌接種：培養によつて患者喀痰から分離した菌株（分離菌量の少ないときは 1% 小川培地に継代）から磨砕フラスコを使用して手振り法により 1 mg/cc の菌液を作り、これを稀釈して、10⁻³ mg, 10⁻⁴ mg, 10⁻⁵ mg の 3 段階の菌を接種した。培地本数は接種菌量 1 段階について対照を含め、上記薬剤濃度含有培地のおの 2 本ずつを使用した。

(4) 観察および判定

菌接種後 2 週より 6 週まで毎週観察し、対照培地上のコロニー数が数えられる系列から（他の系列も参考として）各培地上の発育菌の割合を算定した。

2. 臨床経過

SM, INH を含む治療による菌所見および X 線所見の経過を判定した。毎月 1 回（以上）の菌検査で 3 カ月以上連続して塗抹、培養とも陰性のものを陰性化したとしたが、陰性化例の多くは 6 カ月以上陰性が続いている。塗抹陽性→培養陰性は陰性化の期間に含めなかつた。

以上の 1. と 2. の成績を総合して、菌の薬剤感受性の推移と臨床経過の関係を分析検討した。

成績 I

対象 39 例のうち 35 例（うち 1 例は空洞のない例）は治療によつて菌が陰性化した。残りの 4 例は菌陰性化に失敗したものと、一たん陰性化したのちに再陽性になったものが含まれており、4 例中 2 例は SM, INH のいずれかにはじめから臨床的耐性を示したものであつた。

菌陰性化例の成績

A. 菌陰性化例の菌の薬剤感性

1) SM 1 γ , INH 0.025 γ , PAS 0.1 γ 培地に発育した菌の割合の推移

対象選定の条件に合致する症例で菌陰性化したものは 34 例であるが、空洞のない例で 5 カ月以降菌の陰性化した 1 例を加え計 35 例について治療中の菌の薬剤感性の推移をみると表 1 のごとくである。治療前の例数が 15 例で治療開始後 1, 2, 3 カ月の例数が多いのは、治療開始後の月数が入院時すでに 1 カ月以上を経過しているものがあり、これらは該当の各経過月に集計してあるためである。その成績は表のように、SM 1 γ に 10%

Table 1. Proportion of Bacillary Growth on the Media Containing Minimal Drug Concentration Among Cases Converted to Negative (35 Cases) —Demonstrated as per cent compared with the growth on control media—

Drug concentration	Per cent of growth	Month after beginning of chemotherapy				
		Before	1	2	3	4 5
SM 1 μg	0	4	7	10	2	2
	~1%	3	4	2	4	
	1%~		2	2	3	1
	10%~	5	5	6	3	1 1
	50%~	2	4	2	3	1 1
	100%	1	3	4	1	
	Total	15	25	26	16*	4 3
INH 0.025 μg	0					
	~1%				1	
	1%~	3	3	4	2	2 1
	10%~	3	8	13	5	2
	~50%	5	7	5	5	1
	100%	4	7	4	4	1
	Total	15	25	26	17	4 3
PAS 0.1 μg	0			3		
	~1%	1				
	1%~	3		1	2	1
	10%~	7	3	7	4	1
	50%~	4	9	4	1	2 2
	100%		3	2	2	
	Total	15	15	17	9	3 3

Number of strains tested for PAS were less than that for SM and INH after beginning of chemotherapy, because Isoxyl or Sulfonamide derivatives was administered to 13 cases instead of PAS. Number of strains tested for SM was less than that for INH at 3 months, because SM was discontinued at 2 months in one case.

Table 2. Number of Strains Grown on Media Containing 5 μg SM, 0.05 and 0.1 μg INH, and 0.5 and 1 μg PAS

Concentration	Strain	Month after beginning of chemotherapy					Total
		Before	1	2	3	4 5	
SM 5 μg	No. tested	15	25	26	16	4 3	89
	No. grown	1		1	2		4
INH 0.05 μg	No. tested	15	25	26	17	4 3	90
	No. grown	5	6	8	3	2	24
INH 0.1 μg	No. grown			2			2
PAS 0.1 μg	No. tested	15	15	17	9	3 3	62
	No. grown	6	6	3	1	1	17
PAS 1 μg	No. grown		2	3		1	6

以上、INH 0.025 γ および PAS 0.1 γ に 50% 以上の割合に菌の発育したものは検査例の約半数であり、この率は治療の経過によつてあまり変動がない。したがつて菌の陰性化した例では上記薬剤培地に発育する菌の割合はあまり変動することなく推移するものと考えられる。

