

## 原 著

## 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性

V. *Mycobacterium intracellulare* に対する主としてアミノ

## グリコシッド系抗生物質の試験管内制菌作用

内藤 祐子・久世 文幸・前川 暢夫

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第1

受付 昭和54年4月27日

## SENSITIVITIES OF ATYPICAL MYCOBACTERIA TO VARIOUS DRUGS

V. Sensitivities of *Mycobacterium intracellulare* to Some  
Aminoglycoside and Peptide Antibiotics

Yuko NAITO,\* Fumiyuki KUZE and Nobuo MAEKAWA

(Received for publication April 27, 1979)

The sensitivities of fifteen disease-associated strains of *M. intracellulare* were tested *in vitro* using Dubos Tween Albumin liquid medium to ten aminoglycoside and three peptide antibiotics. The drugs tested were SM, KM, DKB (Dideoxykanamycin B), AKM (Aminodeoxykanamycin), AMK (Amikacin), AMD (paromomycin), GM (Gentamicin), VSM (Ribostamycin), LVM (Lividomycin), TOB (Tobramycin), EVM (Enviomycin), CPRM (Capreomycin) and VM.

The strains isolated from the patients in our Institute, seven of the fifteen strains tested, showed low sensitivities against all drugs tested. The growth of only one strain each was inhibited by TOB, GM, VSM and AMK at the concentrations less than 1.56  $\mu\text{g/ml}$ . The results obtained here were not encouraging for clinical trial.

The remaining eight strains tested, which were TMC (Trudeau Mycobacterial Culture Collection) strains, which were kindly provided by the U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program-NIAID in 1975, showed considerable sensitivities to all aminoglycoside antibiotics tested, though the sensitivities to peptide antibiotics were not impressive.

The pattern of the sensitivities to these antibiotics was similar in the U.S. strains and in Japanese strains, except SM exhibited more potent activities against U.S. strains than Japanese strains. TOB and GM showed the most potent activity to *M. intracellulare* among the drugs tested, and the least activities were exhibited by VM, CPRM and EVM, which were all peptide antibiotics. The remaining aminoglycosides were in between the two groups of the drugs in their activities against *M. intracellulare*.

The overall differences of sensitivity between U.S. strains and Japanese strains were not readily explanatory.

\* From the First Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

序 論

非定型抗酸菌症 (以下 AM 症) の中で本邦に高頻度に見られる *M. intracellulare* 症の治療は、本症の原因菌である *M. intracellulare* が抗結核薬に対して感受性が乏しいため、その内科的治療には明らかに限界がある。私どもは数回にわたり非定型抗酸菌 (以下 AM) の抗結核薬および一部の一般抗生物質に対する試験管内感受性について報告<sup>1)~4)</sup>したが、*M. intracellulare* に関しては、抗結核薬の多剤併用を用いた場合のみある程度臨床的にも有効性を期待できるであろうという結論に止まった。したがって今後の問題として、抗結核薬のみならず多くの抗菌物質についても AM に対する感受性の検討が必要となっており、これらの検討を通して新薬開発に取り組む姿勢が要請されている。今回10種類のアミノグリコシッド系抗生物質と3種類のペプチド系抗生物質に対

する *M. intracellulare* 15株 (本邦株7株と米国株8株) の感受性を比較検討したのでその成績を報告する。

I. 実験材料ならびに方法

1) 使用菌株

*M. intracellulare-avium* complex 計15株を使用した。*M. intracellulare* 症患者<sup>5)</sup>より分離した本邦株7株と Trudeau Institute より分与された Trudeau Mycobacterial Culture Collection (TMC)<sup>6)</sup>に含まれる8株である。これらの菌株はいずれも供与または分離されてから1% 小川培地に数代継代したものを使用した。

2) 実験方法

1% 小川培地に2,3週間培養した菌を Dubos Tween Albumin 液体培地に移した後、2代継代した1週間培養菌液を用いた。滅菌蒸留水での希釈により肉眼的な比濁 (硫酸バリウム液を対照とする) で約 1.0 mg/ml の菌液

