

## 喀痰中結核菌薬剤耐性の定量的分析 第7報

結核菌の INAH 耐性度と治療効果

東村 道雄・林 光男

国立療養所大府荘

(昭和 33 年 8 月 4 日受付)

一般に用いられる耐性検査法はいわば定性的なものであつて、発育可能の最高濃度を以て耐性度を表現するか、対照培地の発育と比較して完全、不完全耐性に分けられている。このような方法では、或程度以上の生菌数の存在では、たとえ耐性培地と対照培地の生菌数に実際に相当の差があつても完全耐性と読みとられることもある<sup>1, 2)</sup>。従つて、いわば耐性検査の定量化、すなわち喀痰中結核菌の population 構成<sup>2)</sup>をしらべることが望ましいわけであつて<sup>3-10)</sup>、吾々が第 1-6 報<sup>5-10)</sup>で行なつた研究はこの方法の試験的段階に他ならない。これらの研究の結果、私達の療養所では定量的方法を耐性検査の routine work としてとりあげることとし、昭和 32 年 7 月から実施した。勿論、routine work としての定量的耐性検査は研究的段階で行なつたような詳細な方法では行ない得ないので、次に示すような簡易化をはかつた。その結果、INAH 耐性に関する population 構成と INAH の臨床効果との関係について興味ある結果を得たので報告する。

### 実験材料及び方法

昭和 32 年 7 月から 12 月までに国立療養所大府荘に入院中の患者で陳旧空洞を有する重症肺結核 (far-advanced cases) の患者を主な対象とした。その中、ここでは INAH-PAS 併用療法を行なつた 21 例について述べる。実際の対象は 23 例であつたが、内 2 例は定量化が不成功に終つたので除外した。対象の患者は SM-PAS 併用療法及び INAH-PAS 併用療法を既に受けたことのあるものであつた。

これらの患者に INAH 1 日 0.3 g 1 週 2 日、PAS 1 日 8-10 g 毎日の方法で併用療法を行なつて、化学療法の臨床的効果を観察した。定量的耐性検査は大概 1 カ月おき、またはそれ以上施行した。臨床効果の判定は 6 カ月めに療研の基準によつて行なつた。

耐性検査の実施法は、次のとおりである。

早朝痰 1 個をとつて蛍光法により鏡検し、Gaffky 号数は Ziehl-Neelsen 法の号数の 3 倍を以つて同一号として判定した。

喀痰に等量の 5% KOH を加え、15-20 分間均等化し、渦巻白金耳 (0.02 cc 接種用)<sup>11)</sup>によつて次の薬剤を含む 1% 小川培地 (8 ml 分注) に接種し、直ちにゴ

ムキヤツプを施して 37°C 6 週に培養した後集落数を数えた。培地は、対照培地 (薬剤なし); SM 10 mcg, 100 mcg, 1,000 mcg; INAH 0.1 mcg, 1 mcg, 10 mcg; PAS 1 mcg, 10 mcg, 100 mcg を常用のとおり添加し、以上の組 (10 本 1 組) を 1 例について 2 組使用した。すなわち、Gaffky IV 号以上の喀痰では、喀痰原液とその 1,000 倍稀釈液 (生理的食塩水で稀釈)、Gaffky III 号以下の喀痰では、喀痰原液とその 100 倍稀釈液とを各 1 組宛に接種した。Gaffky 陰性の喀痰は原喀痰液のみを接種に用いた。

以上の方法によつて、対照培地で試験管当り 10-150 個の集落数 (以下 actual count と云う) を得た率、すなわち定量化に成功した率は 93% (143 回中 133 回) であつた。

各薬剤耐性菌含有率は総生菌数 (単位) にたいする百分率で表した。但し、対照培地に actual count 可能な集落があり、耐性培地に集落のない場合は、簡単化のためたんに耐性菌含有率 0 と表わすことにした。

以上の実用法の他に、患者 18 例については (内 INAH-PAS 併用療法をこの期間に行なつたものは 6 例)、従来通りの 5 段階稀釈法を思い、培地も単独薬剤培地だけでなく併用培地も併用して定量的耐性検査を施行した。この群では、24 時間痰をとり (この間投薬中止)、1 日中総喀出菌数 (単位) を求めるとともに、各薬剤単独耐性菌、2 重及び 3 重耐性菌含有率を併せて測定した。この成績についても参考に一部を掲げた。

