

1314 TH と 1321 TH の試験管内抗結核菌力の比較

田 村 昌 敏・高 野 了

国 立 新 潟 療 養 所

受 付: 昭 和 45 年 11 月 18 日

COMPARISON BETWEEN ANTITUBERCULOUS ACTIVITY OF
 α -ETHYL-THIOISONICOTINAMIDE (1314 TH) AND α -N-
PROPYLTHIOISONICOTINAMIDE (1321 TH) IN VITRO*

Masatoshi TAMURA and Satoshi TAKANO

Received for publication November 18, 1970)

As preliminary experiments, the influences of the following factors on the minimal inhibitory concentration of 1314 TH and 1321 TH to the growth of *M. tuberculosis* were examined: 1) pH of used media, 2) quantity and culture of incubated bacilli, 3) temperature and period of preservation of resistant media.

1% Ogawa's egg media and Kirchner's semi-solid agar media were used, and 2 strains were used for experiments 1), 2) and 3). Following results were obtained.

The minimal inhibitory concentration of both drugs for *M. tuberculosis* on 1% Ogawa's egg media was nearly equal at pH 6.8. They were also nearly equal on Kirchner's semi-solid agar media at pH 6.8.

Antituberculous activity of both drugs tend to decrease at alkaline side on 1% Ogawa's egg media. On Kirchner's semi-solid media, the activity of 1314 TH and 1321 TH were 4 and 4~8 times higher in acid side than in alkaline side.

The minimal inhibitory concentration of both drugs for *M. tuberculosis* on both media was increased proportionally to the quantity and culture period of inoculated bacilli.

The influence of preservation temperature of resistant media on the antituberculous activity was as follows. The effects of both drugs were stable comparatively for long time on both media at 5°C. The higher the preservation temperature, the more sharp the decrease of effects. The decreasing speeds of both drugs were same at temperature over 30°C. The decrease of speed of 1314 TH was faster than that of 1321 TH at 20°C.

After making these preliminary experiments, the antituberculous activity of 1314 TH and 1321 TH in vitro were compared. H₂Rv and 11 strains isolated from pulmonary tuberculous patients previously untreated with antituberculous drugs were used. The antituberculous activity of both drugs were nearly the same on the both media, if the factors influencing the minimal inhibitory concentration of antituberculous drugs to *M. tuberculosis* are fixed.

* From Niigata National Sanatorium, Akasakacho, Kashiwazaki City, Niigata Prefecture 945 Japan.

Alpha-ethyl-thioisonicotinamide と alpha-propyl-thioisonicotinamide (以下それぞれ 1314 TH, 1321 TH と略) の試験管内抗結核菌力 (以下抗菌力と略) については、両薬剤がほぼ等しいとするものから、後者が2倍強力であるとする報告まである。そこで耐性検査の成績に影響を及ぼす諸因子について、両薬剤の結核菌最低発育阻止濃度 (以下 MIC と略) を実験し、その成績を踏まえて、分離菌株に対する両薬剤の抗菌力を比較検討したので、その成績を報告する。

実験 I. 培地の pH が 1314 TH と 1321 TH の MIC に及ぼす影響

実験方法

1) 使用培地

実験には 1% 小川培地と 10% の割合に Albumin (栄研) を加えた Kirchner 半流動培地 (以下それぞれ 1% 小川, K 半流動と略) を用いた。

2) 培地の調製法

(a) 1314 TH と 1321 TH の原液の調製法

1314 TH と 1321 TH をそれぞれ propylen glycol に投入、沸騰水中で溶解して 10 mg/ml の溶液を作り、冷却を待つて滅菌蒸留水で希釈して 640 mg/ml の溶液となし、両薬剤の原液とした。

(b) 1% 小川培地

最初に出来上がった培地の凝固水の pH が、それぞれ 6.0, 6.4, 6.8, 7.2 および 7.6 になるように H_2SO_4 と Na_2CO_3 を用いて培地の原液を修正した。ついで 1314 TH と 1321 TH の原液を蒸留水を用いて、倍数希釈法によつて、それぞれの培地に 0, 4, 8, 16 および 32 mcg/ml 含まれるように添加、十分混和した後、中試験管に 5 ml ずつ分注して調製した。

(c) Kirchner 半流動培地

H_2SO_4 および Na_2CO_3 を用いて基汁の pH を、それぞれ 6.0, 6.4, 6.8, 7.2 および 7.6 に修正滅菌後、Albumin を 10% の割合に加えた。これに 1% 小川の調製法に準じ、1314 TH と 1321 TH をそれぞれの培地に、0, 2, 4, 8 および 16 mcg/ml 含まれるように添加し、十分混和した後、中試験管に 5 ml ずつ分注調製し、37°C 孵卵器内に一昼夜収めて、雑菌混入のないことを確認したうえで、実験に使用した。

3) 供試菌株

実験には $H_{37}R_v$ および未治療肺結核患者の喀痰より分離した 1 株、計 2 菌株を用いた。

4) 接種菌量

実験には 1% 小川 3 週間培養菌を、比濁法によつて 10^{-8} mg ずつ各培地に接種した。

Table 1. Influence of pH of 1% Ogawa's Egg Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	pH of condense water																								
		6.0					6.4					6.8					7.2					7.6				
		0	4	8	16	32	0	4	8	16	32	0	4	8	16	32	0	4	8	16	32	0	4	8	16	32
H ₃₇ Rv	III	##	##	—	—	—	##	—	—	—	—	##	##	—	—	—	##	##	60	—	—	—	—	—	—	—
	IV	###	##	95	—	—	##	##	70	—	—	##	##	80	—	—	##	##	##	60	—	—	—	—	—	—
	V	##	##	105	—	—	##	##	80	—	—	##	##	90	3	—	##	##	##	120	30	80	20	15	20	—
Yamamoto*	III	##	180	—	—	—	##	150	—	—	—	##	150	2	—	—	##	150	—	—	—	—	—	—	—	—
	IV	##	##	70	—	—	##	##	90	—	—	##	##	80	—	—	##	##	##	30	—	—	—	—	—	—
	V	##	##	70	—	—	##	##	95	2	—	##	##	90	7	—	##	##	##	80	20	60	10	8	8	—

* Indirect resistance test for antituberculous drugs with strain isolated from pulmonary tuberculous patient previously untreated with antituberculous drugs. (Kirchner's Semi-solid Agar Media, 3 weeks culture)

Drug	mcg/ml	
SM	1	—
	10	—
	100	—
INH	0.05	—
	0.1	—
	1	—
PAS	5	—
	1	—
	10	—
KM	1	—
	10	—
	100	—
CS	10	+++
	20	+++

Drug	mcg/ml	
CS	30	—
	50	—
	20	35
SF	50	—
	100	—
EB	1	—
	2.5	—
	5	—
CPM	10	—
	5	—
	10	—
None	50	—
	Control	+++

