

## Rifampicin 耐性に関する臨床的研究

桜井 宏・井上 幾之進・山上 清

大阪府立羽曳野病院

受付 昭和 47 年 8 月 15 日

CLINICAL STUDIES ON THE BACTERIAL RESISTANCE  
TO RIFAMPICIN\*

Hiroshi SAKURAI, Ikunoshin INOUE and Kiyoshi YAMAGAMI

(Received for publication August 15, 1972)

1. The investigation on the distribution of Rifampicin (RFP) resistant tubercle bacilli isolated from patients previously untreated with RFP.

Out of 120 strains tested on Kirchner's semi-solid media, resistance to 0.5 mcg/ml RFP was seen in 4 percent and 96 percent of strains was inhibited their growth on 0.5 mcg/ml RFP. The grade of resistant to RFP of 136 strains tested on Ogawa's media was as follows; 92.6 percent were sensitive, 5.2 percent incompletely resistant and 1.5 percent completely resistant to 10 mcg/ml RFP. Only 1 strain (0.7%) was resistant to 25 mcg/ml RFP.

The susceptibility to RFP of 66 strains of atypical mycobacteria was tested on Ogawa's media, and 16 strains were sensitive to 10 mcg/ml RFP and 44 strains showed resistance to more than 50 mcg/ml RFP.

2. The emergence of bacterial resistance to RFP in clinical observation.

The resistance to RFP elevated to higher degree rapidly. Among cases considered to be RFP monotherapy because of the resistance to the other combined drugs, the rate of emergence of resistance (more than 10 mcg/ml RFP in Kirchner's semi-solid media) by month was as follows; 2 nd month 54.5 percent; 4 th month 77.7 percent; 6 th month 100 percent. Among cases given RFP together with PZA or other sensitive drugs, appearance of RFP resistance was as follows; 2 nd month 31.5 percent; 4 th month 68.9 percent; 6 th month 80.7 percent.

In these resistant cases there were no clinical effects of RFP, and in all patients showing bacterial relapse during and after RFP treatment the appearance of resistance more than 10 mcg/ml RFP on Kirchner's semi-solid media and more than 50 mcg/ml RFP on Ogawa's media were observed.

As a controlled trial of RFP and PZA combined therapy, RFP was administered in the following way; RFP 450 mg daily, RFP 450 mg twice weekly and 900 mg twice weekly. No significant difference was seen among three regimens in the time and rate of emergence of RFP resistance.

Rifampicin (RFP) はすぐれた抗結核剤として広く使用されているが、結核菌の本剤に対する耐性は試験管内でも臨床例においてもきわめて容易にかつ高率に出現す

るといわれている。われわれは RFP 未使用例より分離した結核菌の RFP 耐性度、RFP 治療による耐性菌の出現状況を検討したので報告する。

\* From the Osaka Prefectural Habikino Hospital, 3-7, Habikino, Habikino City, Osaka 583 Japan.

## 実験方法

### 1. RFP 未使用例における RFP 耐性度

RFP 未使用の肺結核患者より分離した結核菌 120 株について Kirchner 半流動培地で、136 株について 1% 小川培地で RFP に対する耐性度を検討した。培地中の RFP の濃度は、Kirchner 半流動培地では、0.5, 1, 5, 10 mcg/ml, 1% 小川培地では、10, 25, 50 mcg/ml とし、RFP は 10 mg を 2 ml のメタノールで溶解後滅菌蒸留水で希釈し各培地に所定量を加えた。

また、非定型抗酸菌の保存株 33 株および患者より分離した 33 株についても両培地を用いて RFP 耐性度を検討した。

検査法はすべて結核菌検査指針に準じた。

### 2. Kirchner 半流動培地と 1% 小川培地における RFP 耐性度の比較

RFP 未使用例および使用例より分離した結核菌 119 株について、Kirchner 半流動培地と 1% 小川培地を用いて同時に RFP 耐性を測定し両培地における耐性度を比較した。

### 3. RFP 治療例における RFP 耐性結核菌の出現状況

当院入院中の有空洞、結核菌陽性の肺結核患者に RFP 治療を 6 カ月間行い RFP 耐性菌出現状況を検討した。症例はほとんどが硬化壁空洞を有する C, F 型で、一次薬および二次薬の数剤に耐性を有する難治性のものであった。治療は全例に RFP と他の抗結核剤との併用が実施されたが、RFP と他の未使用剤あるいは感受性剤との併用例では、RFP・PZA 併用が多く、RFP・EB 併用がこれに次ぎ、一部に KM, VM, CPM 等との併用が行われた。併用薬剤に感受性剤のなかつたものは RFP 単独治療例とみなした。治療 2 カ月以上 6 カ月まで RFP 耐性を追跡しえた症例は、単独治療 12 例、併用治療

