

原 著

人型結核菌の KM, VM, CPM, LVM, TUM に対する
交叉耐性に関する研究

第2報 試験管内分離各薬剤耐性株の, 他の薬剤に対する感受性

斉藤健利・福原徳光

東京大学医科学研究所

受付 昭和48年12月6日

CROSS RESISTANCE OF TUBERCLE BACILLI TO KM,
VM, CPM, LVM AND TUM*II. The Susceptibility of Antibiotic-resistant Strains Which
were Obtained In Vitro to the Five Antibiotics

Taketoshi SAITO and Yoshimitsu FUKUHARA

(Received for publication December 6, 1973)

To investigate the cross resistance and its grade among five antibiotics including KM, VM, CPM, and new antibiotics, LVM and TUM, the susceptibilities to the five antibiotics were examined on the H₃₇R_V strain, the Schacht strain and antibiotic-resistant strains obtained in vitro showing rather low resistance to each of the antibiotics, in the 1% Ogawa's medium (O medium), the Kirchner semi-liquid agar medium (K medium), the Youmans semi-liquid agar medium (Y medium) and the Dubos medium (D medium). The results were summarized as follows:

1) According to the results of the experiments on the O medium, there were remarkable cross resistance between KM \longleftrightarrow LVM, KM \longrightarrow CPM, VM \longleftrightarrow TUM, VM \longleftrightarrow CPM, LVM \longrightarrow CPM, and TUM \longrightarrow CPM.

2) The results obtained on the media of K, Y and D showed similar results to those on O medium, except the fact that the KM-resistant strains did not always show the resistance to LVM.

3) The cross resistance among the five antibiotics examined under various conditions was summarized in the diagram.

緒 言

KM, VM, CPM, LVM, TUM 5 剤のおおのに純粋に単独の耐性株を患者材料より数多く集めることは現在案外困難である。このうち新しい抗生物質である LVM

と TUM に関してはこれらに対する純粋の耐性株を患者材料より得ることはことに困難である。このゆえに、前報で述べたごとく、患者からの分離株について 5 剤間の交叉耐性の状況のすべてを知ることは現時点ではほとんど不可能である。ここにおいて今回は、研究室保存の人

* From the Institute of Medical Science, University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minatoku, Tokyo 108 Japan.

型結核菌 $H_{97}Rv$ 株および Schacht 株より試験管内で各薬剤にそれぞれ耐性の菌株をつくり、それらを用いて他の薬剤に対する感受性を種々の培地、すなわち 1% 小川培地のほかに Kirchner 半流動寒天培地、Dubos 培地、Youmans 半流動寒天培地上でしらべ、5 剤間の交叉耐性の状況を整理しようと試みた。

実験方法

試験管内分離各薬剤耐性株

Dubos 培地に継代した $H_{97}Rv$ 株および Schacht 株の菌液の大量 (10^{-1} mg 相当量) を各薬剤含有 1% 小川培地に接種し、各薬剤の 100 mcg/ml のところに増殖した菌を使用した。

使用培地

1% 小川培地：前報で既述。

Dubos 培地：Albumin 以外の培地成分を型のごとく溶解し、 $120^{\circ}C$ 、15' 加熱滅菌。以後無菌操作でこれに Albumin を加え適当量をコルペンに分配。各コルペンに所定量の薬液を加え、これを 2 ml ずつ小試験管に分注した。

Kirchner 半流動寒天培地：前報で既述。

Youmans 半流動寒天培地：Youmans 培地に Kirchner 半流動寒天培地と同様にカンテン末を加えたものを基礎培地とした。

培地内薬剤濃度

液体培地ないし半流動寒天培地の場合は前報の成績を参考にして VM の濃度を若干違えた。実験の各項で記述する。

接種菌量

前報で記述。

判定

Dubos 培地、Youmans 半流動寒天培地を使用した場合は、前報の Kirchner 半流動寒天培地の場合と同じく培養 1~2 週後、最終的には 2 週後の判定をとつた。

