

結核菌のツベルクリン産生に及ぼす 抗結核剤の影響について

金沢大学結核研究所薬理製剤部（主任：伊藤亮教授）

後 藤 進

（受付：昭和36年10月7日）

緒 言

人間の結核症においては臨床経過が長期にわたつていて、しかも複雑多岐の様相を呈することは本症の特徴としてよく知られているところであるが、これは病症の消長が単に結核菌の生体内における増殖の程度によつて決定されるものではなくて、個体のツベルクリン（「ツ」）・アレルギー状態とも密接に関連していることによるものである。このように結核症の病源体一宿主間関係（Host-parasite relationship）上重要な地位を占める「ツ」・アレルギーの生起は、言うまでもなく結核菌の生体内における「ツ」産生に基因するものであつて、従つて抗結核剤が、ただ結核菌の生体内における増殖を阻止するに止まるか、はたまた更に菌の「ツ」産出をも抑制するかの問題は、抗結核剤の治療効果の面で重大な影響性をもつものと考えられる。しかるにこの問題に関しては、臨床的に抗結核剤投与患者で病症の好転に伴つて「ツ」に対する皮膚反応性が減弱することが知られてい

る程度にすぎず、結核菌の「ツ」産生と抗結核剤との影響関係を直接取扱つた基礎的研究はきわめて少ない。

当研究室では、洗浄結核菌体をクエン酸溶液に浸漬して得られる Citrate-Tuberculin (CIT)¹⁾に関する研究において、伊藤等²⁾は抗結核剤をもつての前処置が結核菌の CIT 産生に対して無影響性であることを報告している。また今城、清水等^{3,4,5)}は抗結核剤耐性結核菌の CIT 産生について精査して、Streptomycin 耐性の一菌株において CIT 産生能の低下を認めた。

著者は結核菌の「ツ」産生に対する諸種抗結核剤の影響を究明するため、Sauton 培地に発育中の結核菌に抗結核剤を添加して以後の菌増殖を阻止した場合、結核菌の培養液中への「ツ」(OT)並びに CIT 産生がいかなる影響を受けるかについて検索を行つた。ここにその実験成績を報告する。

実 験 方 法

1. 菌株. 使用した菌株は当研究室保存のヒト型結核菌“青山B”株である。

2. 培地. 「ツ」産生実験には Sauton 培地を使用した。また実験後の菌の生死を検査するには岡・片倉培地を用いた。

3. 薬剤. 供試した抗結核剤は、
Streptomycin sulfate (SM) (明治製薬)
Isonicotinic acid hydrazid (INH) (Hycosid ;

武田製薬)

Kanamycin (KA) (明治製薬)

p-Aminosalicylic acid (PAS) (Pasnal ;

第一製薬)

o-Aminophenol (OM) (当研究所製品)

の5種である。

SM, INH, KA及びPASは滅菌蒸留水で溶解・希釈して所要の濃度とし、またOMは滅菌蒸留水で

2%溶液を作り, これを100°C, 20分間滅菌したものを原液とし, この原液を適宜希釈して用いた。

4. 「ツ」産生実験.

50ml の Sauton 培地を入れたコルベン (容量100 ml) を多数準備し, 各コルベンに一斉に“青山B”を接種し, これを37°Cで培養する。培養中, 菌の発育状況に注意し, 薄い菌膜が培養液の全面を被うに至った頃を見計らって (大体2週間後) 全コルベンをふ卵器より取り出し, コルベン3個をもって1 Lot として全コルベンを所要数の Lot に組分けする。もちろん菌の発育程度にはコルベンによってかなり相違があるので, 組分けに当ってはなるべく発育状態の相似たものを選び, 更に各コルベンの菌発育状況を充分考慮しながら3個のコルベンを適当に組合わせることによって, Lot 相互間における発育菌量の不均等性を出来る限り少なくするように努めた。かくして菌培養コルベンを3個1組宛の所要数の Lot に組分け仕終ったならば, その中の2 Lot は対照実験 (Control I 及び Control II と称す) とし, 残りを本実験用とし, それぞれ次のように処置した。