58 例であり、併用治療のうちの 45 例は RFP・PZA 併用例であつた。治療前および治療中は月 2 回喀痰検査を行い、培養陽性全例について、RFP 0.5, 1, 5, 10 mcg/ml 加 Kirchner 半流動培地を用いて耐性検査を実施した。

RFP・PZA 併用例では、RFP 450 mg 毎日・PZA, RFP 450 mg 週 2 日・PZA, RFP 900 mg 週 2 日・PZA の 3 群に分けて治療が行われたので、RFP 投与法の耐性出現に及ぼす影響についてもあわせて比較検討した。

また治療 5~6 カ月後に出現した耐性菌については耐性上昇の程度を知るため、RFP 10, 25, 50, 100, 250 mcg/ml 加 Kirchner 半流動培地、50, 100, 250 mcg/ml 加 1% 小川培地を用いて RFP の高度耐性を再検討した。

## 実験成績

### 1. RFP 未使用例における RFP 耐性度

未使用例より分離した結核菌の RFP 耐性度は、Kirchner 半流動培地では、120 株中 115 株 (95.8%) が 0.5 mcg/ml に感受性であり 5 株 (4.2%) が 0.5 mcg/ml 耐性であつたが、1 mcg/ml 以上の耐性菌は全く認められなかつた。

1% 小川培地では表 1 に示すごとく、136 株のうちの 126 株 (92.6%) は 10 mcg/ml 感受性であり、10 mcg/ml 不完全耐性 7 株 (5.2%)、完全耐性 2 株 (1.5%)、25 mcg/ml 耐性 1 株が認められた。

非定型抗酸菌の RFP 耐性は表 2 のごとく、Kirchner 半流動培地では、33 株のうち 8 株は 0.5 mcg/ml 感受性であつたが 22 株は 5 mcg/ml 以上の耐性を示し、小川培地では、66 株のうち 16 株は 10 mcg/ml 感受性であつたが残りの大部分の菌株は 50 mcg/ml 以上の高度耐性を示した。各菌群別にみると Photo. 群に RFP 感受性の菌株が多くみられた。

Table 1. Distribution of RFP Resistant Strains of Tubercle Bacilli Isolated from Patients Untreated with RFP

Degree of resistance (mcg/ml)	Sensitive to 10	Incompletely resist. to 10	Completely resist. to 10	Completely resist. to 25	Total
Number of strains (%)	126 (92.6)	7 (5.2)	2 (1.5)	1 (0.7)	136 (100)

Tested on 1% Ogawa's media containing 10, 25 and 50 mcg/ml of RFP.

Table 2. Distribution of RFP Resistant Strains of Atypical Mycobacteria

Media	Kirchner's semi-solid media					Ogawa's media				
	0.5 sensit.	0.5 resist.	1.0 resist.	5.0 resist.	Total	10 sensit.	10 resist.	25 resist.	50 resist.	Total
Photochromogen	4	0	1	3	8	4	1	0	4	9
Scotochromogen	1	0	1	7	9	2	1	0	7	10
Nonphotochromogen	2	0	0	7	9	7	1	2	27	37
Rapid grower	1	0	1	5	7	3	0	1	6	10
Number of strains	8	0	3	22	33	16	3	3	44	66

Table 3. Comparison of Degree of Resistance to RFP on Kirchner's Semi-solid Media and Ogawa's Media

Resist. on Kirchner's media (mcg/ml)	Resistance on Ogawa's media			10		25		50		Number of strains
	S	r	R	r	R	r	R			
0	30	6	2	1	0	0	0	0	39	
0.5	2	2	1	1	0	0	0	0	6	
1	1	2	0	4	1	2	1	1	11	
10	0	0	0	1	3	1	58	63	63	