Table 1. Sensitivities of *M. intracellulare* to Aminoglycosides and Peptides

Drugs	MIC $\mu\text{g/ml}$													
	$\leq 0.0125$	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$100 \leq$
VM							○ ○	○ ▲	○	○	○ ×	×	×	×
CPRM						▲	○ ○	○ ○	○	○	○	×	×	×
EVM		○					▲ ○	○ ○		○ ×	○	×	×	×
TOB	○ ○	○ ○		○		○	○ ×	▲ ▲	×	×	×		×	
LVM	○		○		▲ ▲	○ ○			○ ×	○ ×	×	×	×	×
VSM	○		○	○	○	○	○ ×	○	×	×	▲	×	×	
GM	○ ○ ○			○ ○		○ ×	○ ×	▲ ○	×	×	×	×		
AMD	○		○		○ ○	○ ○	○ ○	○ ×	×	×	×	×	×	×
AMK			○	○	○	○	○ ○	○ ×	×		×	×	×	×
DKB	○ ○		○	○		○ ○	○	○		×	×	×	×	
AKM	○		○	○		○ ○	○	○ ×	×	×	×	×		×
KM	○				○	○	○ ○	○		○ ×	×	×	×	×
SM			○	○	○	○	○	○			×	×	×	×

▲ *M. tuberculosis* ○ *M. intracellulare* (U.S. strains)  
 × *M. intracellulare* (Japanese strains)

を作成し更にその10倍希釈液 0.1 ml を接種した。なお比較対照のため *M. tuberculosis* (感受性株) 2株も同様の方法で使用した。

感受性判定培地は前回までと同様 Dubos Tween Albumin 液体培地 (Difco TB Broth Base 使用) を用い判定は 37°C 培養 2 週後に、いずれも肉眼で菌の発育が完全に阻止されている試験管を発育阻止があると判定した。

検討した薬剤はアミノグリコシッド系薬剤である

SM, KM, AKM (Aminodeoxykanamycin), DKB (Dideoxykanamycin B), AMK (Amikacin), AMD (Paromomycin), GM (Gentamicin), VSM (Ribostamycin), LVM (Lividomycin), TOB (Tobramycin) の計10種類と EVM (Enviomycin), CPRM (Capreomycin), VM の計3種類のペプチド系抗生物質, 合計13種の薬剤である。各薬剤の初管濃度はいずれも 100  $\mu\text{g/ml}$  で薬剤の希釈系列を19管まで作成し, 20管目は薬剤を含まない対照

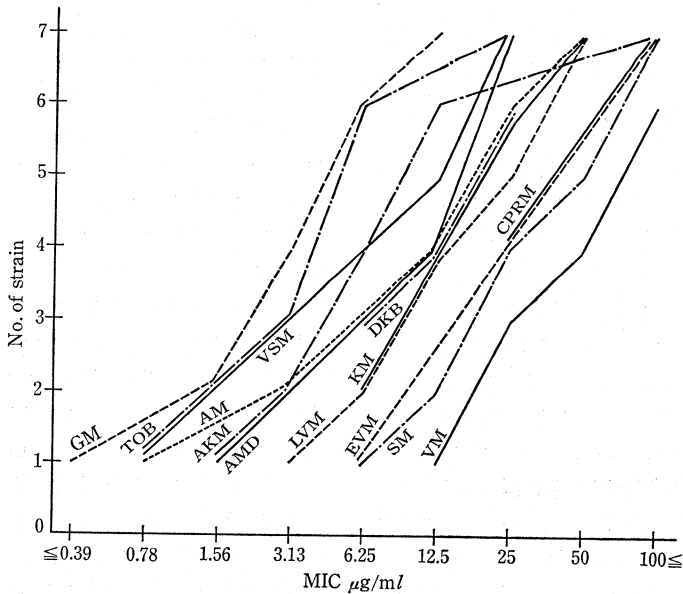


Fig. 1. Cumulated Number of strains of *M. intracellulare* inhibited by aminoglycosides and peptides (Japanese strains).

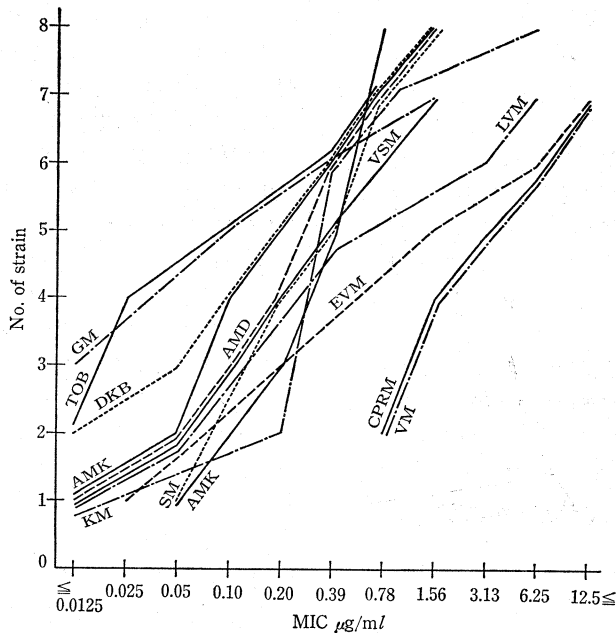


Fig. 2. Cumulated Number of strains of *M. intracellulare* inhibited by aminoglycosides and peptides (U.S. strains).