(1) 対照 Lot の中, Control I は何ら処置せずそのままふ卵器に納めて培養を続ける。Control II は直ちに傾瀉によって各コルベンの菌体と培養液とを分離し, それぞれ別々に下記のごとく処置する: すなわち, 培養液は, 一緒にして Seitz filter をもってろ過した後氷室に保存する (OT)。一方各コルベン内の菌体は, 既報の Citrate-Tuberculin 調製法^{1,6)}に従って, 滅菌水にて洗浄した後 0.1M クエン酸溶液 20ml 宛を加えて 37°C に24時間ふ置す

る。ふ置後, クエン酸溶液を分取し, Seitz filter にてろ過して得られた CIT を氷室に保存する。最後に菌体を100°C, 1時間加熱した後, 集めてろ紙にて水分を吸除し, 次いで乾燥・秤量する。

(2) 残りの各 Lot に対しては次の要領にて抗結核剤を加える。抗結核剤の被検濃度の100倍濃厚溶液0.5 ml をコルベンの管壁に沿って流加する。次ぎに滅菌した駒込ピペットをもって培養液を静かに反復吸引して——この際, 液面上の菌膜が沈下しないように注意して行う——薬液と培養液とをよく混和する。薬液添加を終ったコルベンは Control I Lot と同じく更に 37°C で培養を続行する。

(3) 薬液を添加してから2~3週間後の適当な時期に (この時, 培養液面上の菌苔は沈下をおこしていない) 全 Lot をふ卵器から取り出し, 各 Lot のコルベンを前記 Control II Lot と同様に処置してそれぞれの培養ろ液 (OT) 及び CIT を調製し, 最後に菌体を殺菌・乾燥して秤量する。

5. 「ツ」皮膚反応試験.

前項において各 Lot から得られた2種類の「ツ」標品 (OT及びCIT) について, 各標品の「ツ」皮膚反応惹起力を, 強毒ヒト型結核菌“長浜”株0.2mgを接種したモルモットを用いて検査した。この際, 薬剤添加 Lot から得られた「ツ」標品及び対照 Lot の「ツ」標品の希釈液 0.1ml 宛を同一モルモットの側腹部皮内に同時に注射し, 注射後24及び48時間目における皮膚反応 (発赤・腫脹) を相互に比較検討した。なお付表の皮膚反応試験成績はすべて48時間後の判定のみを示したものである。

実験成績

I. Sauton 培地における抗結核剤の抗菌力について

本研究では Sauton 培地に接種した結核菌の発育を培養途中において抗結核剤を加えて阻止することが実験の基体となっているわけであつて, 従つて使用菌株に対する各薬剤の Sauton 培地における菌発育阻止力をあらかじめ検知しておくことが必要である。Sauton 培地を使用した場合の諸種抗結核剤の試験管内抗菌力についての精細な比較試験に関しては報告が見当たらない。そこで著者は先づ Sauton 培地における

各薬剤の結核菌発育阻止力について検索を行つて第1表に示すような成績を得た。すなわち,

- (1) 薬剤をあらかじめ加えておいた Sauton 培地に菌接種した場合の最小発育阻止濃度 (MIC) は, SM, 1:5,000,000; INH, 1:10,000,000; KA, 1:5,000,000; PAS, 1:100,000; OM, 1:1,000,000であつた。また,
- (2) Sauton 培地に菌接種を行い, 培養2週間後に薬剤を添加した場合の各薬剤のMICは, SM, 1:1,000,000; INH, 1:2,000,000; KA, 1:400,000; PAS, 1:2,000; OM, 1:20,000