実験成績

A. 小川培地における成績

培地内薬剤添加濃度は 12.5, 25, 50, 100, 1,000 mcg/ml とした。

(1) $H_{97}Rv$ 株より得られた各薬剤耐性株の他の薬剤に対する感受性 (表は菌増殖度で表現) は表 1 に示した。すなわち、

$H_{97}Rv$ 原株はいずれの薬剤においてもその 12.5 mcg/ml で完全に阻止された。KM 耐性株 (RKM と略記、以下同じ) は KM のほかには CPM と LVM に高度ではないが耐性を示した。VM にも若干感受性の低下がみられた。RVM は VM のほかには CPM と TUM に耐性を示した。RCPM は CPM のほかには VM に耐性を

示した。LVM と TUM にも若干感受性の低下を示した。RLVM は LVM のほかには KM に顕著に、CPM に若干耐性を示した。RTUM は TUM のほかには VM と CPM に耐性を示した。KM と LVM にも若干感受性の低下を示した。

(2) Schacht 株より得られた各薬剤耐性株の他の薬剤に対する感受性は表 2 に示した。

Schacht 原株は、 $H_{97}Rv$ 原株と同じくいずれの薬剤においてもその 12.5 mcg/ml で完全に阻止された。各薬剤耐性株も、 $H_{97}Rv$ より得られた各薬剤耐性株の場合とほとんど同じ傾向で他の薬剤に対し感受性低下を示したが、RKM が CPM と LVM に対し、また RLVM が KM のほかに CPM に対しても感受性低下が更に強く示された。また RKM が TUM にも、RLVM が VM にも若干感受性低下を示した。

(3) 1% 小川培地を使用しての類似の感受性試験は更に 2 度行われたが毎回ほとんど同じ傾向であつた。すなわち 5 剤間の交叉耐性として特に顕著なものは、 $KM \rightleftharpoons LVM$, $KM \rightarrow CPM$, $VM \rightleftharpoons CPM$, $VM \rightleftharpoons TUM$, $LVM \rightarrow CPM$, $TUM \rightarrow CPM$ であつた。

B. Kirchner, Dubos, Youmans 培地における成績

(1) Kirchner 培地における成績

$H_{97}Rv$ 株より得られた各薬剤耐性株 (表 3) と Schacht 株のそれ (表 4) について Kirchner 培地における各薬剤に対する感受性をしらべた。培地内薬剤濃度は、VM においては 1, 2.5, 5, 10, 25 mcg/ml, 他の薬剤においては 0.5, 1, 2.5, 5, 10 mcg/ml とした。

この実験条件においては $H_{97}Rv$ 原株も Schacht 原株も VM 1 mcg/ml で菌増殖がみられたが他の 4 剤ではいずれも 0.5 mcg/ml で完全に阻止された。

これら両株より得られた各薬剤耐性株も他の薬剤に対しほとんど同じ感受性傾向を示したが、ただ Schacht 株より得られた RKM 株は CPM にも顕著な耐性を示した。LVM に対してはそれほど顕著ではなかつた。

Kirchner 培地における成績は、濃度段階に大きな開きがあるが小川培地上の成績とも類似しており、小川培地上で顕著な交叉耐性を示したものは今回も顕著な交叉耐性を示した。また小川培地上で「若干な感受性の低下」が観察された菌株すなわち RKM 株が VM, TUM に対し、RCPM が TUM に対し、RLVM が VM に対し今回もはつきり感受性の低下を示した。そのほかに RLVM も TUM に対し若干の感受性低下を示した。

(2) Dubos 培地における成績 (表 5)

$H_{97}Rv$ 株およびこれより得られた各薬剤耐性株について Dubos 培地で同様に各薬剤に対する感受性をしらべた。培地内薬剤濃度は、いずれも、1, 2.5, 5, 10, 25 mcg/ml とした。