培地とした。培地量はいずれも 2.0 ml である。

## II. 実験成績

表1に実験成績を総括し、図1および2に表1の成績を本邦株と米国株とに分けて、各薬剤濃度で感受性を示す菌株数の累積数を示し比較検討に資した。表1で対照のために検討した *M. tuberculosis* の感受性をみると、SM に対する感受性が最も高く、次いで AMK, LVM, KM が続き、AMD, GM, EVM, CPRM, VM は更に感受性が弱くなっている。TOB, VSM, DKB, AKM などは *M. tuberculosis* に対しては感受性は乏しいと考えられた。また VM の *M. tuberculosis* に対する MIC である 1.56  $\mu\text{g/ml}$  前後を一応の基準として *M. intracellulare* の感受性の程度を全般的にみると、本邦株の大部分は今回検討したすべての薬剤に感受性が乏しく、これに反して米国株のほとんどはまず良好な感受性を示すのが認められた。この差はかなり明かである。各薬剤に対する *M. intracellulare* の態度は米国株、本邦株を問わず、図1, 2で明らかな様に GM, TOB が最も低い MIC を示し、これに反して CPRM, VM, EVM に対する MIC は高い。その中間に VSM, AMK, AKM, AMD, DKB, LVM などが位置している。SM と KM に関しては本邦株と米国株とで若干の差違がみられ、SM は本邦株では相対的に感受性は低く、米国株では高い。更に本邦株では SM よりも KM により良好な感受性が認められるのに対して、米国株では SM, KM 両者ほぼ同程度の感受性を示している。アミノグリコシッド系薬剤とペプチド系薬剤との比較では、アミノグリコシッド系薬剤により良好な感受性が認められた。

以上まとめると、*M. intracellulare* の上記13薬剤の感受性の傾向として、今回の検討では GM, TOB の2剤が他剤と比較して感受性はより良好であり、結核症に多く使用される SM, KM に対してよりも概して感受性が高いことが認められた。各薬剤に対する感受性のパターンは本邦株、米国株共によく似た成績が得られたが、全体的にみて米国株の方が今回検討した全ての薬剤に対して本邦株に比べると相対的に感受性が高いことが示された。

以上の成績から臨床的な有効性を類推すると、米国株では VM, CPRM, EVM 以外の薬剤に対してはほとんどの菌株が 0.78  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC を示し期待がもてるが、本邦株のほとんどは全薬剤に対して 0.78  $\mu\text{g/ml}$  以上の MIC であることから、臨床的な有効性は期待し難い。

## III. 考案

抗結核薬以外の薬剤に対する AM の感受性については鳥型菌の1株について GM を検討した Clark ら<sup>6</sup>

の報告、Guy ら<sup>7</sup> の Chloramphenicol, Erythromycin, Oxytetracycline, Tetracycline, Chlortetracycline を対象とした検討、Virtanen<sup>8</sup> の Sulfadiazine, Erythromycin, Novobiocin, Chloramphenicol, Neomycin, Tetracycline を対象とした報告があるが、抗結核薬以外のアミノグリコシッド系ならびにペプチド系抗生物質を対象とした検討は最近まで抗結核薬を対象としたものだけに限られている。近年主としてグラム陰性桿菌感染症の増加に伴い DKB, TOB などの新アミノグリコシッド系抗生物質の開発が進んでいるので、これらの薬剤に対する検討結果も次第に報告されてきている。私どもも数年前、AKM, AMD についての成績<sup>9</sup> を報告しているが、当時の成績では *M. intracellulare* の40%から50%が上記薬剤の 0.78  $\mu\text{g/ml}$  以下で発育が阻止されるのを認めている。本邦ではその他堀・庄司ら<sup>10,11</sup> の多数の抗生物質ならびに抗菌物質に対する感受性の検討があり、今後の成績が期待される。ペプチド系抗生物質の一つである EVM に関しては豊原<sup>12</sup> の報告があるが、*M. intracellulare* の少数株に感受性を認めたとしている。最近新しいアミノグリコシッド系抗生物質の抗菌力を中心として検討したものに Gangadharam ら<sup>13</sup> の報告があり、GM, AMK, TOB, Sisiomycin を対象としているが、判定培地として 7H10 ならびに 7H11 寒天培地を使用し、*M. scrofulaceum* (6株), *M. intracellulare* (20株), *M. fortuitum* (6株), *M. chelonae* (6株) はいずれも 12.8  $\mu\text{g/ml}$  以上の MIC を示したという。20株中1株の *M. kansasii* は AMK に対して 6.4  $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示しているが、*M. intracellulare* の成績に対しては悲観的な見解を述べている。