5) 判定

培地に菌株接種後、37°C 孵卵器に収め、2週より6週まで毎週観察し、集落の発育状況ならびに程度を記載して、成績を判定比較した。

実験成績

1) 1% 小川培地

3週間培養における 1314 TH の MIC は、表1に示

すごとくである。すなわち pH 6.0 では2菌株とも 8 mcg/ml。pH 6.4 では 4 mcg/ml と 8 mcg/ml が各1株。pH 6.8~7.2 では 8 mcg/ml と 16 mcg/ml が各1株であった。しかし pH 7.6 では菌の発育が悪く、2菌株とも5週後にはじめて集落を形成してきた。

1321 TH の MIC は、表2に示すごとくである。すなわち pH 6.0~6.8 では2菌株とも 8 mcg/ml。pH 7.2 では 8 mcg/ml と 16 mcg/ml が各1株。pH 7.6 では

Table 2. Influence of pH of 1% Ogawa's Egg Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	pH of condense water															
		6.0				6.4				6.8				7.2			
		0	4	8	mcg/ml 16 32	0	4	8	mcg/ml 16 32	0	4	8	mcg/ml 16 32	0	4	8	mcg/ml 16 32
H ₃₇ Rv	III	—	180	—	—	—	130	—	—	—	120	—	—	—	90	—	—
	N	+++	+	30	—	—	—	50	—	—	—	50	—	—	+	30	—
	V	+++	+	100	—	—	—	95	—	—	—	80	5	—	—	150	20 90 25 20 15
Yamamoto*	III	—	80	—	—	—	20	—	—	—	30	—	—	—	—	—	—
	N	—	—	30	—	—	+	50	—	—	—	30	—	—	+	90 30	—
	V	—	—	70	—	—	—	50	2	—	—	50	10	—	+	90 50 7 80 40 20 10	—

Note: The same as in Table 1.

Table 3. Influence of pH of Kirchner's Semi-solid Agar Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	pH of basal medium															
		6.0				6.4				6.8				7.2			
		0	2	4	mcg/ml 8 16	0	2	4	mcg/ml 8 16	0	2	4	mcg/ml 8 16	0	2	4	mcg/ml 8 16
H ₃₇ Rv	III	+++	++	—	—	—	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30
	N	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	30	—	—	—	+	30	20
	V	+++	+	2	—	—	+	30	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Yamamoto*	III	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	+++	+	—	—	—	+	30	—	—	—	+	—	—	+	+	—
	V	+++	+	30	—	—	+	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Note: The same as in Table 1.

Table 4. Influence of pH of Kirchner's Semi-solid Agar Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	pH of basal medium															
		6.0				6.4				6.8				7.2			
		0	2	4	mcg/ml 8 16	0	2	4	mcg/ml 8 16	0	2	4	mcg/ml 8 16	0	2	4	mcg/ml 8 16
H ₃₇ Rv	III	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	40	—	—	—	+	+	40
	N	+++	+	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20
	V	+++	+	—	—	—	+	3	—	—	—	15	—	—	—	—	+
Yamamoto*	III	+++	40	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	—	+	—	—	—	+	10	—	—	—	20	—	—	—	+	—
	V	+++	+	—	—	—	+	20	—	—	—	—	—	—	—	+	—

Note: The same as in Table 1.

1314 TH におけると同様な所見が認められた。

2) Kirchner 半流動培地

3週間培養における 1314 TH の MIC は、表3に示すごとくである。すなわち pH 6.0~6.4 では2菌株とも 4 mcg/ml, pH 6.8 では2菌株とも 8 mcg/ml, pH 7.2~7.6 では2菌株とも 16 mcg/ml であった。

1321 TH の MIC は、表4に示すごとくである。すなわち pH 6.0~6.4 では 2 mcg/ml と 4 mcg/ml が各1株, pH 6.8 では2菌株とも 8 mcg/ml, pH 7.2~7.6 では2菌株とも 16 mcg/ml であった。

実験 II. 接種菌量ならびに培養期間が 1314 TH と 1321 TH の MIC に及ぼす影響

実験方法

1) 使用培地

実験 I と同じ。

2) 培地の調製法

実験 I と同様な方法によつて、1% 小川は出来上がった培地の凝固水の pH を、また K 半流動は基汁の pH をそれぞれ 6.8 に修正したものを用いた。向薬剤は 1% 小川にはそれぞれ 0, 2, 4, 8, 16, 32 および 64 mcg/ml, K 半流動にはそれぞれ 0, 1, 2, 4, 8, 16 および 32 mcg/ml 含まれるように添加調製して実験に用いた。

3) 供試菌株

実験 I と同じ。

Table 5. Influence of Quantity and Culture Period of Inoculated Bacilli on 1% Ogawa's Egg Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	Inoculum size																											
		10 ⁻¹ mg						10 ⁻² mg						10 ⁻³ mg						10 ⁻⁴ mg									
		mcg/ml						mcg/ml						mcg/ml						mcg/ml									
0	2	4	8	16	32	64	0	2	4	8	16	32	64	0	2	4	8	16	32	64	0	2	4	8	16	32	64		
H ₃₇ Rv	II	+++	+++	++	—	—	—	—	+++	+++	++	—	—	—	+++	++	—	—	—	—	—	++	150	—	—	—	—	—	
	III	+++	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	+++	+++	++	26	—	—	—	—	+++	++	5	—	—		
	IV	+++	+++	+++	+++	++	123	—	+++	+++	+++	+++	183	—	—	+++	+++	+++	++	38	—	—	+++	+++	++	62	4	—	
	V	+++	+++	+++	+++	+++	++	6	+++	+++	+++	+++	++	63	—	+++	+++	+++	++	43	5	—	+++	+++	++	75	11	—	
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	++	15	+++	+++	+++	+++	++	75	12	+++	+++	+++	++	56	18	—	+++	—	—	113	24	4	—
Yamamoto*	II	+++	+++	+++	—	—	—	—	+++	+++	++	—	—	—	—	+++	++	40	—	—	—	—	++	120	—	—	—	—	
	III	+++	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+++	184	—	—	—	+++	+++	++	23	—	—	—	++	—	193	7	—	—	
	IV	+++	+++	+++	+++	++	—	—	+++	+++	+++	++	128	—	—	+++	+++	+++	158	8	—	—	+++	+++	++	22	—	—	
	V	+++	+++	+++	+++	+++	126	—	+++	+++	+++	+++	++	18	—	+++	+++	+++	++	13	2	—	+++	+++	+++	46	27	—	—
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	+++	+++	+++	+++	++	34	—	+++	+++	+++	++	13	8	—	+++	—	+++	46	27	—	—

Note: The same as in Table 1.