この実験条件においては $H_{97}Rv$ 原株は VM 10 mcg/

ml まで、TUM 2.5 mcg/ml までおよび CPM 1 mcg/ml に菌発育がみられたが、KM, LVM では 1 mcg/ml でも阻止された。

H₃₇Rv 株より得られた各薬剤耐性株の他の薬剤に対する感受性をみると、RVM, RCPM, RLVM, RTUM 株については前述の小川培地および Kirchner 培地と同様の成績であつたが、RKM が LVM に対して感受性の低下がみられなかつたことが、この実験で特異的であつた。その他には、RVM 株、RCPM 株が KM に対し、また、別に繰り返された実験においては RVM が LVM に対し若干感受性の低下がみられたことが追加される。

(3) Youmans 培地における成績 (表6)

H₃₇Rv 株およびこれより得られた各薬剤耐性株について Youmans 培地で同様に各薬剤に対する感受性をしらべた。培地内薬剤濃度は、いずれも 5, 10, 25, 50, 100 mcg/ml とした。

この実験条件においては H₃₇Rv 原株は VM では 25 mcg/ml まで、TUM は 5 mcg/ml に、CPM では極めてわずかに 5mcg/ml に菌発育がみられたが、KM, LVM では 5 mcg/ml で完全に阻止されていた。

H₃₇Rv 株より得られた各薬剤耐性株の他の薬剤に対する感受性をみると、RVM, RCPM, RLVM, RTUM 株については小川培地、Kirchner 培地、および Dubos 培地の成績と同様の傾向であつた。また特に Dubos 培地の場合に指摘したように今回もまた RKM 株は LVM に対し感受性の低下がみられなかつた。更に今回は RKM は CPM に対しても感受性の低下が顕著でなかつた。

(4) 以上の3種の培地における成績を要約すると、

a) これらの培地における研究室保存人型結核菌標準原株の各薬剤に対する感受性は前報でも触れたごとく VM が最も低く逆に KM や LVM が高かつた。b) これを考慮して交叉耐性に関するデータを整理すると、小川培地における「顕著な交叉耐性」の様式が今回もだいたいあてはまるが、ただ Dubos 培地と Youmans 培地で RKM 株の LVM 感受性低下が認められなかつたことが異なつていた。c) 更に RKM が VM, TUM に対し、RVM が KM に対し、RCPM が KM, LVM, TUM に対し、RLVM が VM, TUM に対し、RTUM が KM, LVM に対し、その程度と頻度において若干差があるが、比較的軽度感受性の低下が認められた。これらの点も繰り返された小川培地の成績と類似点が多かつた。

考 案

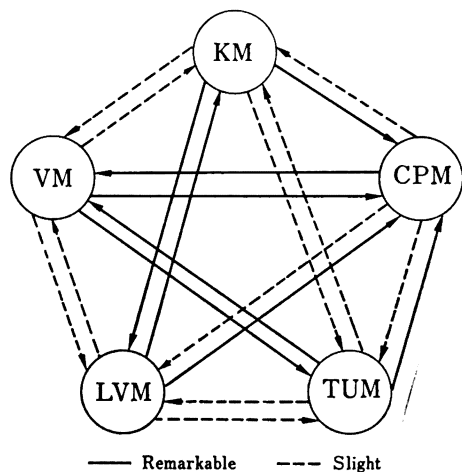
私共¹⁾はかつて KM, VM, CPM 3 剤間の交叉耐性を検討する目的で人型結核菌 H₂ 株を各薬剤含有 Dubos 培地で増量継代し 10 代にわたり各代で 1% 小川培地を用い耐性上昇の状況をしらべた。すなわち KM 含有培地で継代した菌は CPM にも KM と同傾向の耐性上昇

を示すが VM に対する耐性上昇は軽度であり、VM 含有培地で継代した菌は CPM にも VM と同傾向の耐性上昇を示すが KM に対しては極めて軽度であり、CPM 含有培地で継代した菌は VM にも CPM と同傾向の耐性上昇を示すが KM に対しては軽度であること、すなわち KM \rightleftharpoons CPM, KM \rightleftharpoons VM, VM \rightleftharpoons CPM (— 著明, --- わずか) の関係が存在することを報告した。今回の交叉耐性の実験は LVM と TUM を加えて 5 剤について行つたが、小川培地では前回の実験成績に更に KM \rightleftharpoons LVM, VM \rightleftharpoons TUM, LVM \rightarrow CPM, TUM \rightarrow CPM なる関係が顕著なものとして追加される結果であつた。

