

原 著

抗 結 核 剤 の 耐 性 問 題

第 2 部 : 臨 床 耐 性 限 界 その 1 . Rifampicin

馬 場 治 賢

国立療養所中野病院

受付 平成5年8月23日

受理 平成6年3月7日

STUDIES ON THE PROBLEMS OF RESISTANCE TO ANTITUBERCULOUS DRUGS

II - 1. Clinically Applicable Criteria of Drug-resistance to Rifampicin

Harukata BABA *

(Received 23 August 1993/Accepted 7 March 1994)

Preliminary studies showed that some strains of tubercle bacilli were inhibited even by 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of rifampicin (RFP), but 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or higher concentrations were needed for the inhibition of all strains. Of 5,100 patients with pulmonary tuberculosis who were admitted to our hospital during 12 years since January 1970 through 1981, 1,344 patients had no previous antituberculous drug therapy. All of the strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from such 1,344 patients showed no or less than 10% growth of control on 10 μg -RFP medium by indirect susceptibility tests. But, I defined the clinically applicable criteria of resistance to RFP as "more than 1% growth of control on 10 μg -RFP medium" because of following reasons: 1) the growth more than 1% and less than 10% of control on 10 μg -RFP medium could be reasonably explained as the results of some technical failures, 2) the results of follow-up observations of respective cases, 3) our previous studies on the distribution of RFP-susceptibility of natural resistant strains.

Among total 5,100 cases, 605 cases had been treated with antituberculous drugs previously but failed to achieve negative conversion of the bacilli, and restarted the treatment with regimen including RFP (retreatment group), and the remains had no previous treatment (initial treatment group). The negative conversion rates within three months of treatment were almost same (more than 95%) in both groups, but the rates of RFP-resistance were 5.6% for the initial treatment group and 92.8% for the retreatment group.

Among 605 retreated cases 129 were susceptible to RFP at the start of the treatment but became resistant to RFP, of which 11 were resistant to 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 118 to 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ RFP. Two of the 11 10 μg -resistant cases remained to be 10 μg -resistant until their death (8 and 15 months after the start of the therapy, respectively) though their critical

* From the National Nakano Chest Hospital, 14-20, 3-chome, Egota, Nakano-ku, Tokyo 165 Japan.

proportions showed some fluctuations. Remaining 9 cases later became resistant to 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ RFP. By the 50 μg -resistant cases with lower critical proportion, the increase of critical proportion was rarely observed and did not reach even 50%.

"Fall-and-rise" phenomena were observed rather frequently during the course of treatment with regimens including RFP. The decrease of the number of bacilli in sputa, sometimes to culture-negativity, at the initial phase of the treatment may be an evidence of killing of susceptible bacilli. If bacilli reappeared or increased their number, it is a critical time to reassess the treatment schedule. By my opinion, if the reappeared bacilli were resistant to just 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ RFP and susceptible to higher concentrations, we might expect the effectiveness of RFP by increasing its dose to 0.9 g daily.

It is generally accepted that, when more than 1% of bacterial population can grow in the presence of a drug, the bacteria should be considered as clinically resistant to the drug.

Let us consider a tuberculous patient in whom less than 1% of bacterial population is resistant to 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of RFP. Such a patient may be judged as RFP-susceptible by the routine test in clinical laboratory, but may have one 10 μg -resistant bacillus among 10^3 bacilli. If this patient have 10^9 of tubercle bacilli in his lungs before treatment, there might exist 10^4 10 μg -resistant tubercle bacilli and also fewer number of 50 μg -resistant bacilli. In such a meaning, many or most of the retreatment cases may have RFP-resistant bacilli which may be resistant to other first-line anti-tuberculous drugs, too. I would like to propose to treat such patients with RFP 0.9 g daily in combination with at least two other effective drugs to which the bacilli are susceptible.

Once became resistant to RFP, the patients usually continue to excrete RFP-resistant tubercle bacilli for long periods. According to my experience, the longest was for 10 years. But, on the other hand, reversion from resistant to susceptible results in their drug-susceptibility tests was observed rather frequently. Such phenomena occurred after the cessation of RFP. By my experience, the longest period between the cessation and such reversion was 8 years. Of course, the exact frequency and duration of both phenomena (persistence and reversion of RFP-resistance) could not be determined, because, after the RFP-treatment had been stopped, the susceptibility tests to RFP were not performed in most cases.

Three were primary resistant cases to RFP, all of whom were multi-drug resistant cases. In one case, RFP-resistance was suspected to be due to induced mutation.