Dubos Tween Albumin 培地を用いた今回の私どもの成績でも、*M. intracellulare* 本邦株に対してはいずれの薬剤も MIC はほとんどの菌株について 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以上で、ごくわずかの菌株が TOB (1株), GM (1株), VSM (1株), AMK (1株) によつて 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下で阻止されているのみであつた。Gangadharamらの成績と使用培地の差を考慮したうえでやはり臨床的な有効性は期待し難いと考えられる。これに反して *M. intracellulare* 米国株に対してはペプチド系抗生物質は概して感受性が低いが、他のアミノグリコシッド系薬剤はいずれもかなり低い濃度で発育を阻止している。

米国株と本邦株とのこれら感受性のかなり明瞭な差違が何によつてくるかは私どもの検討が不足しており結論づけられない。最近、Kajioka ら<sup>13</sup> は *M. intracellulare* は transparent colony から opaque colony への変異を示すこと、更に opaque form は transparent form と比較すると数種の抗結核薬 (SM, EB, KM, CS, CPRM, PAS) に対する感受性がより良好であつたことを報告し、更に培地内への Tween 添加は *M. intracellulare* の上記薬剤に対する感受性を全般的に高めるが、opaque form

についてはより以上にこの傾向が強いことを示唆している。以上の報告より、私どもの検討した米国株は継代回数がより多かつたと考えられることより、opaque form への変異が本邦株に比べより高頻度に起こっていたという推測は可能である。臨床材料より分離後次第に opaque colony への変異が増加したことが考えられることから、今回の成績についての評価にあたっては継代回数がより多いと考えられる米国株よりはむしろ本邦株の成績をもとにして臨床的な有効性を類推するのがより適当と考えられる。今後早急に明らかにすべき点である。

#### IV. 結 論

15株の *Mycobacterium intracellulare-avium* complex (本邦株7株, 米国株8株) を用いて, Dubos Tween Albumin 液体培地で, アミノグリコシッド系抗生物質 SM, KM, AKM, DKB, AMK, AMD, GM, VSM, LVM, TOB の10種類とペプタイド系抗生物質 EVM, CPM, VM の3種類に対する試験管内阻止力を検討し次の結果を得た。

- 1) 本邦株の上記薬剤に対する感受性は低く, 単独使用では臨床的な有効性は期待し難いと考えられた。
- 2) 上記薬剤に対する感受性のパターンは本邦株, 米国株共ほぼ同様で, GM, TOB の2剤に比較的感受性が良好で, ペプタイド系抗生物質である CPRM, VM,

EVM には感受性が低い。米国株では SM に対する感受性が相対的に良好であった。

- 3) 米国株は日本株に比較すると上記薬剤のすべてに対して明らかにより高い感受性を示した。
- 4) 今後の感受性の検討には, *M. intracellulare* の colony form の変異の可能性とそれに伴う感受性の変化を充分考慮に入れることが望ましいと考えられた。

#### 文 献

- 1) 久世文幸他: 結核, 49:151, 1974.
- 2) 久世文幸他: 結核, 49:189, 1974.
- 3) 久世文幸他: 結核, 52:331, 1977.
- 4) 久世文幸他: 結核, 52:505, 1977.
- 5) 久世文幸・前川暢夫: 日胸, 34:11, 1975.
- 6) Clark, J. et al.: Tubercle, Lond., 49:31, 1968.
- 7) Guy, L. R. and Chapman, J. S.: Amer. Rev. Resp. Dis., 84:746, 1961.
- 8) Virtanen, S.: Acta Tuberc. Scand., 40:182, 1961.
- 9) 堀三津夫・庄司宏他: 日本結核療法研究協議会発表, 昭和52年12月.
- 10) 堀三津夫・庄司宏他: 日本結核療法研究協議会発表, 昭和53年12月.
- 11) 豊原希一: 結核, 53:255, 1978.
- 12) Gangadharam, R. R. J. and Candler, E. R.: Tubercle, 58:35, 1977.
- 13) Kajioka, R. and Hui, J.: Scand. J. resp. Dis., 59:91, 1978.