

結核化学療法施行前の喀痰中結核菌の 耐性検査成績について

(第1報)

京都大学結核研究所化学療法部 (主任 教授 内藤 益一)

内藤 益一, 前川 暢夫, 吉田 敏郎, 津久間俊次
中西 通泰, 清水 明, 川合 満, 中井 準
池田 宣昭, 吉原 宣方, 久世 文幸, 田中 健一

国立療養所 日野 荘	時光 直 樹
大阪阿武山赤十字病院	中 村 彰
県立尼崎病院	沢 辺 修 一
和風会加茂川病院	西岡 諄, 井 本 伍 平
新三菱京都病院	氷室一郎, 小松幹夫, 由本 伸
東山高原サナトリウム	赤 木 孝, 日根野吉彦
草 津 療 養 所	伊 藤 篤
舞 鶴 聖 母 病 院	田 井 保 良
那 賀 病 院	河 崎 弘
神 田 病 院	神 田 瑞 雄
関ヶ原病院	金森正子, 大橋美与治
甲 賀 病 院	柴田朝緒, 小 沢 晃
正 井 病 院	杉 山 栄 一
相 仁 病 院	上 野 知 二
鈴 木 病 院	松 田 好 和
嵯 峨 野 病 院	志 保 田 明

(本論文の要旨は昭和35年11月4日, 第22回日本結核病学会近畿地方会に於て発表した)

緒 言

結核化学療法剤の普及により, 結核治療は著しい発展をとげたが, それにも拘らず喀痰中結核菌が化学療法で陰性化せず, 耐性菌をもつ開放性結核患者が増加して来たのは周知の如くである。この為当然, 耐性菌による感染の可能性が考えられるが, 耐性菌感染の症例に対しては, 初回化学療法であつても, その効果が著しく制約されるのではないかと推察される。その

治療に際しては, 頻回の耐性検査を行つて, その耐性の程度, 耐性菌の分布及び消長を出来るだけ正確に把握し, それに基いた慎重なる薬剤の選択が必要である事は勿論, 一方に於て各種併用化学療法の方式の優劣を比較, 論ずる場合にも当然考慮に入れねばならない事である。

事実今までに結核化学療法を未だ受けた事のない肺結核患者で, 喀痰中に耐性菌を排出する例が数多く報告¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾されているが, その動

態を継続して調査しているものは少く、年次別の推移は中原⁹⁾、千葉等⁵⁾の昭和27年～32年にわたる調査があるにすぎない。

私共はこの耐性菌感染が近年どのような頻度であるのか、年々どのような推移をとりつつあるのかを知るために、昭和32年から昭和35年前半までに入院した化学療法未施行患者の入院直後の耐性検査成績を、各年度別に集計してみた。

更に、調査症例についてツベルクリン皮内反応（以下「ツ」反応）陽転の時期を検討した結果、これら症例の中に外因性再感染例かも知れぬと思われる症例が12例認められたので併せて報告したい。

研究材料及び研究方法

京都大学結核研究所化学療法部、並びに関係諸施設に、昭和32年1月1日以降に入院した肺結核患者の中、化学療法未施行の者、及び化学療法開始後2週間以内の者で、喀痰培養検査により結核菌陽性の症例、311例を調査対象とし、入院直後に検出された結核菌のストレプトマイシン(以下 SM)、パラアミノサリチル酸塩(以下 PAS)、イソニコチン酸ヒドラジッド(以下 INH)、に対する耐性検査成績と、これら症例の「ツ」反応陽転の時期とを調査した。

耐性検査は、厚生省結核菌検査指針⁹⁾¹⁰⁾に拠り、3%または1%小川培地を用いて直接法または間接法によつて、SM、PAS 及び INH について施行されたものである。尚結核菌検査指針の改訂により、それまでは耐性検査に使用する SM 含有培地には、所定量の3

倍の硫酸 SM を加え、また培地1本当たりの接種菌量は 0.1mg とされていたものが、昭和33年以後は SM 含有培地には所定量の2倍のジヒドロストレプトマイシン（以下 DHSM）を加え、培地1本当たりの接種菌量は 10^{-8} mg～ 10^{-4} mg と変更されている事を附記しておきたい。