Table 6. Influence of Quantity and Culture Period of Inoculated Bacilli on 1% Ogawa's Egg Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	Inoculum size																											
		10 ⁻¹ mg						10 ⁻² mg						10 ⁻³ mg						10 ⁻⁴ mg									
		mcg/ml						mcg/ml						mcg/ml						mcg/ml									
0	2	4	8	16	32	64	0	2	4	8	16	32	64	0	2	4	8	16	32	64	0	2	4	8	16	32	64		
H ₃₇ Rv	II	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	80	—	—	—	—	+++	++	—	—	—	—	—	+++	10	—	—	—	—	—	
	III	+++	+++	+++	123	—	—	—	+++	+++	+++	95	—	—	—	+++	+++	++	7	—	—	—	+++	183	38	3	—	—	
	IV	+++	+++	+++	+++	++	—	—	+++	+++	+++	++	63	—	—	+++	+++	++	92	22	—	—	+++	++	145	68	—	—	
	V	+++	+++	+++	+++	+++	110	3	+++	+++	+++	+++	78	27	—	+++	+++	+++	++	43	8	—	+++	+++	++	113	12	—	—
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	153	68	+++	+++	+++	+++	115	37	—	+++	+++	+++	++	55	8	—	+++	+++	++	115	25	—	—
Yamamoto*	II	+++	+++	30	—	—	—	—	+++	++	—	—	—	—	—	++	90	—	—	—	—	—	++	40	—	—	—	—	
	III	+++	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+++	13	—	—	—	+++	85	—	—	—	—	—	+++	++	36	—	—	—	
	IV	+++	+++	+++	+++	++	—	—	+++	+++	+++	++	28	—	—	+++	+++	++	58	—	—	—	+++	+++	++	26	—	—	
	V	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	+++	+++	++	38	—	—	+++	+++	+++	63	33	—	—	+++	+++	++	28	—	—	
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	76	—	+++	+++	+++	++	50	13	—	+++	+++	+++	113	33	—	—	+++	+++	++	115	25	—	

Note: The same as in Table 1.

4) 接種菌量

それぞれの培地には、1% 小川に3週間培養した菌を、比濁法によつて 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} および 10^{-4} mg ずつ接種した。

5) 培養期間ならびに判定

実験Iと同じ。

実験成績

1) 接種菌量と MIC

(a) 1% 小川培地

3週間培養における 1314 TH の MIC は、表5に示すごとくである。すなわち接種菌量が 10^{-1} ~ 10^{-4} mg ま

で2菌株とも 16 mcg/ml であつた。

1321 TH の MIC は表6に示すごとくである。すなわち接種菌量が 10^{-1} ~ 10^{-2} mg では2菌株とも 16 mcg/ml, 10^{-3} ~ 10^{-4} mg では 8 mcg/ml と 16 mcg/ml が各1株であつた。

(b) Kirchner 半流動培地

3週間培養における 1314 TH と 1321 TH の MIC は、表7および8に示すごとくである。すなわち両薬剤とも接種菌量が 10^{-1} ~ 10^{-2} mg では2菌株とも 16 mcg/ml, 10^{-3} ~ 10^{-4} mg では2菌株とも 8 mcg/ml であつた。

2) 培養期間と MIC

Table 7. Influence of Quantity and Culture Period of Inoculated Bacilli in Kirchner's Semi-solid Agar Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	Inoculum size																																
		10 ⁻¹ mg								10 ⁻² mg								10 ⁻³ mg								10 ⁻⁴ mg								
		0	1	2	4	mcg/ml				0	1	2	4	mcg/ml				0	1	2	4	mcg/ml				0	1	2	4	mcg/ml				
H ₉₇ Rv	II	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	
	III	+++	+++	+++	+++	26	-	-	-	+++	+++	+++	+++	18	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	
	IV	+++	+++	+++	+++	+	8	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	20	-	-	+++	+++	+++	+	24	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	15	-	-	
	V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	23	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	13	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	36	5	-
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	5	-	
Yamamoto*	II	+++	+++	+++	+++	30	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	++	++	++	+	-	-	-	-	
	III	+++	+++	+++	+++	+++	47	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	13	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	
	IV	+++	+++	+++	+++	+++	+++	9	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	5	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	
	V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	35	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	14	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	16	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	3	-
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	43	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	26	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	7	-

Note: The same as in Table 1.

Table 8. Influence of Quantity and Culture Period of Inoculated Bacilli of Kirchner's Semi-solid Agar Media on the Minimal Inhibitory Concentration of 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis

Strain	Culture week	Inoculum size																															
		10 ⁻¹ mg								10 ⁻² mg								10 ⁻³ mg								10 ⁻⁴ mg							
		mcg/ml								mcg/ml								mcg/ml								mcg/ml							
0	1	2	4	8	16	32		0	1	2	4	8	16	32		0	1	2	4	8	16	32		0	1	2	4	8	16	32			
H ₉₇ Rv	II	+++	+++	++	+	-	-	-	+++	+++	++	-	-	-	-	-	++	++	+	-	-	-	-	-	++	++	20	-	-	-	-		
	III	+++	+++	+++	++	33	-	-	+++	+++	+++	++	25	-	-	-	+++	+++	++	9	-	-	-	-	+++	++	+	6	-	-	-		
	IV	+++	+++	+++	++	45	-	-	+++	+++	+++	++	27	-	-	-	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	-	-	-		
	V	+++	+++	+++	+++	++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	7	-	-	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	+++	+++	+++	++	+	3	-		
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	++	+	10	-		
Yamamoto*	II	+++	+++	+++	+	-	-	-	+++	+++	+++	40	-	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	-	++	++	+	-	-	-	-		
	III	+++	+++	+++	++	5	-	-	+++	+++	+++	+++	3	-	-	-	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	+++	+++	++	+	-	-	-		
	IV	+++	+++	+++	+++	++	-	-	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	+++	+++	+++	++	35	-	-		
	V	+++	+++	+++	+++	++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	14	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	
	VI	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	36	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	2	-		

Note: The same as in Table 1.

Table 10. Influence of the Temperature and period of Preservation of 1% Ogawa's Egg Media

Table 10. Influence of the temperature and period of Preservation on <i>H₃₇Rv</i> growth																											
Preservation temperature of the media	Strain	Drug	Culture week	Preservation																							
				1 week										2 week													
				0	2	4	8	16	32	mcg/ml				0	2	4	8	16	32	mcg/ml							
5°C	<i>H₃₇Rv</i>	1314 TH	III	+++	+++	++	95	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	76	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	43	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	153	3	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	++	165	31	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	11	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	187	33	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	45	2	—	—	—	—	—				
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	++	112	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	81	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	38	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	43	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	++	176	21	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	71	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	43	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	30	—	—	—	—	—	—				
20°C	<i>H₃₇Rv</i>	1314 TH	III	+++	+++	++	42	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	15	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	116	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	48	—	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	++	84	28	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	5	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	21	—	—	—	—	—	—				
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	++	123	5	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	31	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	138	19	—	—	—	—	+++	+++	+++	163	15	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	+++	++	118	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	++	78	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	96	—	—	—	—	—	—				
30°C	<i>H₃₇Rv</i>	1314 TH	III	+++	+++	++	110	16	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	186	24	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	51	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	+++	184	93	11	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	136	—	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	123	46	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	36	—	—	—	—	—				
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	+++	++	46	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	19	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	++	41	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	87	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	+++	+++	++	30	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	17	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	73	32	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	52	—	—	—	—	—				
37°C	<i>H₃₇Rv</i>	1314 TH	III	+++	+++	+++	++	96	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	115	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	++	40	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	183	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	+++	+++	167	73	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	146	28	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	++	136	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	52	—	—	—	—	—				
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	+++	++	158	3	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	124	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	++	156	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—				
		1321 TH	III	+++	+++	+++	++	145	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	19	—	—	—	—	—				
			IV	+++	+++	+++	+++	++	25	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	31	—	—	—	—	—				
Viable units**	<i>H₃₇Rv</i>	None	IV	32										43													
	Yamamoto*	None	IV	65										46													