2) より濃い薬剤濃度を含有する培地に菌の発育した菌株について

SM 5 γ, INH 0.05 γ および 0.1 γ, PAS 0.5 γ および 1 γ に発育した菌株数と発育菌の割合をみると表2のごとくである。表でみるように SM 5 γ, INH 0.1 γ に菌の発育を認めた株はごくわずかであるが、PAS 1 γ にはかなり多くの株が発育している。各薬剤別にみると、SM 5 γ に菌の発育した4株の発育菌の割合はいずれも3%以下であり、10 γ に発育したものはなかつた。INH 0.05 γ に発育した24株のうち半数は、発育菌の割合が1%以下であり、対照培地と同じ程度(100%)に発育したものはわずかに1株であつた。INH 0.1 γ には2株の菌が発育したが、1株は0.05%以下の割合で、他の1株は30%以下であつた。PAS 0.5 γ には17株が発育したが、100%に発育したものは1株で、他はすべて1%以下の割合にしか菌発育を認めなかつた。また PAS 1 γ に発育した例はすべて1%以下の割合であつた。

3) SM, INH および PAS の最低発育阻止濃度と菌の感性の範囲について

前述の成績からみると、SM 5 γ 以下(10 γ 含有1%小川培地)で89株中85株99.4%が完全に発育を阻止され、INH 0.05 γ 以下で90株中66株73.3%、0.1 γ 以下で88株97.8%が完全に阻止された。PAS は0.5 γ 以下で62株中46株72.6%が、1 γ 以下で56株90.3%が完全に発育を阻止された。したがつて各薬剤の M.I.C. は SM は 5 γ, INH は 0.05~(0.1 γ), PAS は 0.5~(1 γ) と考えてよいであろう。したがつて結核菌の感性の範囲も、SM は 5 γ に生えないもの、INH は 0.1 γ に生えないもの、PAS は 1 γ に生えないものと考えられる。

B. 菌陰性化例のX線上の経過(空洞消失および残存)に関係する因子の検討

入院時に明らかに空洞が存在し、SM, INH を含む治療により菌陰性化したものは34例である。この34例は空洞のX線上の経過によつて次の2群に分けられる。すなわち

(1) 充塞、濃縮、癥瘰化によつて空洞の認められなくなつた例……16例

(2) 菌は陰性化したか空洞の残存する例(いわゆる open negative

Table 3. Sensitivity of Tubercle Bacilli Among Cases Converted to Negative

—Comparison between the cavity closure cases and open negative cases—

a) Proportion of strains grown more than 10 per cent on the media containing 1 μg SM comparing with the growth on the control media

Group	Month after beginning of chemotherapy				
	Before	1	2	3	4 5
Cavity closure case	3/4 75%	7/14 50%	7/10 70%	5/6 83.3%	2/2 1/1
Open negative case	5/10 50%	5/10 50%	5/15 33.3%	2/9 22.2%	0/1 2/2

b) Proportion of strains grown more than 50 per cent on the media containing 0.025 μg INH comparing with the growth on the control media

Group	Month after beginning of chemotherapy				
	Before	1	2	3	4 5
Cavity closure case	3/4 75%	9/14 65.7%	4/10 40%	4/6 66.6%	0/2 0/1
Open negative case	3/10 30%	5/10 50%	5/15 33.3%	4/9 44.4%	0/1 2/2

case).....18 例

このような空洞の経過に差が生ずることに関係する因子が見出されるかどうかについて以下の検討を行なった。

1) 菌の薬剤感性の推移

菌陰性化例全例の薬剤感性の推移は前に述べたが、感性の推移が空洞消失例と open negative case の間に差があるかどうかをみると次の表3のごとくである。表は SM 1 r 培地上に 10% 以上, INH 0.025 r 培地に 50% 以上 (いずれも対照培地と比べ) 菌の発育がみられた数 (菌株数) を示したが、表のように両群間に差はみられない。

2) 既往の医療の有無

空洞消失例 16 例は全例初回治療であるが、open negative case では 18 例中 4 例に治療歴がある (SM, INH, PAS とも使用例 1, SM, PAS 使用例 2, PAS 使用例 1)。しかしこれら治療歴のある例の菌の薬剤感性は他のものと全く差はなかつた。

3) 年 令

年令をみると表 4 a) のように空洞消失例では 39 才までのものが大部分 (16 例中 14 例) であるが、open negative case では 18 例中 10 例は 40 才以上である。