「ツ」反応陽転の時期については、何年何月に陽転したか、BCG 接種を受けた事があるか、陽転後陽性が続いたか、又「ツ」反応施行の最初から「ツ」陽性であつたならばその最初の施行時期はいつか、について調査した。更に肺結核発見以前に他の結核に関係ある疾患に罹患した事があるか、もしあればその時期、診断名、医療の有無及びその種類と期間を調査して参考とした。

この調査に関係のある SM、PAS、INH の市販の年としては、それぞれ昭和22年、昭和25年、昭和27年をとつた。

研 究 成 績

耐性検査の成績の中、SM、PAS、INH に対する各耐性度を年度別に示すと表1の如くであり、同一株で2剤、3剤に耐性を示すものがあるので、それを分析したのが表2である。

この成績を SM 10γ 完全耐性以上でみると、SMに耐性を示すものの頻度は昭和32年 1.6%、33年 14.1%、34年 15.4%、35年 29.4% であり、SM 10γ 不完全耐性以上では、32年 9.8%、33年 20.6%、34年 22.1%、35年 45.6% となる。PAS に耐性を示すものは、1γ 完全耐性以

表 1

		32年			33年			34年			35年		
		株数	累積株数	累積%	株数	累積株数	累積%	株数	累積株数	累積%	株数	累積株数	累積%
SM	100γ 不完<	1		1.6	8			7			18		
	10γ 完	0	1	1.6	3	11	14.1	9	16	15.4	3	21	29.4
	10γ 不完	5	6	9.8	5	16	20.6	7	23	22.1	10	31	45.6
PAS	10γ 不完<	2		3.3	7		9.0	6		5.8	7		10.3
	1γ 完	0	2	3.3	1	8	10.3	4	10	9.6	3	10	14.7
	1γ 不完	5	7	11.5	12	20	25.6	17	27	26.0	13	23	33.8
INH	5γ 不完<	0			6			1			4		
	1γ 完	0	0	0	3	9	11.5	1	2	1.9	0	4	5.9
	1γ 不完	2	2	3.3	2	11	14.2	6	8	7.7	3	7	10.3
調 査 株 数		61			78			104			68		

表 2

	32年			33年			34年			35年		
	株数	耐性株中の%	全株中の%	株数	耐性株中の%	全株中の%	株数	耐性株中の%	全株中の%	株数	耐性株中の%	全株中の%
SM	6	75.0	9.8	7	35.0	9.0	17	63.0	16.4	23	67.7	33.9
PAS	2	25.0	3.3	0			4	14.8	3.8	1	2.9	1.5
INH	0			4	20.0	5.1	0			1	2.9	1.5
1 剤 耐 性	8	100.0	13.1	11	55.0	14.1	21	77.8	20.1	25	73.5	36.9
SM-INH	0			1	5.0	1.3	0			0		
SM-PAS	0			4	20.0	5.1	4	14.8	3.8	6	17.6	8.8
INH-PAS	0			0			0			1	2.9	1.5
2 剤 耐 性	0	0	0	5	25.0	6.4	4	14.8	3.8	7	20.5	10.3
SM-PAS-INH	0	0	0	4	20.0	5.1	2	7.4	1.9	2	5.9	2.9
耐 性 株 数	8			20			27			34		
調 査 株 数	61			78			104			68		

上でとると、それぞれ 3.3%, 10.3%, 9.6%, 14.7% であり、1γ 不完全耐性以上では、それぞれ 11.5%, 25.6%, 26.0%, 33.8% である。INH については、1γ 完全耐性以上でみると、それぞれ 0%, 11.5%, 1.9%, 5.9% であり、1γ 不完全耐性以上では、それぞれ 3.3%, 14.2%, 7.7%, 10.3% である。

この年度別推移を追ってみると、SM, PAS, INH の 3 剤共、その耐性菌を発見する頻度が年々増加の傾向にあるが、その傾向は特に SM に於て著しく、PAS, INH についてはそれほど著しくない様である。之等 3 剤に共通してみられる現象は、図 1 に示す様に、33年には前年度に比して耐性菌を発見する頻度が著しく増加しているが、34年度には増加の傾向が少なく、INH ではむしろ減少しており、これが35年度には 3 剤共再び著しい増加の傾向を示している事である。