であつた。

今これらの力価を、従来よく知られている10%血清加 Kirchner 培地における各薬剤のMIC (第1表参照)と比較すると、両者の間に次のような顕著な差異のあることが注目される。すなわち Kirchner 培地ではこれら5種薬剤はほぼ同等の抗菌力を示すにもかかわらず、Sauton 培地ではSM, INH 及び KA の強大な抗菌力に比べてPAS 及びOMの効力ははなはだ弱い。しかも両薬剤群の抗菌力の差異は菌接種後薬剤を添加した場合には更に高度であつて、SM, INH 及び KA では、この場合でも猶に Kirchner 培地における抗菌力に匹敵する効力が発揮されたのに対し、PASは1:2,000, OMは1:20,000の高濃度において辛じて菌発育を阻止し得たに過ぎなかつた。

抗結核剤の試験管内抗菌力価が培地によつて多少とも変動することは従来もしばしば指摘されていることであるが、上記の実験で示されたような、Sauton 培地を試験メジウムとした場合における (SM, INH, KA) 群と (PAS, OM) 群との間における顕著な抗菌力の格差は、Kirchner, Sauton 両培地の化学組成の相違からは到底推想し得ないところである。ここで興味あることは、生体内におけるこれら5種薬剤の抗菌効果が上記 Sauton 培地における抗菌試験の成績と軌を一にしていて、SM 群薬剤がPAS 群薬剤よりはるかに優れた治療効力を有するという事実である。従来抗結核性物質の *in vitro* における screening test にはもつぱら Dubos 培地または Kirchner 培地が使用されているのであるが、上記の実験成績は Sauton 培地をもつての抗菌力試験も亦有力な検査法であることを示唆するものではなからうか。

II. Streptomycin についての実験

A. SMによる発育阻止と結核菌の「ツ」

産出との影響関係についての検索。

第2表は Sauton 培地上に発育中の結核菌培養に、諸種濃度の SM を添加して菌の発育を種

々の程度に阻害した場合に、結核菌の「ツ」産生がどうなるかについて検索した実験成績を示したものである。この実験では7群の培養 Lot を用意し、そのうちの対照 Lot を除く5 Lot に対し、菌接種後21日目に SM をそれぞれ、1:10,000, 1:50,000, 1:200,000, 1:1,000,000 及び 1:5,000,000 の濃度に培養液に加えた。そして薬剤添加後更に20日間培養を継続した後、各 Lot について培養液及び菌体を分離し、おのおのから上記の方式に従つて OT 及び CIT を調製した。第2表の実験成績について、その重要事項を述べれば次のごとくである。

1) 乾燥菌量: まず各 Lot の乾燥菌量を比較するに、SM を加えなかつた対照 Lot 群では Control II Lot (培養21日目すなわち薬剤添加当日採菌した Lot), 0.38gm; Control I Lot (実験終了日に採菌した Lot), 0.81gm であり、一方SM添加 Lot 群では、(1:5,000,000) -Lot, 0.97gm; (1:1,000,000) -Lot, 0.46 gm; (1:200,000) -Lot, 0.30gm; (1:50,000) -Lot, 0.29gm; (1:10,000) -Lot, 0.27gm であつて、この結果から SM の菌発育阻止限界濃度がほぼ 1:1,000,000 であることがわかる。

2) 「ツ」皮膚反応試験:

(i) OT.—各 Lot の培養ろ液 (OT) について行つた「ツ」皮膚反応力比較試験の成績は次のごとくであつた。まず SM を加えなかつた対照 Lot 群のうち、培養日数21日の Control II Lot すなわちSM添加当日調製した培養ろ液 OT の「ツ」皮膚反応力ははなはだ弱く、その1:50希釈液が全く「ツ」反応を惹起しなかつた。これに対し、培養日数41日の Control I Lot すなわち実験終了当日調製した培養ろ液OTは、その1:200希釈液が48時間後の判定でなお 15mm×17mmの著明な「ツ」反応を呈した程の強力活性のものであつた。一方 SM 添加 Lot 群 OT では、そのうち菌発育阻止効果が全く認められなかつた。(1:5,000,000) -Lot OT が Control I Lot OT に

比肩し得るほどの「ツ」活性を示したのは当然の事であるが、その他の4 Lot では SM の添加によつて菌増殖が完全に阻止されていたにもかかわらず、OT の活性はいずれも Control II Lot OT に比べてはるかに強力であつて、その 1:100 希釈液による 48 時間後の「ツ」反応の大きさは 13mm×15mm ないし 15mm×17mm であつた。