小川培地以外の培地としては今回は Kirchner 培地、Youmans 培地、および Dubos 培地を使用した。これらの培地における 5 剤間の交叉耐性の状況も小川培地における成績とほとんど同様であつたが、ただ KM 耐性株が Youmans 培地と Dubos 培地で必ずしも LVM 耐性を示さなかつたことが異なつていた。五味、青柳²⁾は Dubos 培地を使用し LVM は KM の低または中等度耐性株には感性であるが、KM 高度耐性株には耐性であることを示している。東村³⁾、山本⁴⁾の報告もその傾向を示している。私共の実験は比較的耐性株を使用しているので LVM に関してはこれらの報告と合致している。

KM, VM, CPM, LVM, TUM 5 剤間の交叉耐性の状況を種々の条件下で行つた私共の実験成績をまとめると図のごとくである。すなわち交叉耐性の面からみてもこれら 5 剤は親戚関係にあるが、その間には交叉耐性が顕著なもの (図中実線で示す) と顕著ではないが存在するもの (図中点線で示す) の 2 つにおおよそ区分できるように思われる。RKM \rightarrow LVM に関しては一応顕著の区分に入れたが既述のごとく若干問題がある。

Fig. Diagram Showing the Cross Resistance between the Five Antibiotics



— Remarkable --- Slight

一般に交叉耐性の検討に際しては、各薬剤に対する耐性度がよく似た菌株について検査される必要がある。もちろん、数多くの菌株を使用し種々の耐性度のものについて比較検討されることが理想的である。今回は臨床応用上どちらかという耐性度が比較的低い菌株に条件を揃えて検討したが、この図で、点線で示された方向のもので一方が更に高度の耐性を担うようになれば他の薬剤に対しても交叉耐性が顕著になるものもありうるし、逆に実線で示されたものの中でも一方が更に低い耐性の場合には対応する他の薬剤に感性であるものもありうると考えたほうがよいように思われる。

臨床上これらの抗生物質の選択の順序に関してこの図がある程度参考になる。例えば、TUM に関する実験で豊原⁹⁾も指摘しているように KM 耐性患者には副作用の少ない TUM の使用が考えられる。しかし実際面で大切なことは、あらかじめこれらの薬剤に対する菌の感受性をしらべその結果に従って治療することが原則であることを最後に強調したい。

結 語

KM, VM, CPM, LVM, TUM 5 剤間の交叉耐性の有無および程度を知る目的で、今回は、H₉₇Rv 株, Schacht 株より試験管内で得られた 5 剤おのおのに比較的低い耐

性を示す菌株を用いてこれら 5 剤に対する感受性を、1% 小川培地 (O 培地), Kirchner 半流動寒天培地 (K 培地), Youmans 半流動寒天培地 (Y 培地), Dubos 培地 (D 培地) でしらべた。得られた成績を次に列記する。

1. O 培地で検した成績から顕著な交叉耐性としては、KM \rightleftharpoons LVM, KM \rightarrow CPM, VM \rightleftharpoons TUM, VM \rightleftharpoons CPM, LVM \rightarrow CPM, TUM \rightarrow CPM の各方向が示された。

2. 同じく K, Y, D 培地で検した成績もほとんど同様の傾向を示したが、KM 耐性株が必ずしも LVM 耐性を示さなかつたことが異なつていた。

3. 結論的に種々の条件下で検討された 5 剤間の交叉耐性の状況の総括を模式図で示した。

(本論文の要旨は第 47 回および第 48 回本学会総会において発表した)

文 献

- 1) 北本治・福原徳光・小林宏行・斎藤健利 他：結核，43：384，1968.
- 2) 五味二郎・青柳昭雄 他：結核，46：265，1971.
- 3) 東村道雄 他：結核，45：263，1970.
- 4) 山本和男 他：結核，47：135，1972.
- 5) 豊原希一：結核，47：181，1972.