Key words : Clinical significant criteria, Critical proportion-curve, Fall and rise syndrome, Back mutation, Induced mutation, Antituberculous drugs

キーワード : 臨床的に有意の耐性値, 耐性度曲線, 菌減少つづいて上昇の症候, 耐性復帰, 誘導変異, 抗結核剤

第1部¹⁾では、Proportion法の最重要点は、稀積度の異なる2菌液を用い対照並びに耐性培地の菌数を正確に数えその割合を算出することである。そのためには接種菌量を0.1 mlとする場合は 10^{-3} と $10^{-5}\text{mg}/\text{dl}$ の2稀積液が最も勝れ、次は 10^{-4} と 10^{-5} の組合せであることを述べた。ただ私どもが「数えられる数」として想定した50~300の数は余りに多く、100個以上は当てにならぬとされている。アメリカの指針²⁾では対照のどれか

は50~100個が必要と述べ、パスツール研の実績³⁾では 10^{-5} の集落数は20~100個の間にあった。また微細コロニーは常にみられるが、どんなに小さくとも見逃してはならない。4週で分からぬ時は6週判定にせよとCanetti⁴⁾は述べている。アメリカでは弱拡大の顕微鏡で判定している。寒天平板によっているので極めて明瞭に観察される。

今やProportion法の優秀性が広く認められ、フラ

Table 1 Initial Results of Susceptibility Tests of the Isolates from Previously Untreated Tuberculous Patients

Concentration of RFP	Critical Proportion (%)														
	Direct method						Indirect method								
	0.9	9	19	29	49	50	total	0.9	9	19	29	49	50	total	
10 µg/ml	895	183	17	7	4	0	1106	1327	14				3	1344	
50 µg/ml	1106						1106	1341						3	1344

ンス本国はもちろん、ドイツの約1/2⁵⁾、スカンジナビア諸国、スペイン、イタリー、旧フランス植民地のアフリカ諸国、北米全土、カナダ、南米の一部^{6)~11)}等で用いられている。なお北米では全国寒天培地に統一され、培地は粉末として、またその注入薬剤はディスクとして販売されている。

特に第2回国際化学療法研究¹²⁾の際は欧州最高級の5研究所が各国からの結核菌を分担し proportion 法と ratio 法で報告することになった。

第2部では臨床を取扱うが、まず Rifampicin (以下 R と略す)の耐性問題を述べる。

A. R 耐性

1967年末より約3年間にR未使用例につき間接法で予備実験を行った。その成績では2µg 2%, 5µg 49%, 10, 20, 50µgでは100%が感性であった。

次に1970~81年の12年間に国療中野病院に入院、入院時R耐性検査を行ったものは5,100例であった。既使用例2,650例、未使用例2,450例。うち未使用例の10および50µgの耐性をTable 1に示した。

10µgについて直接法と間接法と比較すると、耐性度1%以上49%以下のものは直接法では1,106例中211例(19%)間接法では1,344例中14例(1%)で両者の差は極めて大きい(P=0.0000)。また直接法では10µgに1%以上の耐性度の211例中間接法で再検査した146例では141例(96.6%)が感性となった。また間接法10µgに1%以上の14例で再検査した5例は皆感性となった。

この例のように耐性度を0, 1~9, 10~19, 20~29, 30~49, 50%以上に分けると、上記12年間に検討した初回8剤ではR, EB (E), SM (S), INH (H), PAS (P), KM (K), TH (T), CS (C) 全剤がFig. 1のような耐性度曲線を示した。

耐性度は0%に近いほど高く、次第に低くなり、30~50%の間で高くなる。一般に左側斜線部は直接法で多いが、薬剤の種類、その濃度、栓の如何で間接法が多い場合もある。また耐性濃度を低くとるほど多くなる。

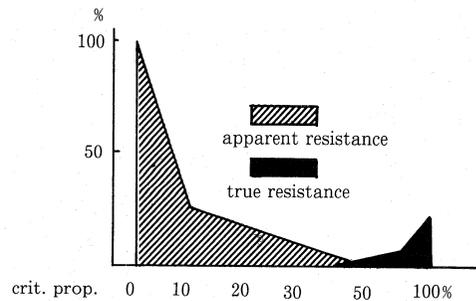


Fig. 1. Schematic Illustration of Critical Proportion Curve

R 10µgで検査した成績では前述の通り斜線部の大部分は再検査で0%となったので、この部の菌の耐性度はみせかけのもので黒色部が真の耐性である。他の抗結核剤でもこの所見は確かめる必要がある。