(ii) CIT. — 一方、洗浄菌体を 0.1M クエン酸溶液で処置して得られた CIT 標品についての「ツ」活性比較試験の成績は、上記 OT 標品の場合とは大いに趣を異にしており、次のごとくであつた。被検 7 CIT 標品中、Control I Lot CIT 及び SM (1:5,000,000) - Lot CIT の 2 つが「ツ」活力最大であつて、いずれもその 1:100 希釈液でほぼ同等の強い皮膚反応 (それぞれ 13mm×16mm 及び 13mm×14mm) を示した。これに次いで Control II Lot CIT 及び SM (1:1,000,000) - Lot CIT は 1:20 希釈液においてそれぞれ 16mm×16mm 及び 18mm×19mm の反応を惹起する程度の活性を示した。他の 3 Lot の CIT はいずれも「ツ」活力微弱であつて、1:20 希釈液の注射では、SM (1:200,000) - Lot CIT が 8mm×11mm の弱い反応を呈したが、他の 2 標品はいずれも全く無効であつた。

第 3 表も第 2 表と同様の実験成績を示したものであるが、この実験では SM の被検濃度は 1:500,000, 1:1,000,000, 1:2,000,000 及び 1:5,000,000 であり、また菌接種から実験終了までの全培養日数は 42 日で、薬剤添加は菌接種後 21 日目に行つた。各 Lot からの菌収量を比較すれば、この実験でも SM の阻止限界濃度が 1:1,000,000 であることがわかる。またこの実験では OT 標品の皮膚反応力に関して、1:10 希釈液から 1:1,000 希釈液までの各種希釈液について詳しく比較試験を行つた。実験の結果は、第 2 表と大体同様の成績であつたことは、表の数値から容易に知られる。今ここで、対照 Lot 群 OT 及び SM (1:1,000,000) - Lot OT の 3 者

について、それぞれの「ツ」活力を、この表の皮膚反応価から相互に比較検討すると、3 OT 標品の力価比がおおよそ、

$$\text{Control I} : \text{Control II} : \text{SM (1:1,000,000)} \\ = 1 : \frac{1}{10} : \frac{1}{2}$$

であることが推量される。また CIT についても前表実験同様、その「ツ」力価は菌量に比例して、Control I -, SM (1:5,000,000) - 及び SM (1:2,000,000) - Lot CIT が「ツ」活性ほぼ相等しくて最も強く、その 1:100 希釈液はいずれも強力な「ツ」反応を呈したのに対し菌量の僅少な Control II -, SM (1:500,000) - 及び SM (1:1,000,000) - Lot の CIT は「ツ」活性弱く、その 1:20 希釈液が全く無効かまたは弱反応を呈したという成績であつた。

著者は更に SM 添加の時期をいろいろに変えて同様の実験を反復行つたのであるが、その際薬剤添加の時期が、菌接種後余りに早期に行われた実験では、Control II Lot 及び SM 有効 Lot における菌発育量がきわめて僅少であつて、このような Lot から得られた OT の「ツ」活性はいずれもはなはだ微弱であつた。また薬剤添加が遅きに失した場合には、既に培養液に相当量の「ツ」が産生されているため、対照 Lot 群 OT と薬剤添加 Lot 群 OT との間に「ツ」活性に大した差がないという成績であつて、いずれの場合でも上記実験のような截然とした結果は得られなかつた。すなわち、この実験では薬剤添加の時期の選定が研究の成果を左右する重要な条件であることを知つた。

以上の実験結果によつて、Sauton 培地上に発育した結核菌が、菌接種後の適当な時期に添加された SM によつて、その後の増殖を完全に停止せしめられた状態にあつてもなおよく、培養液中へ「ツ」を産出する性能を頑強に保持していることが実証されたのである。さて、SM の添加によつて発育を完全に抑制された結核菌がいかんにして菌体外へ大量の「ツ」を産出するのであろうか？