今、耐性の限界を SM 10γ 不完全耐性以上、PAS 1γ 完全耐性以上、INH 1γ 完全耐性以上として集計してみると（以下単に耐性という時はこの濃度をとる）、1 剤耐性は昭和32年 13.1%, 33年 14.1%, 34年 20.1%, 35年 36.9% で年とともに増加の傾向が著しく、2 剤耐性を示すものは、それぞれ 0%, 5.1%, 1.9%, 2.9% となっており、耐性菌の大部分が SM の 1 剤耐

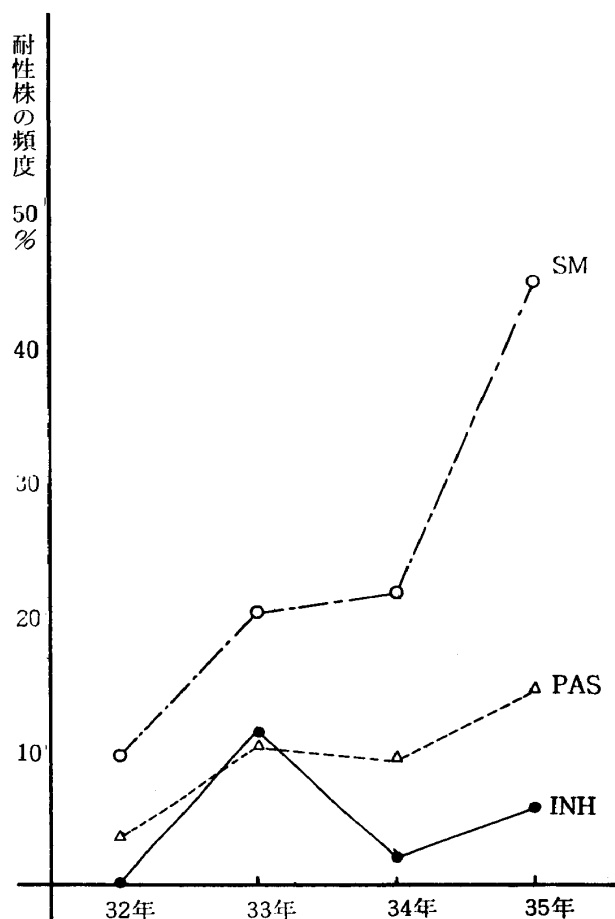


図 1

性、及びこれに次ぐ SM を中心とした 2 剤耐性の菌によつて占められている。INH 耐性菌は 33年にはその 9 例中の 1 例が 2 剤耐性、4 例が 3 剤耐性であり、34年には 2 例中 2 例とも 3 剤

耐性, 35年には4例中1例が2剤耐性, 2例が3剤耐性で, INH だけに耐性を示すものよりも, INH を含む2剤, 3剤に耐性を示すものの方がむしろ多く, 時には大部分を占めており, PASについても同様の傾向がみられる。この2剤耐性菌, 3剤性菌も, 増加の傾向を示す様に思われるが, 34年度には一時的減少がみられ, これが薬剤別にみた時に, PAS 耐性菌, INH 耐性菌の34年度に於ける一時的な増加の停滞, 乃至は減少となつて現れている。

どれか1剤にでも耐性を示す症例の頻度, 即ち耐性菌全体の頻度も昭和32年 13.1%, 33年 25.6%, 34年 26.0%, 35年 50.0%とかなり急速に増加して来ている。

次に「ツ」反応陽転時期との関係を調査した成績は表3に示したが, 陽転時期の正確に判明したものの総計105例のうち SM 10 γ 不完全, PAS 1 γ 完全, INH 1 γ 完全以上の耐性を示した者が27例あつた。その中で各化学療法剤の市販以前, つまりこれら薬剤がまだ入手出来なかつた時期に BCG 接種によらずに「ツ」反応が陽転しておつた者が12例見出されたのである。

考 按

以上の如く, 耐性菌による感染は年とともに増加しつつある様にみえるが, 耐性の限界をどこにとればよいか, という事が問題になる。厚生省の結核治療指針によれば, 以前は SM 及び INH では 10 γ , PAS では 100 γ に完全耐性が認められた場合に临床上の耐性が発現したものとされていたが, 34年8月に SM 及び PAS は 10 γ 完全耐性以上, INH は 5 γ 完全耐性以上

と改訂されている。耐性菌感染調査に於ける耐性の基準としては, 療研⁹⁾の如く SM 10 γ 完全耐性以上, PAS 1 γ 完全耐性以上, INH 1 γ 完全耐性以上をとるものもあり, その他の各研究者の基準も区々でその見解は一致していない様である。