50µgに耐性例が間接法で3例あった(Table 1)。未使用全2,450例中の3例(0.1%)である。

第1例: 74歳, 男。肺癌で当院入院。6カ月リニヤック照射, 退院2カ月後肺結核発病, 再入。

第2例: 41歳, 女。かぜ。他院で発見され直ちに紹介される。

第3例: 22歳, 女。集検発見, 直ちに入院。

以上3例共多剤耐性で、全例ナイアシン陽性、PNB陰性で結核菌と同定される。

以上を要約すると、

- 1) 直接法10µgで1%以上、49%以下の耐性度の菌は間接法で再検査したところ96.6%は0%となった。
- 2) 間接法で行った1,344例では10µg 1%以上の14例中再検査された5例は皆0%となった。
- 3) 50µgに初回耐性例の3例は皆多剤耐性例であった。

B. 耐性出現の様相

1) 患者例数

従来の化療で失敗し菌陽性でRを含む化療を行ったものが605例あった(Table 2)。単独23例、準単独(R

Table 2 Results of the Retreatment of Treatment-Failure Patients by Various Regimens

Regimen	After Retreatment				Total
	Negatively Converted	TB-bacilli Positive			
		Resistant	Susceptible	Not Tested	
RFP only	2	20	0	1	23
RFP+Resistant Drugs	35	28	1	1	65
RFP+1 Susceptible Drug	230	59	4	0	293
RFP+2 Susceptible Drugs	199	22	2	1	224
Total	466 (77.0%)	129 (21.3%)	7 (1.2%)	3 (0.5%)	605 (100%)

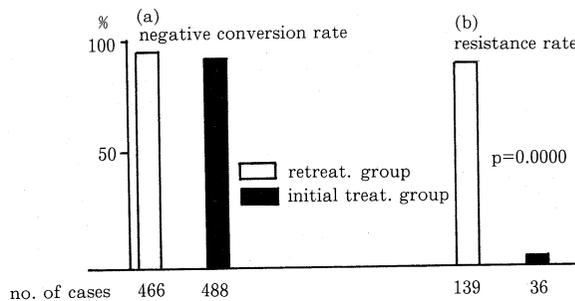


Fig. 2. Difference in Resistance Rate between Initial Treatment Group and Retreatment Group

* negative conversion within 3 months of treatment

に耐性剤を併用) 65例, II群 (Rに感性1剤を併用) 293例, III群 (Rに感性2剤以上を併用) 224例である。

ここで耐性としたのは,

$S_{10\mu g} H_{0.2} P_{0.5} R_{10}$ ……………1%以上
 $E_{2\mu g} K_{20} T_{20} C_{20} Cpm_{20}$ ……………10%以上
 PZA (Z) は検査していないが感性と仮定した。

2) 成績

陰性化 77%, 再排菌または排出菌量増加例中耐性化 21.3%, 感性例 1.2%, 不検 0.5%であった。陰性化した 466例中3カ月以内にみられたものは 453例 (97.2%)であり, これは先にわれわれ¹³⁾が報告した初回6カ月群 488例の3カ月以内の陰性化 466例 (95.5%)とほとんど同じであった。

ところが前者の再排菌または再増加例の耐性化は 139例中 129例 (92.8%)に対し, 後者の再排菌例は 36例中僅かに 2例 (5.6%)であった。しかもこの 2例は外来性再感染を思わせる 1例¹⁴⁾とホジキン氏病合併例であった (Fig. 2)。

特にIII群では感性2剤以上を併用していたにかかわら

ず, 再排菌 25例中 22例 (88.0%)が耐性化している。

この両群の再排菌の機序は全く異なっている。初回例の場合は菌が速やかに減少, 陰性化の際Rの耐性菌はほとんど全部殺され再排菌は全例治療終了後にみられた。これに反し既使用例では初め菌減少または陰性化の際にRの耐性菌が殺されなかったため, 大部分は治療開始から極く早期に耐性菌の出現をみた。治療開始から6カ月以内の耐性化は単独 100%, 準単独 93.3%, II群 73.5%, III群 69.2%であった。

3) 初めて耐性化した 129例の耐性濃度と耐性度 (Table 3)。

治療開始前は全例間接法で $10\mu g$ 0%であった。初めて耐性化した時の濃度は $10\mu g$ 11例, $50\mu g$ 118例であった。

治療開始から最初の耐性化までの期間は理論的には Fig. 3にみられるように, 化療で菌が減少または陰性化後, 再増加または再排菌が起こった時 (図のC点に相当)のはずであるが, 実際には陰性化が長びき再排菌が遅れたためとか, 検査が適切に行われなかったり, 併用