1 つの可能性は、SM 加 Lot 培養液中に現わ

れた「ツ」が、薬剤添加時に結核菌の菌体内に蓄積包蔵されていた「ツ」活性物質が、菌体の自解作用の結果、放出されたものであると解することである。この場合問題となるのは、SM添加時における結核菌体の「ツ」活性物質の保有量であるが、これについては全く知る術がない。しかし、この問題に対する有力な参考資料として菌体のクエン酸処置によつて得られるCITの「ツ」活力に関する実験成績が注目される。すなわち、第2及び3表において認めたように菌発育阻止限界濃度にSMを加えたLotから得られたCITが、Control II LotのCITと同等の「ツ」皮膚反応力を示したのであるが、これはSMによつて発育を阻止された結核菌が実験終了時になお、SM添加時におけるとほぼ同じ程度にその菌体内にクエン酸抽出性「ツ」活性物質を保有していたことを示すものである。もちろん結核菌のクエン酸抽出性「ツ」活性物質が結核菌体の「ツ」活性物質のすべてであるとは断じ難いが、前記両LotのCITの「ツ」活性にほとんど差異が認められなかつたとの事実は、SM阻止結核菌の「ツ」(OT)産生が、もつぱら菌体の自解による既製「ツ」活性物質の放出に基因するとの見解と相容れないものがある。

第2の可能性として、結核菌の増殖がSMによつて阻止されようとも、その「ツ」産生機能は失活しない場合を想定することができる。著者は上記の実験において、Control I Lot及びSM (1:1,000,000) -Lotの結核菌体を実験終了後よく洗浄して岡・片倉培地に塗抹培養したところ、SM加Lot菌から、対照Lot菌と同じ程度に菌集落の発生を認めたのであつて、この事から Sauton 培地では、SM (少なくとも発育阻止限界量程度の)によつて増殖を阻止された結核菌は死菌状のものではなくて、いわゆる静菌状態にあることを知つた。従つて、かかる静菌状態では、結核菌はなお「ツ」を生成・産出する生活機能を温存していることも予想される。この予想の当否を検討する目的をもつて次の実験を行つた。

B. Streptomycin 抑制結核菌の「ツ」産出

に対する Chloramphenicol 及び 8-Azaguanine の影響。

周知のように「ツ」活性因子は化学的に蛋白性物質であるとされている。上述のように、若しSM抑制結核菌の「ツ」産出が、靱菌状結核菌の生活々性によるものとすれば、結核菌にはSMの影響を受けない特殊な「ツ」活性蛋白質合成機能の存在が推考される。そこで、細菌細胞の蛋白質合成を直接的或は間接的に阻害する性能をもつものとして知られている Chloramphenicol 及び 8-Azaguanine について、SM抑制結核菌の「ツ」産生に対するこれら蛋白質合成阻害剤の影響を検索した。

第4表は結核菌接種後21日目に、SM (1:1,000,000)のみ添加、及びSM (1:1,000,000)にChloramphenicol または8-Azaguanineを、それぞれ単独では結核菌発育に無影響の濃度(いずれも1:100,000)に混合添加した後、更に20日間培養したのものについて「ツ」産出量を比較した実験成績である。「ツ」皮膚反応試験の成績から、薬剤を添加した3種のLotのOTがほとんど同等の「ツ」活性を有していたことがわかる。しかもこれら3Lotの「ツ」活性は、薬剤を加えなかつたControl I Lot OTに比べてやゝ劣つていたが、薬剤添加時の培養液(Control II Lot OT)の「ツ」活性に比して猶ほ10倍の強さを示した。一方、乾燥菌量から明らかなように、これら3薬剤加Lotでは、薬剤添加後菌の増殖はなかつた。またCITの「ツ」活性の比較では、薬剤加Lot CITはいずれも皆Control II Lot CITと同程度の「ツ」活性を呈したのであつて、薬剤加Lotの結核菌が培養終了後においても、菌量に相応した充分な量の「ツ」活性物質を包蔵していたことは明らかである。