Note: The same as in Table 9.

on the Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis

period of the media																																								
3 week										4 week										6 week										8 week										
					mcg/ml										mcg/ml										mcg/ml										mcg/ml					
0	2	4	8	16	32	64	128	256	512	0	2	4	8	16	32	64	128	256	512	0	2	4	8	16	32	64	128	256	512	0	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
■	■	■	55	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	94	-	-	-	-	-	-	■	■	■	74	-	-	-	-	-	-	■	■	■	98	23	-	-	-	-	-
■	■	■	147	14	-	-	-	-	-	■	■	■	■	28	-	-	-	-	-	-	■	■	■	114	36	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	8	-	-	-	-
-	-	-	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	36	-	-	-	-	-	■	■	■	32	-	-	-	-	-	-	■	■	■	43	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	32	4	-	-	-	-	-	-	-	-	42	8	-	-	-	-	-	■	■	■	25	19	-	-	-	-	-	■	■	■	45	-	-	-	-	-	-	
■	■	■	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150	-	-	-	-	-	-	■	■	■	85	-	-	-	-	-	-	■	■	■	103	35	-	-	-	-	-	
-	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	■	■	■	154	49	-	-	-	-	-	■	■	■	13	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	64	-	-	-	-	-	-	■	■	■	37	-	-	-	-	-	-	■	■	■	51	-	-	-	-	-	-	
■	■	■	42	17	-	-	-	-	-	■	■	■	146	11	-	-	-	-	-	■	■	■	46	23	-	-	-	-	-	■	■	■	55	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	165	-	-	-	-	-	-	■	■	■	42	-	-	-	-	-	-	■	■	■	32	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	54	13	-	-	-	-	-	-	-	-	47	-	-	-	-	-	-	■	■	■	98	8	-	-	-	-	-	■	■	■	113	-	-	-	-	-	-	
■	■	■	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	27	-	-	-	-	-	-	■	■	■	81	-	-	-	-	-	-	■	■	■	6	-	-	-	-	-	-	
■	■	-	45	7	-	-	-	-	-	-	-	-	37	12	-	-	-	-	-	■	■	■	112	3	-	-	-	-	-	■	■	■	41	-	-	-	-	-	-	
■	■	-	21	-	-	-	-	-	-	■	■	■	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	52	-	-	-	-	-	-	■	■	■	43	-	-	-	-	-	-	
■	■	-	32	-	-	-	-	-	-	■	■	■	54	-	-	-	-	-	-	■	■	■	137	15	-	-	-	-	-	■	■	■	154	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	68	-	-	-	-	-	-	■	■	■	114	-	-	-	-	-	-	■	■	■	13	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	87	4	-	-	-	-	-	-	-	-	94	11	-	-	-	-	-	■	■	■	7	-	-	-	-	-	-	■	■	■	58	-	-	-	-	-	-	
■	■	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
-	-	-	94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	184	-	-	
■	■	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
-	-	-	94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	56	-	■	■	■	-	-	-	21	-	
■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
-	-	-	128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
-	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77	-	■	■	■	■	■	■	52	-	
■	■	-	96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	113	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	103	-	■	■	■	■	■	■	18	-	
■	■	-	136	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	24	-	
-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	■	■	■	-	-	-	21	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	78	-	■	■	■	■	■	173	15	-	
-	-	-	54	-	-	-	-	-	-	■	■	■	-	-	-	73	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	84	-	■	■	■	■	■	45	-	-	
■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	-	-	-	-	-	132	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	41	-	
■	■	■	-	-	-	-	-	-	-	■	■	■	■	■	■	62	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	73	-	-
■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	136	-	-	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
68										29										54										35										
72										73										62										68										

Table 12. Influence of the Temperature and Period of Preservation of Kirchner's Semi-solid Agar

Preservation temperature of the media	Strain	Drug	Culture week	Preservation																
				1 week							2 week									
				0	2	4	8	16	32	mcg/ml 64 128 256 512	0	2	4	8	16	32	mcg/ml 64 128 256 512			
5°C	H ₃₇ Rv	1314 TH	III	+++	++	43	—	—	—	—	—	—	+++	++	35	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	5	—	—	—	—	—	+++	+++	++	13	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	25	—	—	—	—	—	—	+++	++	34	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	—	—	—	—	—
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	33	—	—	—	—	—	—	+++	++	21	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	18	—	—	—	—	—	+++	+++	++	24	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	13	—	—	—	—	—	—	+++	++	24	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	12	—	—	—	—	—	+++	+++	++	25	—	—	—	—
20°C	H ₃₇ Rv	1314 TH	III	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	6	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	33	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+++	++	++	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	3	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	25	—	—	—	—
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	26	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	42	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+++	++	36	—	—	—	—	—
			IV	+++	+++	++	18	—	—	—	—	—	+++	+++	++	46	—	—	—	—
30°C	H ₃₇ Rv	1314 TH	III	+++	+++	+++	23	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	13	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	45	6	—	—	—	—	+++	+++	+++	36	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	+++	8	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	7	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	37	16	—	—	—	—	+++	+++	+++	28	—	—	—	—
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	+++	25	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	21	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	9	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	+++	21	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	17	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	21	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
37°C	H ₃₇ Rv	1314 TH	III	+++	+++	+++	43	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	42	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	13	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	4	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	+++	46	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	14	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	8	—	—	—	—
	Yamamoto*	1314 TH	III	+++	+++	+++	37	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	42	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	22	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	14	—	—	—	—
		1321 TH	III	+++	+++	+++	31	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
			IV	+++	+++	+++	17	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	22	—	—	—	—
Viable units**	H ₃₇ Rv	None	IV	32							43									
	Yamamoto*	None	IV	65							46									

Note : The same as in Table 9.