Table 3 Grade of RFP-Resistance of the First Resistant Result

Critical RFP Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	10			50			Total
	1-9	10-49	50 \leq	1-9	10-49	50 \leq	
Critical Proportion (%)							
Retreated with :							
RFP only	0	0	0	0	3	17	20
RFP+Resistant Drugs	1	0	0	5	4	18	28
RFP+1 Susceptible Drug	2	4	0	4	10	39	59
RFP+2 Susceptible Drugs	3	1	0	2	4	12	22
Total	6	5	0	11	21	86	129

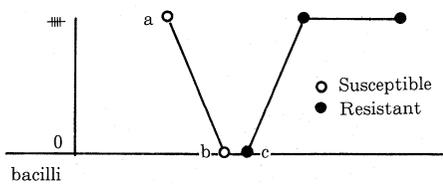


Fig. 3 Model of "Fall-and-Rise" Phenomenon

剤の有無程度等のため耐性化の時期はいろいろである。Table 4 には3カ月以内に耐性化した割合を示した。単独85%，準単独86%，II群70%，III群46%で併用する感剤が多いほど耐性化は遅れていた。

耐性化はR中止後に起こることもある。

症例：男，69歳。MIN，右胸成例。

R 7日で副作用中止，併用のC.Z.も2カ月足らずで中止（薬を使うことは間違っている）との固い信念の持主。ただし検痰は毎月必ず行っていた。治療前および治療開始後2週間（R中止後5日），さらにその1週間後の3回とも10 μg 0%であった。ところが2年2カ月

目はR 50 μg 86%，C 30 μg 34%であった。この菌はナイアシン陽性，PNB陰性で結核菌であることは確かである。さらにその1年後および1年半後R 50 μg 100%であった。ただし5年6カ月目は10 μg 0%になっていた。この例は耐性が誘動変異によるという説¹⁵⁾⁻¹⁶⁾に有力な支持を与えるものと思われる。

C. 第1回耐性化群のその後の経過

1) 10 μg 耐性 11例

10 μg に終始した2例中1例は最高91%，治療開始から15カ月観察（死亡），その間6回耐性検査，第2例は最高が8%，観察8カ月（死亡），耐性検査4回。

初めての耐性は10 μg であったが，次の検査で50 μg になったものは4例，2回目1例，4回目3例の8例であった。上記10 μg のみに終始した2例も，もっと長く観察出来たら50 μg になったかもしれない。残りの1例はtransitional resistant例¹⁷⁾⁻¹⁸⁾である。REK₂6カ月，治療開始後直ちに陰性化。治療終了9カ月目に1回のみ $\frac{37}{2}$ ，R 10 μg 2%，以後3年6カ月毎月陰性，その間無治療。

2) 50 μg 1~49%群 (Table 5)

Table 4 Periods Between the Start of Retreatment and First Appearance of Resistant Result

Retreatment Regimen	Resistance First Appeared After (Months)						Total
	1	2	3	6	12	12<	
RFP only	8	6	3	2	0	1	20
RFP+Resistant Drugs	11	9	4	2	1	1	28
RFP+1 Susceptible Drug	22	13	6	6	9	3	59
RFP+2 Susceptible Drugs	2	7	1	2	6	4	22
Total	43	35	14	12	16	9	129

Table 5 Increase of Proportion of 50 μ g-RFP Resistant Bacilli

Initial Proportion	No. of Examinations When Proportion Reach to 50%					
	2	3	4	6	7	Total
1~9%	4	2	2	0	1	12**
10~49%	16	1	0	1	0	20***

* By two patients, proportion did not reach to 50%

** One patient was tested just once

*** Two patients were tested just once

50 μ g 49%以下から50%以上になるまでの期間は最短7日、最長2年1カ月であった。検査回数では1~9%からと10~49%からは比較にならぬほど後者が早い。初めの耐性度が低いものは高耐性化が困難である。2例は50 μ gになることができなかった。その1例は50 μ g 8%になってから9年間、その間13回検査が行われたが最高21%にとどまった。すなわちR耐性は少なくとも臨床的にはsingle stepで高耐性化できぬ例があることを示している。

D. Fall and rise 症候¹⁹⁾

本症候はCroftonが薬剤耐性化の際みられる4症候(本症候、第2の薬剤の耐性化、X線悪化、臨床悪化)の一つとして重視した所見で、感性菌が残っている間は菌は減少しつづけるが、耐性菌のみになると増加し始めることを示している。その頻度は薬剤の種類、耐性度によって異なる。SHP治療の際は低耐性ではSが、高耐性ではHが最も多かった。