私共は, 人型結核菌 H37Rv を耐性検査に使用する培地に接種した時の集落発育状態を考慮して, 一応 SM 10 γ 不完全耐性以上, PAS 1 γ 完全耐性以上, INH 1 γ 完全耐性以上のいずれかを示すものを耐性症例として取扱う事とした次第である。

さて以上の成績をみて, 果して実際に耐性菌感染が増加しているのであろうか, 或は耐性検査手技上の不備による誤ではなかろうかという疑問が抱かれる。

そこで耐性検査手技について検討してみると, 本研究の症例の耐性検査は, 各施設に於て別々に施行されたものであるが, いずれも3%または1%小川培地を用いて, 厚生省の結核菌検査指針⁹⁾¹⁰⁾に基づいて行われたものであるから, 各施設間に於ける手技上の差による調査成績の変動は殆ど無いものと解してよいと考えられる。昭和32年以後に於ける耐性検査手技上の大きな変化といえば, 昭和33年度に改訂された厚生省結核菌検査指針¹⁰⁾に於て, SM 含有培地に加える SM の量が, 所定量の3倍の硫酸 SM から2倍の DHSM に変更された点と, 間接接法に於て培地1本当りの接種菌量が, 0.1mg から 10⁻³~10⁻⁴mg になつた事との二つが挙げられる。

表 3

年 度	32	33	34	35	計
総 例 数	61	78	104	68	311
「ツ」反応陽転時期の明らかなもの	16	36	34	19	105
その中次の限界以上で耐性を示したもの SM 10 γ 不完 PAS 1 γ 完 INH 1 γ 完	2	10	5	10	27
その中耐性を示した薬剤の市販前*に「ツ」反応が陽転したもの	2	5	1	4	12

* 薬剤市販の年を SM は昭和22年, PAS は昭和25年, INH は昭和27年とした。

この SM 量の変更については、培地作製の際、硫酸 SM はその力価が約 $\frac{1}{2}$ に減少するのに対して、DHSM の力価は約 $\frac{1}{2}$ に減少すると報告¹¹⁾されているので、SM 添加量が硫酸 SM の3倍量から、DHSM 2倍量に変更されても培地の力価は殆ど変っていない筈である。従つて指針の改訂は昭和33年であるが、私共の調査に関係した各施設に於て、指針の改訂と同時に一斉にこれに従つて SM 量の変更されたかどうかについてはかなり疑問があるけれども、SM 添加量の変更が私共の調査対象の耐性菌出現の頻度に余り大きな影響は及ぼさなかつたと考えて差支えないと思われる。

接種菌量が減少した事によつては耐性度が低く判定される様になる可能性がある¹²⁾。つまり 10^{-1} mg 程度の接種では対照培地には「卍」即ち無数の集落が発育するので、同じく無数の発育を示す薬剤含有培地の γ 数について完全耐性と判定されるわけであるが、これが $10^{-3} \sim 10^{-4}$ mg 程度の接種であると対照培地の集落は数え得る程度 (150~200) であつて、 10^{-1} mg の接種では一見完全耐性の如く見えたものが、不完全耐性であると判定されたり、自然耐性菌によるみかけ上の耐性という現象がみられなくなる。一方薬剤との接触によつて耐性を獲得した真の耐性菌があつても、もし極く少数のときは見落す可能性も出てくる。いずれにせよ、接種菌量の減少が34年度の耐性菌検出率増加傾向の減少と関係はあつても、耐性菌を発見する頻度が、増加しつつあるという事を、耐性検査手技の改正をもつてしては説明が困難である。

千葉³⁾、中泉⁶⁾は昭和27年から昭和32年までの間に於て、耐性菌感染の頻度が時とともに増加している傾向を報告しているが、私共の成績でも同様な傾向が昭和32年から昭和35年前半までの間に於て認められたのである。

SM 耐性菌が、PAS 耐性菌、INH 耐性菌に比して各年度の頻度も高く、年を追つて増加する傾向も著しいが、SM 耐性菌が最も高い頻度で発見されるという事については、昭和32年度の療研の調査⁸⁾、及び昭和33年度の厚生省結核実態調査⁷⁾に於ても、ほぼ同様の傾向が認められ