### 実験成績並に考察

INAH-PAS 併用療法を行なつた 21 例の化学療法開始時の耐性検査成績を表 1 に示した。表のように、各 INAH 濃度に actual count 法で集落を認めた場合をその濃度の耐性と表現すれば、21 例中、INAH 耐性なしは 1 例、INAH 0.1 mcg 耐性 9 例、INAH 1 mcg 耐性 9 例、INAH 10 mcg 耐性 2 例であつた。この 21 例の臨床経過を観察するのに全例が症状不変と判定され、好転例は 1 例もなかつた。また悪化した例もなかつた。

なお、上述の INAH 耐性なしの 1 例は、上記の検査の 1 カ月後には INAH 10 mcg 耐性の結果を示した (表 1 註参照)。

以上の結果から、INAH 0.1 mcg 耐性で、それ以上

表1 INAH-PAS 併用療法を行なつた 21 例の喀痰中結核菌の population 構成(化学療法開始時)

Case	INAH			PAS		
	0.1	1	10	1	10	100
1	100	28	0	14	0	0
2	28	0	0	87	0	0
3	22	144	11	120	120	0
4	32	28	0	72	10	13
5	52	0	0	145	94	0
6	60	0	0	0	0	0
7*)	0	0	0	57	0	0
8	31	0	0	150	0	0
9	101	3	0	100	89	76
10	91	0	0	49	40	0
11	46	4	0	0	0	0
12	158	110	1	176	0	0
13	205	0	0	108	102	0
14	105	0	0	0	0	0
15	10	44	0	91	0	0
16	38	10	0	113	84	2
17	100	4	0	54	29	0
18	20	30	0	1	0	0
19	12	27	0	88	75	0
20	21	0	0	54	0	0
21	39	0	0	50	23	0

Population 構成は各濃度における耐性菌含有率(百分率)で示した。100% 以上の数値は測定誤差によるものである(第6報参照)。

\*) 治療1ヵ月後の成績は、INAH 0.1 mcg 48%, 1 mcg 50%, 10 mcg 15% であつた。

の耐性のない例が9例あり、また INAH 1 mcg 耐性菌があつても含有率が10% 以下の例が4例(例9, 11, 16, 17, 但し第6報に示した通り、この10% 以下と言う値は信頼度が低い)があるが、この中にも好転例が存在しない。こうしてみると、INAH 0.1 mcg 耐性菌だけが存在する例(少くとも9例)で既に INAH の臨床効果が著明に低下していると考えられるのである。特に強調しておきたいのは、臨床効果は無効と言うべきではなく、臨床効果の低下と言うのが正しいと言うことである。何故なら、INAH-PAS 療法以前の時代には、吾々の経験ではかような重症患者の相当数は必ず悪化を来すのが普通であつたからである(このような資料の統計をとりつつある)。しかるに、現在の症例で全例が不変で悪化例がみられなかつたと言うことは、INAH-PAS 併用療法の施行がたとえ積極的に症状を好転させる程の効果はなかつたにしても、悪化を阻止する作用があつたものとみなさねばならない。従つて、臨床的耐性の限界を以て無

表2 Case 2. M.N. 33 才男子, INAH-PAS 併用療法

1*)	Apr.	May	July	Sept.	Nov.
	1957	1957	1957	1957	1957
SM 10	118	96	112	193	83
100	27	99	74	132	70
1000	90	80	127	164	40
INAH					
0.1	47	56	29	69	59
1	0	0.1	0	0	3
10	0	0	0	0	0
PAS 1	47	98	87	100	91
10	0	79	0	0	70
100	0	0	0	0	0
1日排泄 総菌数	$1.7 \times 10^6$	$3.4 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$	$5.8 \times 10^7$	$3.2 \times 10^7$
被検菌数 2*)	$4.5 \times 10^8$	$8.6 \times 10^8$	$7.0 \times 10^8$	$2.9 \times 10^8$	$7.1 \times 10^8$

1\*) 表の数字は耐性菌の % を示す。0% は被検菌数の中に耐性菌が見出されなかつたことを示す。

2\*) 被検菌数は原液接種時の試験管当りの接種菌数。

効とすることは<sup>12)</sup>、決して適当ではなく、効果の低下と表現することが当つていると思われる。これらの現象は、NITTI など<sup>13)</sup>(1952年)による PAS 耐性菌の毒力低下、MIDDLEBROOK<sup>14)</sup>など(1953年)その他による INAH 耐性菌の毒力低下の報告と関連して更に追求されるべき現象であろう。