Rを含む治療の場合は、この症候ははるかに頻繁にみられる。Fig. 3は本症候を模型的に示したものである。治療開始とともに菌量は急速に減少し、感性菌がなくなるまでつづく。通常菌は陰性化するが、その直前の菌bは開始前の菌aとともに感性で、再排菌が始まった最初の菌cは耐性化している。このcの時期の検査成績は今後の治療方針の重要な指針となる。

1) もしcの時点でRが50 μ gに耐性化していれば併用剤はRの耐性菌を殺せなかったことを意味し、同じ治療法では効果は望めない。

しかし10 μ gのみの耐性化の場合は、Rの服用量を増し血中濃度を10 μ gの耐性菌を殺し得る程度に高めることができれば、なお治療せしめ得る可能性が残されている。

ここで10 μ g耐性とは、耐性測定濃度間隔の関係上10 μ g以上50 μ g以下を示している。0.45g服用後の血中濃度²⁰⁾⁻²⁵⁾は大部分のものが10 μ g以下である。0.6g服用後もこれと大差がない。ところが0.9g服用後²⁶⁾は平均20 μ g以上の血中濃度が得られている。

2) もしcの時点でRが感性なら併用剤はRの耐性菌

を殺せたが、Rは自己の感性菌を殺せなかった。すなわちRの服用量が少な過ぎた。速やかに増量すべきことを示している。次に実例をTable 6に示す。

例1: 8週目(Tableの2カ月)陰性化。9週目(↓)の菌の有無をできるだけ早く確認し直ちにRを0.9gに増量、同時に感性の併用剤を投与すべきであった。9週目の耐性検査の成績を待つ時間はなかった。事実9週目の1カ月後には10 μ gだけであったが、2カ月後には50 μ g 100%になってしまった。

なお、この表のままなら遅くも4カ月目の成績が分かり次第他の治療法に変えるべきであった。実際には12カ月後になってTCpm Kに変更、その3カ月後より陰性化している。

例2: 12年前より各種抗結核剤、無効、当院入院。1971年4月よりR(0.3)E(1.0)を週2回、1年間無効; 耐性検査9回皆10 μ g 0%, E 2 μ g 0%, R(0.45)E(1.0)毎日に変更、直後より陰性化、3年6カ月観察。薬剤使用量の不足であったことは明らかである。2カ月目(↓)に変更すべきであった。

例3: 14年来各種抗結核剤無効。入院。1941年6月よりRE(感)毎日26カ月、菌は初め卍、4カ月目陰性化、5カ月目よりまた陽性、6カ月目E耐性化、つづいてRも耐性化。R中止。その7月目よりRはまた感性となる。

再治療は24RH(耐)C(感)Z、2年間菌は常に陽性、15回の検査でR 10 μ gは皆0%, 併用のCは耐性化、9R(0.9g)T(耐)P(感)に変更。その後より2年9月死亡まで毎月陰性。

第1回5カ月目(↓)に変更すべきであった。

Fall and riseは一般には治療開始とともに始まり、2~3カ月以内に再増加が終わる。治療変更時と同様である。しかしFig. 3のようにはっきりしないことも少なくない。

E. R 10 μ g 0%の意義

耐性菌は1%以上存在する時のみ、臨床的に有意義であると一般に考えられている。

治療前R 10 μ g 0%の例のみについて検討した。対

Table 6 Examples of "Fall-and-Rise" Phenomena

Case 1 : Male, 58 years old, Far advanced with the largest cavity of 7.2 cm in diameter

Regimen (months)	before	RE						TCpm K						
		1	2	3	4	6	12	1	2	3	8			
Bacilli	卍	+	-	-	-	+	+	卍	卍	+ - - - - - +				
Resistance	R 10 μ g	0					23	100	98	86				
	50 μ g						0	100	76	56				
	E 2 μ g	0					0	0	0	60				

Case 2 : Male, 78 years old, Far advanced with a cavity of 4.2 cm in diameter

Regimen (months)	before	R (0.3) E (1.0)				R (0.45) E (1.0)							
		1	2	3	12	1	2	12	13	45			
Bacilli	卍	+	+	-	-	+	卍	+	- - - - -				
Resistance	R 10 μ g	0	0	0	0	0							
	E 2 μ g	0	0	0	0	0							

Case 3 : Male, 46 years old, Far advanced with a cavity of 9.5 cm in diameter

Regimen (months)	before	RE										H		RHC				R (0.9) PT		None	
		2	4	5	6	7	9	11	14	26	1	16	1	2	12	23	1	9	1	24	
Bacilli	卍	+	-	+	+	+	+	+	+	卍	卍	卍	卍	+	+	+	卍	-	-	-	-
Resistance	R 10 μ g	0	0	0	0	0	0	20	100	100	0	0	0	0	0						
	50 μ g							15	75	100											
	E 2 μ g	0	0	0	100	67	38	100	26	42											
	H 0.2 μ g										42	73	41	58							
	C 20 μ g										9	55	14	22							