培養期間が両薬剤の MIC に及ぼす影響は、各接種菌量においてほぼ同様な傾向を示すので、ここでは 10^{-8} mg 接種の場合について述べることにする。

(a) 1% 小川培地

培養期間と 1314 TH の MIC との相関は、表5に示すごとくである。すなわち2週間培養では 4 mcg/ml と 8 mcg/ml が各1株、3週間培養では2菌株とも 16 mcg/ml、4週間培養では2菌株とも 32 mcg/ml、5~6週間培養では2菌株とも 64 mcg/ml であった。

培養期間と 1321 TH の MIC との相関は、表6に示すごとくである。すなわち2週間培養では2菌株とも 4 mcg/ml、3週間培養では 8 mcg/ml と 16 mcg/ml が各1株、4週間培養では 16 mcg/ml と 32 mcg/ml が各1株、5~6週間培養では 32 mcg/ml と 64 mcg/ml が各1株であった。

(b) Kirchner 半流動培地

培養期間と 1314 TH の MIC との相関は、表7に示すごとくである。すなわち2供試菌株が2週間培養では 4 mcg/ml、3週間培養では 8 mcg/ml、4週間培養では 16 mcg/ml、5~6週間培養では 32 mcg/ml であった。

培養期間と 1321 TH の MIC との相関は、表8に示すごとくである。すなわち2週間培養では2菌株とも 4 mcg/ml、3週間培養では2菌株とも 8 mcg/ml、4週間培養では 8 mcg/ml と 16 mcg/ml が各1株、5週間培養では 16 mcg/ml と 32 mcg/ml が各1株、6週間培養では2株とも 32 mcg/ml であった。

実験 III. 耐性培地の保存温度ならびに保存期間が 1314 TH と 1321 TH の MIC に及ぼす影響

実験方法

1) 使用培地

実験 I と同じ。

2) 培地の調製法

両培地は実験 II と同様に pH を 6.8 に修正し、両薬剤をそれぞれ 0, 2, 4, 8, 16, 32, 68, 128, 256 および 512 mcg/ml ずつ添加して調製した。かくして調製された培地は、ただちにそれぞれ 5°C 冷蔵庫と 20°C, 30°C および 37°C 孵卵器に分納し、1~8週間貯蔵して実験に用いた。

3) 供試菌株

実験 I と同じ。

4) 菌株の接種法

供試菌株は毎週新たに 1% 小川に植え継ぎ、実験培地には常に2週間培養したものを、比濁法によつて 10^{-8} mg ずつそれぞれ調製直後の培地と 5°C, 20°C, 30°C および 37°C の各温度に 1~8週間保存した培地の1系列に、8週間後まで毎週接種した。

5) 判定

実験 I と同じ。

実験成績

1) 1% 小川培地

(a) 調製直後の培地

耐性培地調製後、ただちに菌株を接種した場合における 1314 TH と 1321 TH の MIC は表9に示すごとくである。すなわち3週間培養においては、H₃₇Rv は両薬剤とも 16 mcg/ml であったが、分離株は 1314 TH が 16 mcg/ml、1321 TH が 8 mcg/ml であった。

調製後それぞれの温度に 1~8週間保存した培地に、菌株を接種した場合における両薬剤の MIC は、表10に示すごとくである。すなわち3週間培養における MIC は、

(b) 5°C 保存培地

1314 TH は2菌株とも 1~6週間保存では 16 mcg/ml、8週間保存では 32 mcg/ml であった。しかし 1321 TH

Table 9. Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis on 1% Ogawa's Egg Media Used Directly after Adjustment

Strain	Drug	Culture week	0	2	4	8	mcg/ml 16 32	Viable units**
H ₃₇ Rv	1314 TH	III	+++	+++	++	36	— —	43
		N	+++	+++	+++	++	33 —	
	1321 TH	III	+++	++	173	32	— —	
		N	+++	+++	++	96	31 —	
Yamamoto*	1314 TH	III	+++	++	137	7	— —	65
		N	+++	+++	156	62	8 —	
	1321 TH	III	+++	++	121	—	— —	
		N	+++	+++	++	43	5 —	

* The same as in Table 1.

** 1% Ogawa's Egg Media, Quantity of inoculated bacilli: 10^{-8} mg, 4 week cultured.

は2菌株とも1~8週間保存しても16 mcg/mlであつた。

(c) 20°C 保存培地

1314 TH の MIC は, H₃₇Rv は1週間保存では16 mcg/ml, 2~4週間保存では32 mcg/ml, 6週間保存では64 mcg/ml, 8週間保存では128 mcg/ml, 分離株は1~4週間保存では32 mcg/ml, 6週間保存では64 mcg/ml, 8週間保存では128 mcg/mlであつた。1321 TH は2菌株とも1~3週間保存では16 mcg/ml, 4週間保存では32 mcg/ml, 6週間保存では64 mcg/ml, 8週間保存では128 mcg/mlであつた。

(d) 30°C 保存培地

両薬剤とも H₃₇Rv は1~2週間保存では32 mcg/ml, 3週間保存では64 mcg/ml, 4週間保存では128 mcg/ml, 6~8週間保存では256 mcg/ml。分離株は両薬剤が, 1週間保存では32 mcg/ml, 2~3週間保存では128 mcg/ml, 6~8週間保存では256 mcg/mlであつた。

(e) 37°C 保存培地

1314 TH の MIC は, H₃₇Rv は1週間保存では32 mcg/ml, 2週間保存では128 mcg/ml, 3週間保存では256 mcg/ml, 4~8週間保存では512 mcg/ml。分離株は1週間保存では64 mcg/ml, 2週間保存では128 mcg/ml, 3週間保存では256 mcg/ml, 4~6週間保存では512 mcg/ml, 8週間保存では256 mcg/mlであつた。1321 TH の MIC は, 2供試菌株が1週間保存では32 mcg/ml, 2週間保存では128 mcg/ml, 3週間保存では256 mcg/ml, 4~8週間保存では512 mcg/mlであつた。

2) Kirchner 半流動培地

(a) 調製直後の培地

耐性培地調製後, ただちに菌株を接種した場合における両薬剤の MIC は, 表 11 に示すごとく, 3週間培養で2菌株とも8 mcg/mlであつた。

耐性培地調製後, それぞれの温度に1~8週間保存し

た培地に, 菌株を接種した場合における両薬剤の MIC は, 表 12 に示すごとくである。すなわち3週間培養における MIC は,

(b) 5°C 保存培地

1314 TH は2菌株とも1~3週間保存では8 mcg/ml, 4~8週間保存では16 mcg/mlであつた。1321 TH のほうは, H₃₇Rv は1~8週間保存で8 mcg/ml。分離株は1~4週間保存と8週間保存では8 mcg/ml, 6週間保存では16 mcg/mlであつた。

(c) 20°C 保存培地

1314 TH は2菌株とも1~2週間保存では8 mcg/ml, 3週間保存では16 mcg/ml, 4~8週間保存では32 mcg/ml。1321 TH のほうは, H₃₇Rv は1~3週間保存では8 mcg/ml, 4週間保存では16 mcg/ml, 6~8週間保存では32 mcg/ml, 分離株は1~2週間保存では8 mcg/ml, 3~4週間保存では16 mcg/ml, 6~8週間保存では32 mcg/mlであつた。

(d) 30°C 保存培地

両薬剤とも2菌株が, 1週間保存では16 mcg/ml, 2~3週間保存では32 mcg/ml, 4~6週間保存では64 mcg/ml, 8週間保存では128 mcg/mlであつた。