ている。

その原因としては種々の事が考えられるが、先ず第一に耐性菌感染の感染源としての SM 耐性菌が他剤耐性菌よりも多いのではないかという事である、何故ならば、SM が最も歴史の古い抗結核剤である事、また一般に初回治療として SM を含む2者、或は3者併用 (例えば SM-PAS, SM-PAS-INH) が、SM を含まない併用方式 (例えば INH-PAS, INH-Sulfisoxazol) よりも多く用いられ、従つて何等かの理由で治療の中断された患者、或は重症で排菌の続いている患者でも、INH 未使用よりも SM 未使用という場合は少い事、いい換えれば既治療開放性結核患者が INH 耐性菌を喀痰中に排出するという場合よりも、SM 耐性菌、もしくは SM を含む2剤、3剤耐性菌を排出する場合の方が多いと考えられるからである。

次に各耐性菌の病原性について考察してみると、INH 高度耐性菌はモルモットに対する病原性が低下しているという事実が、Tuczek u. Saupe¹³⁾、Middlebrook¹⁴⁾ 以来多くの研究者によつて報告^{15)~21)}されているが、この事実が INH 耐性菌の発見される頻度の比較的少い事に関係があるのではないかという問題も当然検討されるべきであろうと考えられる。しかし INH 高度耐性菌の病原性は動物の種類によつて差違がある事が知られ、人間に対する病原性については未だ十分見解の一致をみていないので軽々しく論断する事は出来ない。

その他の原因として、SM は結核以外の疾患にも使用されるため、結核化学療法未施行の患者でも、以前に他の疾患の治療に SM の投与を受け、そのために SM 耐性菌を排出するという可能性も考えられるが、かかる場合の SM の使用量は、結核に対する使用量に比すれば微々たるものであり、どれだけ関係があるかは疑問である。むしろ INH は患者がそれと知らずに服用している場合があるのではないかと疑われるが、私共の症例では発見後短時日入院しているものが多いので、そのための誤が介入するおそれは少ないと考えている。

こうして SM 耐性菌感染が他剤耐性菌感染よ

りも多いという事は、とりも直さず SM 耐性菌感染の感染源をより多く作っている事を示し、一種の悪循環をなしているのではないかと推察される。

更に「ツ」反応陽転時期の調査により、化学療法剤のまだ入手出来なかつた時期に BCG 接種によらずに「ツ」反応が既に陽転しており、しかも結核化学療法施行前にこれら薬剤に対する耐性菌を排出した症例は化学療法剤の出現後に於て外因性再感染を受けた疑が濃厚と考えざるを得ないのである。

外因性再感染については古来多数の研究が行われ、内藤²²⁾、岡²³⁾、北²⁴⁾等が詳述しているが、最近にも昭和32年度結核病学会シンポジウムに於て、内藤、千葉、家森、北等によつて外因性再感染についての討議が行われ、その頻度は決して無視し得ないが、さほど多いものではなからうと結論された²⁵⁾。また化学療法剤に対する感受性菌と耐性菌とを用いての実験²⁶⁾、等の他、耐性菌再感染による発病と考えられる症例の臨床報告もある²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾。

ここに耐性菌再感染と思われる症例については、自然耐性菌による感染も考慮に入れねばならない⁵⁾という主張もあり、私共の発見した症例が、自然耐性菌によるものか、化学療法剤との接触によつて耐性を獲得した菌によるものかを区別する極め手はないが、SM 10 γ 耐性、或は 100 γ 耐性という自然耐性菌は極めて稀であるのに反して、私共の成績では表4の症例番号3347の如き SM 100 γ 、PAS 100 γ 、INH 10 γ 耐性という3者耐性菌や、症例番号3350、3366、3415、3509などの2者耐性菌が発見されたこと

は、これらが自然耐性菌によるものではなく、薬剤との接触によつて耐性を獲得した菌による外因性再感染例と見做してよいのではないかと考えられる。

以上の如く、私共の調査成績によると耐性菌感染は意外に多く、しかも初感染ばかりではなく、外因性再感染と考えられる症例も発見された。従つて抗結核剤未使用患者といえども SM、PAS、INH が必ずしも常に効果的に作用するとはいえないばかりか、かかる症例が増加する可能性があり、治療開始前に必ず耐性検査を実施する事が必要である。この趨勢で耐性菌感染例が増加して行くなれば、肺結核治療が再び大きな困難に直面するであろう事は明らかで、私共結核の研究、治療に携わる者にとつて実に寒心に耐えないものがある。結核菌の耐性化防止はさしせまつた一大問題であり、一層真剣に研究が進められねばならない。