Table 7 Bacteriological Prognosis of the Cases Whose Bacilli Showed No Growth on 10 μ g-RFP Medium at the Start of Treatment

	Total No.	Negative Conversion *			Continuously Positive	
		3 Mon.	4 Mon.	5 Mon.	Susceptible	Resistant
Initial Treatment Group	282	268 (95.0)	276 (97.9)	282 (100)	0	0
Retreatment Group	266	172 (64.7)	181 (68.0)	184 (69.2)	10 (3.8)	72 (27.1)

* Cumulative negative conversion
 Figures in parentheses are % of the total number.

照が 10³ の場合、10 μ g 耐性菌は 78 例中 1 例 (1.3%)
 すなわち $\frac{1}{100}$ 、10⁴ の場合は 37 例中 6 例 (16.2%)
 認められた。しかし対照 10⁵ 以上では検討していない。

また 50 μ g 耐性菌は対照 10³ にも 10⁴ にも認められなかつた。
 次に、10 μ g 0% を証明した例のみの化療の予後を検

討した (Table 7)。

初回6ヵ月治療群では282例中5ヵ月以内に全例陰性化した。ところが既使用例では同期内の陰性化は69.2%, 耐性化27.1%, 感性でありながら6ヵ月以上菌陽性者は3.8%であった。すなわち小数点以下の10 μ g耐性菌の存在も既使用例では無意味でなく、従来の治療失敗の原因となりうるのではなからうか。いかにしてこれを克服するか。

幸い10 μ g耐性菌は20 μ g以下である限り、Rを0.9gに増量することで大部分を殺し得る可能性がある。しかし50 μ g耐性菌はR以外の併用剤が必要である。

以上を総合的に考察すると、既使用例では全例「R 0.9gと感性の併用剤2剤以上で治療を開始する」ことが最善の方法でないかと考えるようになった。

副作用、特に肝障害には万全の注意が必要である。R 0.9g服用期間は3ヵ月前後が適当でないと思われる。初回例でも既使用例でも、陰性化全例の95%は3ヵ月以内に終わっている。

F. 耐性復帰と耐性の持続期間

Rの耐性復帰は比較的頻度が高い。私どもの129例では15例(11.6%)にみられた。感性化が1回のみもの6例、2回3例、3~6回5例、15回1例である。治療中のものは3例、中止後1年内3例、2~4年7例、6~8年2例であった。最後の耐性化時より感性化までの期間は1ヵ月2例、2~9月3例、1~3年10例であった。また治療期間は復帰の速さとは無関係であった。

一方、いったん耐性化した例の持続期間を検討した。治療中のものは開始より1年以内44例、2年内5例、治療終了後では1年内25例、1~5年23例、5年以上12例、うち最長は9年11ヵ月であった。

これら耐性復帰や耐性の持続期間の全貌は、ほとんど分かっていない。一つは、復帰したRでの再治療は従来ほとんど失敗したことも手伝って、R中止とともにその耐性検査も行われなかったためである。

G. 総括と討論

RはHとともに現代治療ではなくてはならぬ最も重要な薬剤である。

初回治療では一応治療方針は確立している。しかし従来の治療に失敗した例の場合は例えばRは初回でもその用量、併用剤の選択等にさらに深い工夫が必要でないだろうか。

本論文では、初め予備実験で1%小川培地、間接法では2 μ gで阻止した例もあったが、完全阻止は10 μ g以上であることを確かめた。

次いで1970年以来12年間の初回例で10 μ gの耐性度 (critical proportion) を検討したところ、各耐性濃度ともすべての抗結核剤について Fig. 1 のような2峰性の耐性度曲線を得た。本所見についての文献は全く

見当たらない。私は長年本所見を不思議な気持ちで見守っていたが、R 10 μ gの探究で初めてすべてが氷解した。すなわち真の耐性度は0%が最も低く、100%が最も高い。第1峰はみせかけのものである。R 10 μ g以外では、耐性検査を再検して確かめたわけでないが、この場合も第1峰はみせかけのものであろう。

ところで、いったん確かに間接で10 μ g 1%以上になったものは菌は常に陽性で、つづいて高い耐性になった。

以前私ども²⁷⁾は、自然耐性菌の分布からR 10 μ gは5 μ gより激減、10⁷中0.1%であったこと、未使用1,779例中間接法による953例では10 μ g 1%以上は0.7%であったところから、臨床的耐性限界は10 μ g 1%以上と考えたが、文献や直接法の成績を考慮して10 μ g 50%以上または50 μ g 1%以上とすると述べた。