(e) 37°C 保存培地

両薬剤とも H₃₇Rv は, 1週間保存では16 mcg/ml, 2~3週間保存では32 mcg/ml, 4週間保存では128 mcg/ml, 6~8週間保存では256 mcg/ml。分離株は1314 TH においては, 1週間保存では16 mcg/ml, 2週間保存では32 mcg/ml, 3週間保存では64 mcg/ml, 4週間保存では128 mcg/ml, 6~8週間保存では256 mcg/ml, 1321 TH においては1週間保存では16 mcg/ml, 2週間保存では32 mcg/ml, 3週間保存では64 mcg/ml, 4~6週間保存では128 mcg/ml, 8週間保存では256 mcg/mlであつた。

Table 11. Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis in Kirchner's Semi-solid Agar Media Used Directly after Adjustment

Strain	Drug	Culture week					mcg/ml		Viable units**
			0	2	4	8	16	32	
H ₃₇ Rv	1314 TH	III	+++	++	47	—	—	—	43
		N	+++	+++	—	—	—	—	
	1321 TH	III	+++	++	43	—	—	—	
		N	—	—	+	—	—	—	
Yamamoto*	1314 TH	III	++	++	43	—	—	—	65
		N	—	—	+	22	—	—	
	1321 TH	III	+++	++	24	—	—	—	
		N	+++	++	+	—	—	—	

Note: The same as in Table 9.

Table 13. Comparison between Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis on 1% Ogawa's Egg Media

Strain	Culture week	Drug												Viable* units
		1314TH						1321 TH						
		Control none	2	4	8	mcg/ml 16	32	Control none	2	4	8	mcg/ml 16	32	
H ₃₇ Rv	III N	+++ +++	+++ +++	+++ +++	68 ++	— 4	— —	+++ +++	+++ +++	++ ++	32 84	— 6	— —	78 92
Yamamoto**	III N	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ ++	— 38	— —	+++ +++	+++ +++	+++ ++	61 ++	— 23	— —	73 81
Murohashi**	III N	+++ +++	++ ++	— —	— —	— —	— —	+++ ++	6 ++	— —	— —	— —	— —	13 52
Nakamura**	III N	+++ +++	+++ +++	++ +++	— ++	— 23	— —	+++ +++	+++ ++	++ ++	— 54	— 4	— —	48 64
Kagawa**	III N	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ ++	— ++	— —	+++ +++	+++ +++	++ ++	15 ++	— 32	— —	82 87
Ando**	III N	+++ +++	+++ +++	++ ++	— 53	— —	— —	+++ +++	++ +++	35 +++	— 31	— —	— —	63 85
Takahashi**	III N	+++ +++	+++ +++	+++ +++	72 84	— 13	— —	+++ +++	+++ +++	++ +++	— 76	— 18	— —	54 61
Kawakami**	III N	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +++	— 39	— —	+++ +++	+++ +++	+++ +++	81 +++	— 41	— —	87 87
Sugai**	III N	+++ +++	++ ++	64 156	— 31	— —	— —	+++ +++	++ ++	42 178	— —	— —	— —	13 21
Sato**	III N	+++ +++	+++ +++	84 138	36 73	— 32	— —	+++ +++	++ ++	73 84	6 58	— 14	— —	57 63
Murayama**	III N	+++ +++	+++ +++	+++ +++	56 ++	— 23	— —	+++ +++	+++ +++	83 ++	— 48	— —	— —	71 74
Yuyama**	III N	+++ +++	73 112	— 18	— —	— —	— —	+++ ++	25 48	— —	— —	— —	— —	9 21

* 1% Ogawa's Egg Media. Inoculum size: 10⁻⁶ mg.

** Indirect resistant test for antituberculous drugs with strains isolated from pulmonary tuberculosis patients previously untreated with antituberculous drugs.

Drug	mcg/ml	Strain											
		Yama-moto	Muro-hashi	Naka-mura	Kagawa	Ando	Taka-hash	Kawa-kami	Sugai	Sato	Mura-yama	Yuyama	
SM	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
INH	0.05	—	—	—	11	—	—	5	—	3	+++	+++	—
	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—
	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
PAS	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SF	20	35	—	++	—	30	++	15	—	46	—	4	—
	50	—	—	21	—	—	++	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CS	10	+++	—	+++	—	++	+++	++	—	—	—	++	—
	20	+++	—	12	—	—	++	—	—	—	—	—	—
	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KM	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
EB	1	—	+++	—	—	++	+++	+++	++	—	+++	+++	—
	2.5	—	++	—	—	++	+++	++	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CPM	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
VM	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
None	Control	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Table 14. Comparison between Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to Mycobacterium Tuberculosis in Kirchner's Semi-solid Agar Media

Strain	Culture week	Drug										Viable* units
		1314 TH					1321 TH					
		Control none	2	4	8	mcg/ml 16 32	Control none	2	4	8	mcg/ml 16 32	
H ₃₇ Rv	III	+++	++	++	—	— —	+++	++	+	—	— —	78
	IV	+++	+++	+++	++	— —	+++	+++	+++	++	— —	92
Yamamoto**	III	+++	++	++	—	— —	+++	++	+	—	— —	73
	IV	+++	+++	+++	+	— —	+++	+++	+++	++	— —	81
Murohashi**	III	++	++	+	—	— —	++	++	+	—	— —	13
	IV	++	++	++	+	— —	++	++	++	32	— —	52
Nakamura**	III	+++	++	++	—	— —	++	++	+	—	— —	48
	IV	+++	+++	+++	27	— —	+++	+++	++	28	— —	64
Kagawa**	III	++	++	++	—	— —	++	++	++	—	— —	82
	IV	+++	+++	+++	+	— —	+++	+++	++	+	— —	87
Ando**	III	++	++	+	—	— —	++	++	+	—	— —	63
	IV	++	++	++	21	— —	++	++	++	28	— —	85
Takahashi**	III	++	++	++	43	— —	++	++	+	37	— —	54
	IV	++	++	++	+	— —	++	++	++	+	— —	61
Kawakami**	III	+++	+++	+++	++	— —	+++	+++	+++	+	— —	87
	IV	+++	+++	+++	++	— —	+++	+++	+++	++	— —	87
Sugai**	III	++	++	+	—	— —	++	++	+	—	— —	13
	IV	++	++	+	33	— —	++	++	+	20	— —	21
Sato**	III	++	++	++	—	— —	++	++	++	—	— —	57
	IV	++	++	++	38	— —	++	++	++	43	— —	63
Murayama**	III	++	++	++	—	— —	++	++	++	—	— —	71
	IV	++	++	++	36	— —	++	++	++	27	— —	74
Yuyama**	III	++	++	—	—	— —	++	++	—	—	— —	9
	IV	++	++	++	—	— —	++	++	8	—	— —	21

Note: The same as in Table 13.