S: Sensitive r: Incompletely resistant  
R: Completely resistant

2. Kirchner 半流動培地と 1% 小川培地における RFP 耐性度の比較

両培地における結核菌の RFP 耐性度を比較した成績は表3のごとく、Kirchner 半流動培地で 0.5 mcg/ml 以下の耐性を示した 45 株のうち 43 株は小川培地で 10 mcg/ml またはそれ以下の耐性度であり、Kirchner 半流動培地で 1 mcg/ml 耐性菌は小川培地では 10 mcg/ml 以下から 50 mcg/ml までに分布し、Kirchner 半流動培地で 10 mcg/ml 耐性 63 株はすべて小川培地で 25 mcg/ml 以上の耐性であり、そのうちの 59 株は 50 mcg/ml 以上の耐性を示した。

3. RFP 治療例における RFP 耐性結核菌の出現状況  
RFP 治療による RFP 耐性菌の出現は、早期かつ高率であり、耐性の上昇はきわめて急激であつて、耐性を生じた例では Kirchner 半流動培地 1, 5 mcg/ml 耐性はほとんどみられず一挙に 10 mcg/ml 以上の耐性を示した。

同培地 10 mcg/ml を臨床耐性の限界とし、治療 2, 4, 6 カ月後の菌陽性例に対する耐性出現率をみると表4のごとく、RFP 準単独治療例では、2カ月 54.5%、4カ月 77.7%、6カ月では全例に耐性が認められた。併用治療例では、2カ月 31.5%、4カ月 68.9%、6カ月では 80.7% に達した。併用治療のうちの RFP・PZA 併用例

Table 4. Relationship between Emergence of Resistance and Duration of Treatment with RFP

Regimen	Number of cases	Duration of treatment (Months)		
		2	4	6
RFP and drugs to which the bacilli were resistant	Tested cases	11	9	10
	Resistant cases (%)	6 (54.5)	7 (77.7)	10 (100)
RFP and PZA or other drugs to which the bacilli were sensitive	Tested cases	57	58	57
	Resistant cases (%)	18 (31.5)	40 (68.9)	46 (80.7)

The cases with resistance to 10 mcg/ml of RFP on Kirchner's semi-solid media are regarded as resistant cases.

における RFP 投与法別にみた RFP 耐性出現率は表5のごとく、RFP 450 mg 毎日、450 mg 週 2 日、900 mg 週 2 日の各投与群の間に差異はみられなかつた。

全症例において 10 mcg/ml 耐性出現例ではその後の菌陰性化はみられなかつた。また RFP 治療中または治療終了後に菌再陽転した 23 例における再陽転時の RFP 耐性は表6に示すごとく、18 例に 10 mcg/ml の耐性がみられ、感受性を示した 3 例中の 2 例は RFP 治療により再び菌陰性化がみられた。

RFP 治療 5~6 カ月後に得られた耐性菌 23 株についてさらに RFP 高度耐性を検討した結果、Kirchner 半流動培地では、10 mcg/ml 耐性 1 株、25 mcg/ml 耐性 4 株、50 mcg/ml 耐性 7 株、100 mcg/ml 耐性 11 株であり、小川培地では、50 mcg/ml 耐性 1 株、100 mcg/ml 以上の耐性 22 株であつた。RFP 250 mcg/ml 加培地では、溶剤として用いたメタノールの影響のため両培地とも結核菌の増殖は著しく抑制され RFP 耐性の判定は困難であつた。

Table 5. Relationship between Emergence of RFP Resistance and Duration of Treatment in Patients Treated with RFP 450 mg Daily, RFP 450 mg Twice Weekly and RFP 900 mg Twice Weekly with PZA

Regimen	RFP 450 mg daily+PZA			RFP 450 mg twice weekly+PZA			RFP 900 mg twice weekly+PZA			
	2	4	6	2	4	6	2	4	6	
Duration of treatment (Months)										
Tested cases	13	13	14	20	20	21	12	16	15	
Degree of RFP resist. (mcg/ml)	0	7	1	1	14	7	4	5	1	2
	0.5	0	2	0	0	1	0	3	2	1
	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
	5	0	0	1	0	1	0	0	1	0
	10	5	9	11	5	10	15	4	12	12
(%)*	(38.4)	(69.2)	(78.5)	(25.0)	(50.0)	(75.0)	(33.0)	(75.0)	(80.0)	

\* The rate of RFP 10 mcg/ml resistant cases to the total number of tested cases.