柳沢ら²⁸⁾は、療研の症例「R未使用例と3~6ヵ月使用後なお菌陽性群の耐性値を10⁻³と10⁻⁵ mg/dlの両菌液で検討、10⁻⁵菌液では10 μ gでs 97%, r 3%, R(このRは確実な耐性) 0%の成績であった。absolute concentration法のためs, rが1%以上か以下かの区別はできないが、ほぼ私どもの成績と一致していた。しかしその結論は10 μ g完全耐性(または10 μ gおよび50 μ g不完全耐性)を臨床耐性限界とするととなっていた。日本の耐性基準設定の責任者としての立場上、日本の現状よりかなり幅をもたせてのことであろう。

東村²⁹⁾はRの耐性形式はsingle step patternである。したがって耐性である以上は高耐性でなければならないとして、25 μ gを提唱している。

Canetti³⁰⁾は40 μ g 1%(L-J培地、間接法、proportion法)、アメリカの指針²⁾では1 μ g 1%(寒天培地、間接、proportion法)。

寒天培地の1 μ g 1%は小川培地の10 μ g 10%と同じで、私どもが小川培地間接法で行った1,344例10 μ g 10%では全例阻止していたので、10 μ g 10%以上とするのが正しいかもしれないと思ったが、上述の理由で1%以上を耐性限界とした。

“Fall and rise”症候は、治療方針を早期に決定する重要な指針であることを述べた。さらに10 μ g 0%の意義を考察することによって確実に服薬しているにかかわらず、耐性化や不成功の対策として10 μ g耐性菌のためにはRを0.9g服用さすこと、50 μ g耐性菌のためにはR以外の併用剤の選択が必要であることを述べた。

本症例中50 μ g初回耐性例が3例あったが、全例多剤耐性例であった。私どもが経験した「外来性再感染を思わせる4症例¹⁴⁾」も全例多剤耐性例であった。最近アメリカで多剤耐性例が多発している³¹⁾。HIV感染者、麻薬中毒者、アルコール中毒者等で免疫低下者に多いという。私どもの3例では、癌のため放射線照射を受けた

1例以外は免疫低下を思わせる所見はなかった。

耐性復帰についてはSchmidt³²⁾の極めて興味ある実験がある。2種のH耐性菌(BishとBonin)を確実に感染菌を除いた後猿に接種、ともに広般な肺炎を起こした。その際Bish株は逆突然変異で感性菌を作ったが、Bonin株は作らなかった。猿の病巣をモルモットに接種することで証明している。

私どもの例では、いったん耐性化したら10年近くも耐性を維持しているかと思うと、なかなか耐性化せず、R増量でやっと耐性化したと思ったら、R中止でまた直ぐ感性化した例があった。これらはあるいは菌種自体の相異によるものでないかと思っただが、想像にとどまった。

結 論

1) Rの臨床耐性限界は1%小川培地間接法では10 μ g 1%である。

2) 以上は未使用例での検査および臨床例を長期観察した結果である。

3) Fall and rise 症候はRを含む治療例では高頻度にみられ、治療方針決定の重要な指針となる。

4) R 10 μ g 0%は小数点以下の耐性菌の存在を否定するものではない。従来の治療に失敗した既治療例ではR量を0.9gにし併用剤も充分顧慮する必要がある。

5) 耐性復帰は私どもの例ではしばしば認められた。R中止後の耐性検査の頻度を増せばさらに多くの例が見いだされるであろう。また耐性の持続期間もより長くつづく例があるだろう。

6) 3例の初回耐性例は全例多剤耐性例であった。

7) 誘導変異によると思われる1例を経験した。

文 献

- 1) 馬場治賢, 斎藤千別: 抗結核剤の耐性問題 第1部 検査法, 結核. 1992; 67: 595-605.
- 2) PT Kent, GP Kubica: Public Health Mycobacteriology. A guide for the level III laboratory. Atlanta Georgia 30333 1985.
- 3) JG Brandon, K Bartmann: Statistical aspect of the proportion method. Scand. j. resp dis. 1969; 50: 1-18.
- 4) Symposium. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programs. Bull. who. 1969; 41: 21-43.
- 5) R Kalich, M Nitchke, H Ulber, et al.: Vergleichende resistant bestimmungen von Mykobakterien mit dem vertikal Diffusionstest und der proportion methode (eco-

nomical test). Z. Erkr. Atem. 1974; 140: 242-252.