実験 IV. 未治療分離株における 1314 TH と 1321 TH の MIC

上述の実験成績を踏まえて、H₃₇Rv と未治療肺結核患者の喀痰より分離した 11 株、計 12 菌株について、1314 TH と 1321 TH の抗菌力を比較した。

実験方法

1) 使用培地

実験 I と同じ。

2) 培地の調製法

実験 II と同じく、1% 小川は凝固水の pH を 6.8 に、また K 半流動は基汁の pH を 6.8 に修正し、培地調製後ただちに菌株を接種して実験を行なった。

3) 供試菌株

実験には H₃₇Rv および未治療肺結核患者の喀痰より分離した 11 株、計 12 菌株を 1% 小川に植え継いで、3 週間培養したものを用いた。

4) 接種菌量、培養期間ならびに判定

実験 I と同じ。

実験成績

1) 1% 小川培地

この培地における両薬剤の MIC は、表 13 に示すごとくである。すなわち 3 週間培養における 1314 TH は 4 mcg/ml が 2 株、8 mcg/ml が 3 株、16 mcg/ml が 7 株。1321 TH は 4 mcg/ml が 2 株、8 mcg/ml が 5 株、16 mcg/ml が 5 株であった。

2) Kirchner 半流動培地

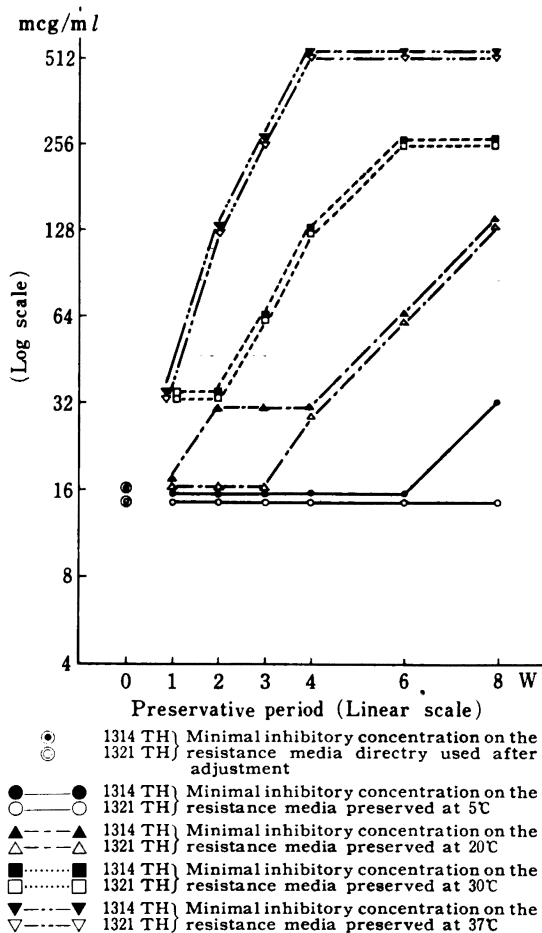
この培地における両薬剤の MIC は、表 14 に示すごとく、3 週間培養においてはともに 4 mcg/ml が 1 株、8 mcg/ml が 9 株、16 mcg/ml が 2 株であった。

考 案

はじめに 1% 小川と K 半流動を用い、1314 TH と 1321 TH について、耐性検査の成績に影響を及ぼす諸因子¹⁾²⁾に関する実験を行なった。

両薬剤の抗菌力は、1% 小川の場合には、培地の pH の差によつてほとんど影響を受けない³⁾と報告されている。しかし 1% 小川における抗菌力は、酸性側では安定しているが、アルカリ側では 1/4 に低下することが認められた。K 半流動における抗菌力は、1314 TH はアルカリ側では酸性側の 1/4 に、また 1321 TH は 1/4~1/8 に

Fig. 1. Relation between Preservation Period of Media and Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to *H₃₇Rv* (3 weeks' cultivation at each preservation temperature with 1% Ogawa's Egg Media after adjustment)



低下することが認められた。しかし培地の pH が 6.8 の場合には、それぞれの培地における両薬剤の MIC はほぼ等しかった。

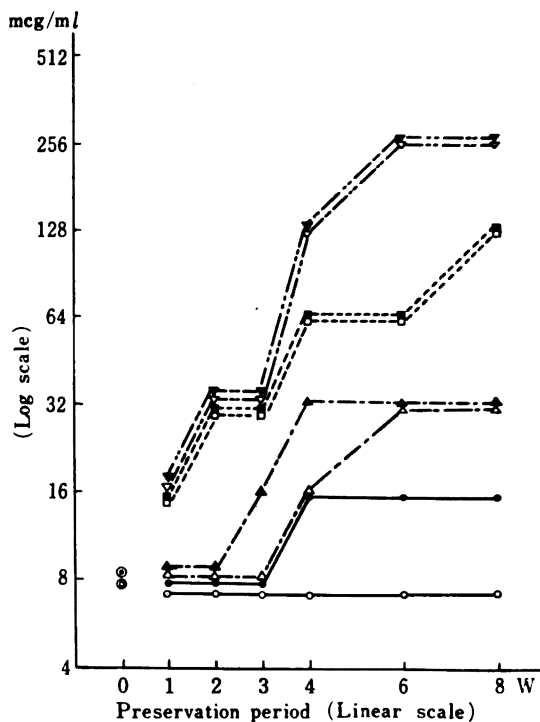
接種菌量が MIC に及ぼす影響は、両薬剤ともそれが多ければ MIC は高く、少なければ低く表現される傾向がある⁴⁾⁵⁾といわれているが、本実験においても、両培地で同様な知見が認められた。

両薬剤の MIC は、培養期間が延長すると高く表現されてくるが、この因子による影響は、既報⁶⁾同様に 1% 小川のほうが K 半流動よりも大きかった。

既報の 1314 TH 単独実験⁷⁾におけると同様に、耐性培地調製後の保存温度と保存期間によつて、両薬剤の MIC は著しい影響を受けるが、両薬剤間には一定の保存温度において、抗菌力の低下が現われてくる期間に差異が認められた。実験に用いた 2 供試菌株がほぼ等しい傾向を示すので、以下 *H₃₇Rv* の 3 週間培養における成績を、曲線に描いて考察することとする。

すなわち 1% 小川における保存温度と保存期間が、両薬剤の MIC に及ぼす影響の相関は、図 1 に示すごとくである。5°C に培地を保存した場合の MIC は、1314 TH

Fig. 2. Relation between Preservation Period of Media and Minimal Inhibitory Concentration of 1314 TH and 1321 TH to *H₃₇Rv* (3 weeks' cultivation at each preservative temperature with Kirchner's Semi-solid Agar Media after adjustment)



Note: The same to as in Fig. 1.