私共のこの調査が一資料となつて、更に大規模な調査、研究が行われる事を切望する次第である。

結 論

1) 京都大学結核研究所化学療法部、並びに関係諸施設に昭和32年1月1日から、昭和35年前半までの間に入院した、化学療法未施行患者の入院直後の喀痰中結核菌の耐性検査成績を、各年度別に集計し、耐性菌感染について考察した。耐性の限界として SM では 10 γ 不完全耐性以上、PAS 及び INH では 1 γ 完全耐性以上をとると、耐性菌全体としての頻度は、年々かなり急速に増加する傾向がみられた。特に SM 耐

表 4

年 度	3 2 年				3 3 年				3 4 年				3 5 年			
症例数	2				5				1				4			
耐 性 度	薬剤 症例 番号	SM	PAS	INH	薬剤 症例 番号	SM	PAS	INH	薬剤 症例 番号	SM	PAS	INH	薬剤 症例 番号	SM	PAS	INH
	3211	10 γ	感	感	3347	100 γ	100 γ	10 γ	3415	100 γ	10 γ	感	3508	10 γ	感	感
	3231	10 γ	感	感	3350	10 γ	10 γ	感					3509	10 γ	10 γ	感
					3361	10 γ	感	感					3523	100 γ	1 γ	感
					3366	100 γ	1 γ	感					3554	100 γ	感	感
					3374	100 γ	感	感								

性菌による感染例の頻度が、各年度共最も多く、且つ年々の増加も著明であつた。

2) 耐性菌感染例のうちに、耐性菌による外因性再感染例かも知れぬと考えられるものが12例あつた。

文 献

- 1) W. A. Frölich: Tbk-Arzt, 7: 228, 1953.
- 2) O. F. Thomas et al.: Lancet, CCXVI: 1308, 1954.
- 3) C. E. Tarnowski: Acta Tub. Scand., 31: 345, 1955.
- 4) E. Klemm et al.: Beitr. Klin. Tub., 115: 303, 1956.
- 5) 千葉他: 東鉄保健管理所報, 3: 271, 昭和32年.
- 6) 中泉: 結核研究の進歩, 22: 94, 昭和33年.
- 7) 厚生省: 結核実態調査Ⅲ, 昭和35年.
- 8) 熊谷: 日本医事新報, No. 1900, 3, 昭和35年.
- 9) 厚生省編纂: 衛生検査指針 I, 細菌・血清学的検査指針 (Ⅲ), 1953.
- 10) 厚生省編纂: 衛生検査指針 I, 細菌・血清学的検査指針 (Ⅵ), 1958.
- 11) 中村: 京大結研紀要, 5—2: 146, 昭和32年.
- 12) 島田: 結核, 35—10: 679, 昭和35年.
- 13) Tuczek u. Saupe: M. m. W., 94: 1307, 1952.
- 14) Middlebrook and Cohn: Science, 118-3063: 297, 1953.
- 15) 平野他: 東京医事新誌, 70—7: 381, 昭和28年.
- 16) Meissner: Beitr. klin. Tub. B., 110, H-3: 219, 1954.
- 17) Meissner: Beitr. Klin. Tub. B., 110: 538, 1953.
- 18) Meissner: Diseases of Chest, 26-1: 1954.
- 19) 海老名他: 日本臨床結核, 15: 833, 昭和31年.
- 20) 福永: 東京女子医大雑誌, 25: 153, 昭和30年.
- 21) 大久保: 京大結研紀要, 8-1 増 1: 165, 昭和34年.
- 22) 内藤: 肺結核の進展と病型: 34, 昭和24年.
- 23) 岡: 日本医事新報, No. 1595, 4811, 昭和29年.
- 24) 北: 結核研究の進歩, 17: 1, 昭和32年.
- 25) 千葉, 内藤, 家森, 北: 結核, 32: 増 17, 昭和32年.
- 26) Osato et al.: Am. Rev. Tuberc., 74: 258, 1956.
- 27) L. S. Army: Diseases of Chest, 22: 313, 1952.
- 28) V. Baldamus & U. Ponick: Tbk-Arzt, 10: 534, 1956.
- 29) K. Neumaun: Beitr. Klin. Tub., 116: 295, 1956.