- 6) Symposium. An international investigation of the efficacy of chemotherapy in previously untreated patients with pulmonary tuberculosis. Bull. IUAT. 1966; 37: 189-225.
- 7) Symposium. Progrès actuels dans les méthodes de mesure de la résistance du bacille tuberculeux aux antibiotiques majeures et mineures. Bull IUAT. 1966; 37: 189-225.
- 8) G. Porven. Résistance primaire dans 655 cas de tuberculose pulmonaires de l'adulte en Argentine. Rev fr Mal Resp. 1977; 5: 677-682.
- 9) M Roudaut, et al.: La résistance initial du bacille de Koch en Côte-Duvoire. Rev fr Mal Resp. 1977; 5: 683-690.
- 10) MT Valenzuela, et al.: Drug resistance of *M. tuberculosis* in Chile. Bull IUAT and Lung Dis. 1989; 64: 13-14.
- 11) N. Ait-Khaled. The impact 8 short course chemotherapy in a national tuberculosis programme. (Algeria). Bull IUAT. 1986; 61: 13-15.
- 12) The second cooperative chemotrial of the union. B) Bacteriological report. Bull. IUAT. 1968; 42: 39-57.
- 13) 馬場治賢, 新海明彦, 井樋六郎, 他: 肺結核短期療法 of the 遠隔成績, 結核. 1987; 62: 329-339.
- 14) 馬場治賢, 吾妻 洋, 井樋六郎, 他: 外来性再感染によると思われる4症例に就いて, 結核. 1982; 57: 329-339, 429-433, 497-502.
- 15) R. Linz. Sur la mécanisme de l'action de la streptomycine. Annales de l'inst Pasteur. 1950; 78: 105-117.
- 16) 秋葉朝一郎, 横田 健: 薬剤耐性の復帰の機作 II. Med and biol. 1952; 24: 218-222.
- 17) G Ganetti: Present aspects of bacterial resistance in tuberculosis. Amerc rev resp dis. 1965; 92: 187-203.
- 18) Leat JL: Transitional drug resistance in tuberculosis. tubercle. 1971; 52: 295-297.
- 19) Crofton J. Symposium. Clinical significance of bacterial resistance tests. Bull IUAT. 1957; 27: 220-221, 248-252.
- 20) V Nitti, FD Veneri, A Ninni, et al.: Rifampicin blood serum levels and half-life dur-

- ing prolonged administration in tuberculous patients. *Chemotherapy*. 1972 ; 17 : 121-129.
- 21) A Yokosawa, H Arai, H Sato, et al. : Experimental and clinical studies on the metabolic fate of rifampicin in animals and humans. *Sci. resp. inst. Tohoku University*. 1972 ; 19 : 177-182.
- 22) L Verbist, A Gyselen : Antituberculous activity of rifampicin *in vitro* and *in vivo* and its concentrations attained in human blood. *Amec rev resp dis*. 1968 ; 98 : 923-932.
- 23) 津久井俊次, 山田栄一, 岩田猛邦, 他 : Rifampicin について, *日胸*. 1969 ; 28 : 380-389.
- 24) 五味二郎, 青柳昭雄, 山田幸寛, 他 : Rifampicin に関する基礎的ならびに臨床的研究, *診療*. 1971 ; 46 : 481-489.
- 25) 馬場治賢, 吾妻 洋 : Rifampicin による肺結核の再治療 後編, *結核*. 1976 ; 51 : 7-12.
- 26) G Acocella, et al. : Kinetic studies on rifampicin. *Chemotherapy*. 1971 ; 16 : 356-370.
- 27) 馬場治賢, 吾妻 洋 : RFP の耐性, *結核*. 1976 ; 51 : 1-5.
- 28) 柳沢 謙, 室橋豊穂 : Rifampicin に対する結核菌の臨床的耐性基準設定に関する研究, *結核*. 1970 ; 45 : 317-322.
- 29) 束村道雄 : 結核菌の Rifampicin 耐性の境界値, *医療*. 1972 ; 26 : 60-66.
- 30) G Canetti : Some comparative aspects of rifampicin and isoniazid. *Tubercle*. 1968 ; 49 : 367-376.
- 31) J Prignot : Multidrug resistance of tubercle bacilli. facts and implications for national programmes. *IUATLD Newsletter* june 2-6, 1993.
- 32) Schmidt LH, AA Grovert, R hoffmann, et al. : The emergence of isoniazid sensitive bacilli following inoculating monkeys with isoniazid resistant strains. *Transaction 17th conference on the chemotherapy of tuberculosis*. 1958, 264-269.