Table 6. Emergence of Resistance to RFP in Patients with Bacteriological Relapse during and After Treatment with RFP

Case No.	Duration of treatment (Months)							After treatment
	Before	1	2	3	4	5	6	
1	S	S	—	—	—	S	—	1 month S 3 months S  3 months r  2 months R 2 months R 2 months R 2 months R 4 months R 6 months R
2	S	S	—	—	—	S	S	
3	S	S	—	—	—	S	—	
4	S	S	—	—	—	—	—	
5	S	S	S	S	—	—	—	
6	S	S	—	—	—	—	r	
7	S	S	—	—	—	r	R	
8	S	—	—	—	—	—	—	
9	S	—	—	R	R	R	R	
10	S	—	—	—	R	R	R	
11	S	—	—	—	R	R	R	
12	S	S	—	—	R	R	R	
13	S	—	—	—	—	R	R	
14	S	—	—	—	—	R	R	
15	S	S	S	—	—	—	R	
16	S	—	—	—	—	—	R	
17	S	—	—	—	—	—	R	
18	S	S	—	—	—	—	—	
19	S	S	—	—	—	—	—	
20	S	—	—	—	—	—	—	
21	S	—	—	—	—	—	—	
22	S	—	—	—	—	—	—	
23	S	—	—	—	—	—	—	

Resistance tested on Kirchner's semi-solid media.  
 — : culture negative  
 S : sensitive to 1 mcg/ml of RFP  
 r : resistant to 1 or 5 mcg/ml of RFP  
 R : resistant to 10 mcg/ml of RFP

総括および考案

RFP の結核菌に対する抗菌力についてはすでに多くの報告があるが、さきにわれわれ<sup>1)</sup>の行つた実験では、人型結核菌に対する最小発育阻止濃度は、Dubos 液体培地では 0.05~0.1 mcg/ml, Kirchner 半流動培地では 0.1~0.5 mcg/ml, 1% 小川培地では 5~25 mcg/ml であつた。今回は臨床耐性の限界を決定する一つの参考として、RFP 未使用患者より分離した結核菌について日常行われている耐性検査法により RFP 耐性度の分布を検討した。

RFP 未使用例の耐性については、遠藤ら<sup>2)</sup>は Kirchner 寒天培地を用いて 151 株について検討し、1 mcg/ml 以上の耐性菌は認められなかつたと述べているが、Kirchner 半流動培地で行つたわれわれの成績でも、120 株のほとんどが 0.5 mcg/ml で増殖が阻止され 1 mcg/ml 以上の耐性菌は全くみられなかつた。

小川培地における耐性度および臨床耐性の限界については、馬場ら<sup>3)</sup>は未使用例よりの分離結核菌は対照に  $10^3 \sim 10^5$  の集落数の場合 RFP 10 mcg/ml 加培地では全例増殖阻止がみられ、また RFP の自然耐性菌の分布状態よりみて、10 mcg/ml が臨床耐性の限界に一致すると述べ、岡ら<sup>4)</sup>は直接法による検査で 21 例のうち 10 mcg/ml 培地に増殖したものの 15 例、25~50 mcg/ml 培地に増殖したものの 2 例を認め、25 mcg/ml 以上を臨床耐性と考えてよいと述べている。療研<sup>5)</sup>の成績では、 $10^{-3}$  mg の菌接種、4 週判定では 110 株のうち 25 mcg/ml 耐性菌は 1 株、10 mcg/ml 完全耐性はみられなかつたが不完全耐性は 31 株 (28%) にみられ、治療例における耐性の変動、臨床効果等を比較検討して、RFP 臨床耐性の限界を 10 mcg/ml 完全耐性 (または 10 mcg/ml および 50 mcg/ml 不完全耐性) 以上とするのが適当であると報告している。東村<sup>6)</sup>は未使用例における RFP 耐性の変動は 12.5 mcg/ml をこえるものではなく、223 株について検討した結果では 25 mcg/ml 完全耐性は全くみられず、治療中の耐性出現状況よりみても臨床耐性の境界線は 25 mcg/ml とすべきであると述べている。われわれの成績では未使用例における耐性度は 10 mcg/ml 不完全耐性 5.2%, 完全耐性 1.5%, 25 mcg/ml 以上の耐性 0.7% であり、一般に行われる日常耐性検査で 10 mcg/ml 完全耐性を臨床耐性の限界とするには接種菌量、培養期間、培地の条件等に十分な考慮がはらわれる必要があり、この点検討を要するものと考えられる。

非定型抗酸菌に対する RFP の抗菌力は菌株によつてはかなりの差が認められるが、一般に低いといわれている。われわれの成績では各群を通じて一部に感受性の高い菌株もみられたが大部分は小川培地で 50 mcg/ml 以上の高い耐性を示した。したがつて RFP 未使用例よりの分離菌株で RFP に高い耐性がある場合には非定型抗酸菌を疑うべきである。