4) 空洞の数と大きさおよび空洞型

治療開始時 (入院時ではない) の空洞の数との関係を見ると、次の表 4 b) のように空洞数は関連を示さず、

Table 4. Age, Size, Number and Type of Cavity among Cavity Closure Cases and Open Negative Cases

a) Age

Group	Age				
	20~	30~	40~	50~	60~
Cavity closure case	9	5	1	1	0
Open negative case	3	5	5	3	2

b) Size and number of cavity

Group	Number			Size (external diameter)		
	1	2	3	Large	Medium	Small
Cavity closure case	10	2	4	3	11	2
Open negative case	16	2	0	15	3	0

c) Type of cavity

Group	Nonsclerotic walled cavity				Sclerotic walled cavity		
	Ka	Kb	Kc	Kd	Kx	Ky	Kz
Cavity closure case	7		6	2		1	
Open negative case			3		1	6	8

空洞数の多いものが open negative case になりやすいということはなかつた (数個の空洞を有する場合、全部が消失したもののみを消失例とし、1 コでも残存するものは空洞残存例とした)。空洞の大きさは、外長径が 1.5 cm 未満, 4 cm 未満, 4 cm 以上に分け、それぞれ小, 中, 大とすると、表のように open negative case の大部分は大空洞を有するものであつた。

つぎに、空洞型を学研分類別にみると次の表 4 c) のようになる。空洞が 2 コ以上ある場合は次の順序に従つて化学療法に反応しにくいと思われるほうをとつた。すなわち、Kz を最重要とし Kz→Ky→Kx→Kc→Kd→Kb→Ka の順とした。このようにしてみると空洞消失例の大部分は非硬化壁空洞例であるが、open negative case では硬化壁空洞例が大多数である。

5) 菌陽性の持続期間

菌陽性の持続期間を治療開始後の経過月としてみると、培養陽性の期間は、表 5 のように open negative case では 4 カ月以上の例がやや多いが、それほど差はないといえる。しかし open negative case には塗抹陽性→培養陰性の場合がかなりみられるので、これも排菌の期間に加えて検討すると表のように open negative case では排菌の持続期間が著しく長期となり、4 カ月以上のものが 50%、7 カ月以上にわたるものが 27.8% にみられた。

これに比し、空洞消失例では7カ月以上にわたるものはなく、4カ月以上の例も25%にすぎなかつた。この塗抹陽性→培養陰性は空洞消失例においては1例1回にみられたにすぎなかつたが、open negative case では、9例17回の多きにみられており、もつとも多い例は治療開始後4, 5, 6, 7, 9カ月の5回塗抹陽性→培養陰性が続き、10カ月以降(16カ月まで観察)毎月3回の連続菌検査の成績はすべて陰性を示した。

6) 治療内容

治療法の内容別にみると表6のように、SM 毎日法の割合およびSM, INH 以外の併用薬の種類の状態をみても、両群間に差はない。

以上の成績から open negative case になりやすいと思われる因子を列記すれば、40才以上で空洞が大きく、硬化壁のもの、塗抹陽性→培養陰性の所見がみられるもの(このために菌陽性の持続期間が長くなる)ということになる。

C. 菌陰性化空洞残存例で切除されたものの切除肺よりの菌の検出成績

open negative case のうち肺切除術の施行されたものが5例あるが、このうちの4例は空洞内容の菌検査が施行された。この4例の手術時期は治療開始後8カ月のものが2例で、他は10カ月と11カ月である。4例のうち Ziehl-Neelsen 法による染色によつて抗酸菌を認め

Table 5. Duration of Positive Bacilli Among Cavity Closure Cases and Open Negative Cases

Group	Bacillary result	Month after beginning of chemotherapy										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10~	13~
Cavity closure case	Culture (+)	1	6	6	1 1 1 18.8%							
	Smear (+)		6	6	2 1 1 25%							
Open negative case	Culture (+)	1	2	10	3 1 27.8%			1	27.8%			
	Smear (+)		1	8	2 1 1			1 1 1 50%				2

Table 6. Regimen of Chemotherapy Among Cavity Closure and Open Negative Cases

Group	SM injection		Combined drug other than SM and INH		
	Twice weekly	Daily	PAS	Isoxyl	Sulfonamide derivatives
Cavity closure case	6	10	9	6	1
Open negative case	6	12	12	6	

たものは3例である。培養は4% NaOH 処理により3% 小川培地に、1% NaOH 処理により1% 小川培地とキルビナー半流動寒天培地に植えたが、4例とも培養陰性であつた。

これら4例の術前の菌陰性持続期間は5カ月2例、7カ月、9カ月各1例であつた。(以下次号)