以上の実験結果によつて、SM抑制結核菌の「ツ」産出がChloramphenicolや8-Azaguanineによつて何ら認むべき阻止的影響を受けないことが実証されたのである。

III. その他の抗結核剤についての実験。

INH, KA, PAS及びOMの4種の薬剤について、前項SMと同様の実験方式で、各薬剤

の菌発育阻止効果と結核菌の「ツ」産出との影響関係について、SMを対照として比較研究した。

第5表はSM, INH及びPASをもつての第6表はSM, KA及びOMをもつての、また第7表はSM, INH及びKAをもつての比較実験の成績を示したものである。これら3表の実験成績を総括して、主要事項を摘記すれば次のごとくである。

- (1) INH及びKAはSauton培地発育中の結核菌に対し、SMと同等もしくはこれに優る発育抑制効力を示し、しかもINHあるいは

KAの添加によつて結核菌の増殖が完全に中絶されても、培養液における「ツ」産出はSMの場合と同じく少しも抑制的影響を受けなかつた。

- (2) PAS及びOMのSauton培地発育結核菌に対する抗菌作用は、他の薬剤に比べて著しく弱い、がしかしこの場合でも、PASあるいはOMの添加は培養液の「ツ」産出に対して少しも阻止的効果を呈しなかつた。要するに、これら4種の抗結核剤もまた、結核菌の「ツ」産出能に対し何ら抑制的影響を与えない、という成績が得られたのである。

考 察

上記の実験結果は、結核菌は、たとえ抗結核剤によつてその増殖を抑制された状態にあつても、なお「ツ」活性物質を産生する性能を保持していることを示すものである。

結核菌の培養液中への「ツ」産出は、培養の陳旧化に伴つておこる菌体の崩壊によるものと一般に信じられているが、結核菌の培養基における発育がきわめて遅いという実験上の障害もあつて、その真相はなお不明と言つてよい。本研究で実証された薬剤阻 止系を直にみる「ツ」産出現象は、結核菌の「ツ」産出がその増殖機能とは独立したものであることを明示するものであるが、既にSM実験の項でも論述したように、Citrate-Tuberculin についての「ツ」反応の成績にかんがみても、薬剤阻止結核菌の「ツ」産出がもつばら菌体の自解によるものと解するのはいささか困難である。しかし、ここで留意せねばならないことは、本研究では

抗菌物質作用下における結核菌の「ツ」産出を対象としていることであつて、このような条件のもとでは、「ツ」産出が正常発育菌の場合と異なつた過程によつて営まれることも慮外視することはできない。しかし抗結核剤の作用機序に関してなお明確な解明が得られていない現状では、到底この問題の解決は期待できない。最近 Anand 等がE. Coliを用いて行つた実験の成績から、SMがPenicillinと同様に細菌の細胞壁 (cell wall) 形成を障害する作用のあることを報告しているのであるが、若しSMが結核菌に対しても同様に細胞壁形成を障害するものとすれば、かかる結核菌では細胞壁透過性の異常によつて菌体内において合成された「ツ」活性物質の漏出することも可能であつて、氏等の研究成果には薬剤阻止結核菌の「ツ」産出の面から考えてはなほだ興味深いものがある。

結 論

抗結核剤 (Streptomycin, Isonicotinic acid hydrazid, Kanamycin, p-Aminosalicylic acid, o-Aminophenol) の菌発育阻止効果が、Sauton培地発育の結核菌(ヒト型“青山B”株)のツベルクリン産生にいかなる影響を及ぼすかについて検索を行つて、次の結果を得た。

1. Sauton培地発育の結核菌に対する抗結核剤の抗菌力はKirchner培地の場合と異なりStreptomycin, Isonicotinic acid hydrazid及びKanamycinでは強力であつたが、p-Aminosalicylic acid及びo-Aminophenolではきわめて微力であつた。