吾々がここに得た結果は、臨床的耐性の限界が INAH 0.1 mcg 耐性菌の発現にあることを考えさせる。すなわち、従来考えられている INAH 耐性の限界(杉山など<sup>15)</sup>及び小酒井など<sup>12)</sup>によれば INAH 1 mcg 耐性)より低いところにあることが注目される。

以上の結果は、より詳細な耐性検査の結果によつても裏がきされる。表2にその1例を示す。この例では INAH 0.1 mcg 耐性菌は終始存在するが、INAH 1 mcg 耐性は見出されないか、極く少数見出されたにすぎない。それにもかかわらず INAH-PAS 併用療法により症状の好転がみられていない。

INAH の血中濃度が数 mcg のものであるのに、INAH 0.1 mcg 耐性菌が相当数存在すれば積極的な臨床効果(好転)が望めないのは何故であろうか。可能性がありそうと思われるのは、INAH 拮抗物質(hemine, 焦性ブドウ酸など)が病巣内に存在していて、INAH の病巣内での作用が、せいぜい試験管内の 0.1 mcg 位かまたはそれ以下にしか相当しないことであるが、これとて積極的な根拠があることではない。向後の検討が望まれる次第である。

なお、PAS 耐性については、PAS 耐性なし3例、PAS 1 mcg 耐性8例、PAS 10 mcg 耐性7例、PAS

100 mcg 耐性 3 例であつた。これらの何れもが前述どおり臨床的に好転しなかつたわけである。PAS 1 mcg 耐性菌の存在で既に好転が望めないことは、小酒井など<sup>12)</sup>の成績と一致するが、これを無効とすることは前述の理由で慎重でありたい。PAS 耐性なしの 3 例でも好転はなかつたが、これらの何れもに、INAH 0.1 mcg 耐性または 1 mcg 耐性が存在するので、臨床効果は作用の弱い PAS によつては著明ではなかつたものと考えられる。

### 結 論

肺結核患者の喀痰中結核菌の population 構成をしらべて、INAH-PAS 併用療法の臨床効果との関係を観察した。その結果、INAH 0.1 mcg 耐性菌が相当数存在すれば、INAH 1 mcg 耐性菌が存在しなくても、臨床効果の低下が起る(積極的な好転は望めない)と考えられた。

(勝沼六郎荘長並びに日比野進教授の御校閲を謝する。また河西栄文、鬼頭義弘両氏の技術的援助に感謝の意を表する。)

### 文 献

- 1~2) 東村道雄, 河西栄文: 現在常用されている結核菌耐性検査測定 of 誤差について. I, II. *Chemotherapy*, 4: 227~231, 232~235, 1956.
- 3) 小酒井望: 喀痰内結核菌のストレプトマイシン耐性の定量的表示について. *結核*, 25: 317~320, 1950.
- 4) TOMPSETT, R.: Quantitative observations on the pattern of emergence of resistance to isoniazid. *Am. Rev. Tuberc.*, 70: 91~101, 1954.
- 5~10) 東村道雄 喀痰中結核菌薬剤耐性の定量的分析. *Chemotherapy*, 6: 171~176, 1958; *J. Antibiotics, Ser. A*, 10: 219~223, 1957; *Chemotherapy*, 6: 177~180, 1958; 5: 101~104, 1957; (一, 河西栄文) 5: 105~106, 1957; (一, 山本昌邦, 林光男, 中村栄一) 6: 65~67, 1958.
- 11) 東村道雄, 野田用, 中村栄一 小川培地斜面と渦巻白金耳接種を用いる結核菌生菌数の測定. *結核*, 32: 639~642, 1957; 33: 43~46, 1958.
- 12) 小酒井望, 三上次郎: 肺結核の SM-PAS, PAS-INAH 2 剤併用療法又は SM-PAS-INAH 3 剤併用療法における耐性発現の基準について. *最新医学*, 12 (12 号): 129~135, 1957.
- 13) NITTI, V., e TALIERCIO, E.: Sulla virulenza dei micobatteri tubercolari P. A. S. -resistenti. *Arch. di Tisiol.*, 7: 974~980, 1952.
- 14) MIDDLEBROOK, G. & COHN, M. L.: Some observations on the pathogenicity of isoniazid-resistant variants of tubercle bacilli. *Science*, 118: 297~299, 1953.
- 15) 杉山浩太郎, 他 16 名 結核菌の臨床的耐性に関する 2, 3 の問題. *日本臨床結核*, 14: 443~452, 1955.