は培地調製6週間後まで、また1321 THは全実験期間の8週間後まで、調製直後の培地におけると等しく16 mcg/mlであつて、抗菌力の低下は認められなかつた。しかし1314 THは、8週間保存した培地では1段階高く表現されてきた。20°Cに培地を保存した場合のMICは、1314 THは1週間後まで、また1321 THは3週間後まで抗菌力の低下は認められなかつたが、さらに保存期間が延長されると、両薬剤のMICは漸次高く表現されてくる。換言すれば、一般に室温と称えられている保存温度においては、1314 THのほうが1321 THよりも短期間に抗菌力の低下を来すことが認められた。30~37°Cに培地を保存した場合における両薬剤のMICは、1週間の保存ですでに1段階高くなり、さらに保存期間が延長されると、両薬剤とも同じ曲線を描いて、しかもきわめて急速に抗菌力の低下を来す。すなわち培地を30°Cに保存した場合には6週間後、37°Cに保存した場合には4週間後最高に達し、それぞれ128 mcg/ml、512 mcg/mlとなつた。

K半流動における保存温度と保存期間が、両薬剤のMICに及ぼす影響の相関は、図2に示すごとくである。すなわち調製直後のこの培地におけるMICは、両薬剤とも1%小川におけるよりも1段階低く、8 mcg/mlであつた。5°C保存では1314 THは培地調製3週間後まで、1321 THは8週間後まで抗菌力の低下は認められなかつた。しかし前者は4週間以上保存すると、1段階高く表現されて16 mcg/mlとなつた。20°C保存の場合には1314 THは2週間後、1321 THは3週間後までMICに変化は認められなかつたが、それ以上保存期間を延長すると抗菌力の低下が現われてきた。すなわち1%小川におけるほどではないが、この温度においては、1314 THのほうが1321 THよりも短期間の保存によつて、抗菌力の低下を来すことが認められた。30~37°Cでは1%小川におけると同様に、両薬剤の抗菌力は保存期間が延長するにつれて、それぞれ同じ曲線を描いて急速に低下した。

すなわち両培地における1314 THと1321 THの抗菌力は、5°C保存においては比較的長い期間安定している⁹⁾が、保存温度が高くなるほど短期間に、しかも急速に低下することが認められた。

上述の実験成績を踏まえて、H₃₇Rvと未治療肺結核患者の喀痰より分離した11株、計12菌株について、1314 THと1321 THの抗菌力を比較した。すなわち1%小川3週間培養における1314 THのMICは、4 mcg/mlが2株、8 mcg/mlが3株、16 mcg/mlが7株。1321 THのMICは、4 mcg/mlが2株、8 mcg/mlが5株、16 mcg/mlが5株であつて、両薬剤の抗菌力には大差ないが、強いといえば1321 THのほうがわずかに強いように思われる。しかし最も安定した抗菌力を示す⁹⁾といわ

れているK半流動におけるMICは、両薬剤とも4 mcg/mlが1株、8 mcg/mlが9株、16 mcg/mlが2株であつて、抗菌力は全く等しかつた。

1314 THと1321 THの結核菌に対する試験管内抗菌力については、1) 両薬剤が全く同程度である⁴⁾⁹⁾、2) 有意差~大差がない¹⁰⁾¹¹⁾、3) わずかに後者が強い⁶⁾¹²⁻¹⁴⁾、4) 培地の種類によつて大差ないが、後者が2倍強い¹⁰⁾と報告されている。しかし両薬剤の抗菌力に関する実験成績のこのような相違は、上述のごとく、a) 抗菌力は両薬剤とも1%小川では、pHがアルカリ側においてわずかに低下する傾向がうかがわれるにすぎないのに、K半流動では、1314 THはアルカリ側で酸性側の1/4、1321 THは1/4~1/8に表現されてくること、2) 1321 THのほうが1314 THよりも保存条件の因子に対して安定した抗菌力を長く持続すること、ことにいわゆる室温保存において両薬剤の抗菌力には倍近い差の現われる場合のあること、等の諸因子が絡み合うことによつて生ずるものと考えられる。したがつて抗結核剤のMICに影響を及ぼす因子に関する諸条件を規定して実験を行なえば、同じ種類の培地における1314 THと1321 THの抗菌力は、ほぼ等しいものと考えられる。

結 論

1%小川培地とKirchner半流動培地を用いて、1314 THと1321 THについて、耐性検査の成績に影響を及ぼす諸因子に関する実験を行ない、その成績を踏まえて、両薬剤の試験管内抗菌力の比較を行なつた。実験I、IIおよびIIIにはH₃₇Rvと未治療肺結核患者の喀痰より分離した1株、計2菌株、実験IVにはH₃₇Rvと未治療肺結核患者の喀痰より分離した11株、計12菌株の人型結核菌を用いた。実験の成績は次のごとくであつた。

1) 1%小川培地およびKirchner半流動培地における1314 THと1321 THのMICは、培地のpHが6.8においてはほぼ等しかつた。

2) 両薬剤の抗菌力は、1%小川培地においてはアルカリ側で酸性側の1/4に低下し、Kirchner半流動培地においては、1314 THはアルカリ側で酸性側の1/4に、1321 THは1/4~1/8に低下して表現されてくることが認められた。

3) 両培地における両薬剤のMICは、接種菌量が多ければ高く、少なければ低く表現され、また培養期間が延長されると高く表現されてくることが認められた。

4) 両培地とも保存温度が5°Cの場合には両薬剤の抗菌力は、比較的長期間安定しているが、20°Cにおいては1314 THのほうが1321 THよりも早く抗菌力が低下した。しかして培地の保存温度が高くなればなるほど短期間に、しかも急速に抗菌力は低下することが認められた。また培地保存温度による影響は1%小川培地のほう

が Kirchner 半流動培地より著しかつた。

5) 抗結核剤の MIC に影響を及ぼす諸因子に関する条件を規定して実験を行なえば、同じ種類の培地における 1314 TH と 1321 TH の抗菌力は、ほぼ等しいものと思われる。

本論文の要旨は、昭和 43 年 10 月 6 日第 23 回および昭和 44 年 10 月 18 日第 24 回国立病院療養所総合医学会、昭和 45 年 11 月 8 日第 17 回日本結核病学会北陸地方学会ならびに第 6 回日本胸部疾患学会北陸地方学会合同学会において報告した。

擧筆に当たり、ご懇篤なご校閲を賜わった所長江川三二博士に深謝する。なお本研究は厚生省一般研究費と塩野義製薬株式会社より α -ethyl-thioisonicotinamide と α -propyl-thioisonicotinamide の純末の供与を受けて行なつたことを記して謝意を表明する。

文 献

- 1) 小川辰次：結核研究の進歩，30：4，昭 36.
- 2) 室橋豊穂（司会）：結核，38：372，昭 38.
- 3) 川合満：京都大学結核研究所紀要，13：184，昭 40.
- 4) 河盛勇造・他 4：最新医学，22：2066，昭 42.
- 5) 小川政敏：最新医学，22：2058，昭 42.
- 6) 田村昌敏・山崎彰：結核，43：135，昭 43.
- 7) 田村昌敏・山崎彰：結核，42：165，昭 42.
- 8) 賀来隆二：結核，38：556，昭 38.
- 9) 貞所弘一・他 2：日本胸部臨床，29：143，昭 45.
- 10) Noufflard-Guy-Lo  , H. et al. : Rev. Tub. Pneum., 26：1204, 1962.
- 11) 外間政哲・他 4：最新医学，22：2073，昭 42.
- 12) Brouet, G. et al. : Rev. Tub. Pneum., 26：1187, 1962.
- 13) 山本和男・他 5：最新医学，22：2087，昭 42.
- 14) 山本正保：最新医学，22：2083，昭 42.
- 15) 金井興美・他 3：最新医学，22：2053，昭 42.