2. 菌接種後，適当な時期に抗結核剤を添加して結核菌の増殖を中絶しても，そのツベルクリン産生は，どの薬剤の場合でも，抑制されることがなかつた。
3. Streptomycin 阻止結核菌のツベルクリン産出は，Chloramphenicol または 3-Azaguanine によつて何ら影響を受けなかつた。

文 献

1. Ito, R. : Amer. Rev. Tuberc., 67, 526, 1953.
 2. Ito, R. et al. : Jap. J. Tuberc., 1, 1, 1953.
 3. Imaki, A. : Ibid., 3, 1, 1955.
 4. Imaki, A. et al. : Ibid., 3, 80, 1955.
 5. Shimizu, S. : Ibid., 5, 35, 1957.
 6. 今城昭雄, 他 : 金大結研年報, 13 (中), 79, 1955.
 7. Anand, A. et al. : Nature, 185, 22, 1960.

Table 1

Minimum growth-inhibiting concentrations against
tubercle bacillus of various antituberculous
agents in Sauton's medium

Medium		Strepto- mycin	Isoniazid	Kanamycin	p-Amino- salicylate	o-Amino- phenol
Sauton's medium	Agents were added before inoculation	1 : 5,000,000	1 : 10,000,000	1 : 5,000,000	1 : 100,000	1 : 1,000,000
	Agents were added two weeks after inoculation	1 : 1,000,000	1 : 2,000,000	1 : 400,000	1 : 2,000	1 : 20,000
Kirchner's medium containing 10% serum		1 : 1,000,000	1 : 2,000,000	1 : 500,000	1 : 2,000,000	1 : 1,000,000

Table 2

Tuberculin production of tubercle bacilli inhibited by
various concentrations of streptomycin

Inoculation; Nov. 11, 1960.

Addition of streptomycin; Dec. 1.

Harvesting of cultures; Dec. 20.

Lot		Concentrations of streptomycin					Control (without agent)		
		1:10,000	1,50:000	1:200,000	1:1,000,000	1:5,000,000	I	II*	
Dry weight of bacilli (gm)		0.27	0.29	0.30	0.46	0.97	0.81	0.38	
Skin reaction (mm)	OT	1: 50	—	—	—	—	—	0	
		1: 100	13×15	13×15	15×17	14×16	18×18	—	
		1: 200	—	—	—	—	—	15×17	
		1: 500	0	0	0	0	0	—	
		1: 1,000	—	—	—	—	—	0	
	CIT	1: 20	0	0	8×11	18×19	—	—	16×16
		1: 100	—	—	—	—	13×14	13×16	—

* Control II lot was harvested on Dec. 1.

Table 3

Tuberculin production of streptomycin-inhibited tubercle bacilli

Inoculation; Oct. 10, 1961.

Addition of streptomycin; Oct. 31.

Harvesting of cultures; Nov. 21.

Lot		Concentrations of streptomycin				Control		
		1: 500,000	1: 1,000,000	1: 2,000,000	1: 5,000,000	I	II	
Dry weight of bacilli (gm)		0.25	0.26	0.63	0.91	0.99	0.21	
Skin reaction (mm)	OT	1: 10	—	—	—	—	—	22×24
		1: 100	20×22	22×24	—	—	—	—
		1: 200	17×20	17×18	18×19	24×24	24×25	—
		1: 500	—	—	—	—	20×20	—
		1: 10	—	—	—	—	—	17×18
		1: 20	—	—	—	—	—	15×15
		1: 50	—	—	—	—	—	12×13
		1: 100	15×16	15×16	—	—	—	—
	CIT	1: 20	0	9×10	21×22	18×20	18×22	11×12
		1: 100	0	0	13×18	14×16	12×17	0
		1: 200	17×20	17×18	18×19	24×24	24×25	—
		1: 500	—	—	—	—	20×20	—
		1: 1,000	—	—	—	—	9×13	—
		1: 1,000	—	—	—	—	—	—

Table 4

Influence of chloramphenicol and 8-azaguanine on the tuberculin production of streptomycin-inhibited tubercle bacilli

Inoculation; Nov. 11, 1961.

Addition of agents; Dec. 1.