RFP 治療例における RFP 耐性の出現については、馬場ら<sup>7)</sup>は 23 例中 22 例に高い耐性が生じたと述べ、日結研<sup>8)</sup>の成績では Kirchner 半流動培地 5 mcg/ml 以上を耐性とすると 17 例中 13 例に耐性を認めている。東村<sup>6)</sup>は RFP と耐性薬剤との併用治療で 3 カ月後に菌陽性 16 例の全例に小川培地で 200 mcg/ml の高度耐性菌がみられたと報告している。Kirchner 半流動培地を用いて検討したわれわれの成績では、RFP 耐性は早期にかつ急激に上昇し、耐性を生じた例では 1, 5 mcg/ml の耐性菌は少なく一挙に 10 mcg/ml 以上の耐性となり、治療 5~6 カ月後に得られた耐性菌の一部についてさらに高度耐性を再検討した成績では、Kirchner 半流動培地で 100 mcg/ml 以上を示すものが多くみられた。治療中 10 mcg/ml 以上の耐性を示した例ではその後の菌陰転は全くみられず、治療中の菌再陽転時の耐性はほとんどが 10

mcg/ml 以上であつた。以上の成績から RFP の臨床耐性の限界は Kirchner 半流動培地では 10 mcg/ml とするのが妥当と考えられる。なお Kirchner 半流動培地で 10 mcg/ml の耐性菌は小川培地ではその 94% が 50 mcg/ml 以上の耐性に相当した。

治療期間と RFP 耐性出現との関係を見ると、早いものでは治療 1 カ月で耐性が生じ菌陽性例における耐性出現率は、RFP 準単独治療例では 2 カ月後 54.5%、4 カ月後 77.7%、6 カ月後には全例に耐性がみられ、併用例では 2 カ月後 31.5% とやや低いが 4 カ月後 68.9%、6 カ月後には 80.7% に達した。RFP・PZA 併用療法例で RFP 450 mg 毎日、450 mg 週 2 日、900 mg 週 2 日の 3 投与方法について耐性出現状況をみると各投与方法の間に差はみられなかつた。

以上の成績から RFP 治療において菌陰性化に失敗した場合には、早期に高度の耐性菌出現はほとんど避けられないものと考えられる。したがつて RFP 使用にあつては強力な感受性剤との併用のもとにまず菌陰性化の可能性を考慮すべきであろう。

### 結 論

1. RFP 未使用例よりの分離結核菌の RFP 耐性は、Kirchner 半流動培地では 1 mcg/ml 以下であり、1% 小川培地では 10 mcg/ml 耐性が 6.7% に認められた。非定型抗酸菌では RFP に対して高度耐性を示す菌株が多くみられた。Kirchner 半流動培地で 10 mcg/ml 以上

の耐性を示した結核菌は大部分が小川培地では 50 mcg/ml 以上の耐性を示した。

2. RFP 治療肺結核症例における RFP 耐性は、早期かつ高率に出現し、Kirchner 半流動培地で 10 mcg/ml 以上を臨床耐性とする、RFP 準単独治療例では 2 カ月後菌陽性例の約半数に、6 カ月後には全例に耐性が認められ、感性剤または PZA との併用治療例では耐性出現はやや抑制されるが 6 カ月後には菌陽性例の 80% に耐性が生じた。耐性出現例ではその後の RFP 治療による菌陰性化はみられず、また菌再陽転時にはほとんどの症例に 10 mcg/ml 以上の耐性が出現した。

RFP・PZA 併用療法において、RFP 450 mg 毎日、450 mg 週 2 日、900 mg 週 2 日の 3 投与方法の間には耐性出現について差は認められなかつた。

本論文の要旨は第 47 回日本結核病学会総会で発表した。

### 文 献

- 1) 山本和男他：診療，23 (臨 6)：1292, 1970.
- 2) 遠藤浩一他：診療，23 (臨 6)：1300, 1970.
- 3) 馬場治賢他：結核，46：481, 1971.
- 4) 岡捨己他：日胸，30：79, 1971.
- 5) 結核療法研究協議会：結核，45，317, 1970.
- 6) 東村道雄：結核，45：251, 1970.
- 7) 馬場治賢他：結核，46：429, 1971.
- 8) 日本結核化学療法研究会：結核，45：251, 1970.