Harvesting of cultures; Dec. 20.

Lot		Agents (concentration)			Control		
		streptomycin (1:1,000,000)	streptomycin (1:1,000,000) + chloramphenicol (1:100,000)	streptomycin (1:1,000,000) + 8-azaguanine (1:100,000)	I	II	
Dry weight of bacilli (gm)		0.46	0.40	0.48	0.81	0.38	
Skin reaction (mm)	OT	1: 50	—	—	—	7 × 8	
		1: 100	14 × 16	18 × 18	14 × 15	—	
		1: 200	—	—	—	15 × 18	0
		1: 500	8 × 8	10 × 11	7 × 8	—	—
		1: 1,000	—	—	—	6 × 6	—
	CIT	1: 20	18 × 19	8 × 10	15 × 16	—	13 × 15
		1: 100	—	—	—	13 × 16	—

Table 5

Comparative experiments on the influence of streptomycin, isoniazid and p-aminosalicylate on the tuberculin production of growing cultures of tubercle bacilli

Inoculation; Feb. 24, 1961.

Addition of agents; Mar. 14.

Harvesting of cultures; Mar. 29.

Lot		Streptomycin		Isoniazid		p-Aminosalicylate		Control	
		1: 200,000	1:1, 000,000	1: 500,000	1:2, 000,000	1: 2,000	1: 10,000	I	II
Dry weight of bacilli (gm)		0.39	0.32	0.27	0.24	0.52	0.70	1.04	0.44
Skin reaction (mm)	OT	1: 50	—	—	—	—	—	—	15 × 15
		1: 500	16 × 17	14 × 15	15 × 16	17 × 17	17 × 20	16 × 17	17 × 20
	CIT	1: 50	7 × 7	6 × 7	10 × 10	9 × 11	11 × 13	16 × 19	13 × 14

Table 6

Comparative experiments on the influence of streptomycin, kanamycin and o-aminophenol on the tuberculin production of growing cultures of tubercle bacilli

Inoculation; Mar. 15, 1961.

Addition of agents; Apr. 4.

Harvesting of cultures; Apr. 18.

Lot		O-Aminophenol		Kanamycin		Streptomycin		Control	
		1: 10,000	1: 50,000	1: 200,000	1: 1,000,000	1: 200,000	1: 1,000,000	I	II
Dry weight of bacilli (gm)		0.50	0.79	0.53	0.86	0.49	0.62	0.85	0.62
Skin reaction (mm) with OT	1: 500	10×14	13×15	—	—	12×15	13×18	13×18	0
	1: 1,000	10×12	12×14	—	—	11×12	9×11	14×17	0
	1: 500	—	—	8×10	9×10	6×7	10×11	10×13	0
	1: 1,000	—	—	0	0	0	0	10×13	—
	1: 100	—	—	—	—	—	—	—	14×15
	1: 200	—	—	—	—	—	—	—	11×13
	1: 500	12×13	9×11	12×14	12×14	11×13	12×14	14×14	8×10
	1: 1,000	—	—	—	—	—	—	10×10	—
1: 2,000	—	—	—	—	—	—	9×9	—	

Table 7

Comparison of the tuberculin production of tubercle bacilli inhibited by streptomycin, isoniazid and kanamycin

Incubation; Apr. 7, 1961.

Addition of agents; Apr. 26.

Harvesting of cultures; May 12.

Lot		Agents (concentration)			Control		
		Streptomycin (1: 1,000,000)	Isoniazid (1: 2,000,000)	Kanamycin (1: 500,000)	I	II	
Dry weight of bacilli (gm)		0.56	0.34	0.55	0.84	0.45	
Skin reaction (mm)	OT	1: 100	—	—	—	15×19	
		1: 200	—	—	—	14×16	
		1: 500	19×23	20×23	20×22	—	—
		1: 1,000	10×14	15×18	15×17	15×18	—
		1: 2,000	—	—	—	15×16	—
	CIT	1: 100	18×20	17×18	22×24	17×18	18×20
		1: 200	—	—	—	16×17	—