

原 著

臨床分離非定型抗酸菌株の主要抗生物質感受性

新井俊彦・小松貞男

慶応義塾大学医学部微生物学教室

永 富 鳳 一

国立療養所東埼玉病院

受付 昭和 56 年 9 月 10 日

MAJOR ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF THE CLINICALLY ISOLATED ATYPICAL MYCOBACTERIUM STRAINS

Toshihiko ARAI*, Sadao KOMATSU and Hoichi NAGATOMI

(Received for publication September 10, 1981)

We determined the minimal inhibitory concentrations of the six antibiotics against the clinically isolated atypical mycobacterium strains, such as *Mycobacterium intracellulare*, *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. fortuitum* and *M. nonchromogenicum* in Dubos' medium. Ampicillin was found to be effective to *M. gordonae*, *M. nonchromogenicum* and *M. intracellulare*, but not effective to *M. kansasii* and *M. fortuitum*. Cephalexin was a little less effective than ampicillin. Streptomycin and tetracycline were found to be similarly effective to *M. gordonae* and to some of the strains of *M. kansasii* and *M. intracellulare*, though tetracycline was found to be more effective to *M. fortuitum* than streptomycin, and streptomycin was found to be more effective to *M. kansasii* than tetracycline. Chloramphenicol and erythromycin were found to be effective only to *M. gordonae*.

Since mycobacteria grow intracellularly and cause granulomatous inflammation, *in vitro* results may not directly agree with the clinical effectiveness. But, we found at least *in vitro* that even ampicillin could be effective against atypical mycobacteria located extracellularly, and that tetracycline could be as effective as streptomycin.

緒 言

肺結核症あるいは肺結核症を疑われる患者の喀痰から非定型抗酸菌が検出される機会は増えこそすれ、減少することはないように思われる。ヒトの非定型抗酸菌の検出・同定は結核症との鑑別の必要から主に行なわれているために、それらの菌株の抗菌剤感受性は主に抗結核剤についてのみ調べられている¹⁾。しかし、慢性に経過する抗酸菌症の間には、それとは全く独立に急性の細菌感染症を併発する症例があり、その治療の過程で非定型抗

酸菌症が軽快することをまれに経験することがある。そこで、一般には抗酸菌症には使用されていない主要な抗菌剤についても、非定型抗酸菌に対する抗菌活性をしらべてみることにした。

材料および方法

菌株：前報²⁾の菌株を用いた。すなわち、国立療養所東埼玉病院で1979年4月から9月末までの6カ月間に外来および入院患者の喀痰から通常の抗酸菌培養検査で分離されたナイアシン試験陰性の分離株全株を同定し、同

* From Department of Microbiology, Keio University School of Medicine, Shinjuku-ku, Tokyo 160 Japan.

Table 1. Minimal Inhibitory Concentrations of Various Drugs against the Clinically Isolated Atypical Mycobacterium Strains

| Species | Serotype | Strain No. | Minimal inhibitory concentrations ($\mu\text{g/ml}$ in Dubos' medium) of | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------|------------|---|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|------|------|------|
| | | | ABPC | | CEX | | SM | | TC | | CP | | EM | | | | |
| | | | 1 week | 2 weeks | 1 week | 2 weeks | 1 week | 2 weeks | 1 week | 2 weeks | 1 week | 2 weeks | 1 week | 2 weeks | | | |
| <i>M. intracellulare</i> | 6 | 5 | 1.6 | 3.13 | 3.13 | >12.5 | 25 | 50 | 12.5 | 25 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 | |
| | | 7 | 0.4 | 6.25 | 0.4 | 6.25 | 6.25 | 25 | 6.25 | 25 | 100 | >100 | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| | | 16 | 3.13 | 6.25 | 0.8 | 6.25 | 12.5 | 25 | 25 | 12.5 | 25 | 100 | >100 | 100 | >100 | >100 | >100 |
| | 16 | 1 | 0.8 | 3.13 | 0.8 | 12.5 | 25 | 25 | 25 | 25 | 100 | >100 | 100 | 25 | 100 | 100 | |
| | | 3 | 1.6 | 12.5 | >12.5 | >12.5 | 3.13 | 6.25 | 6.25 | 1.6 | 25 | 50 | >100 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | | 22 | 1.6 | 6.25 | 1.6 | >12.5 | 12.5 | 50 | 50 | 12.5 | 100 | >100 | >100 | 100 | 100 | >100 | >100 |
| | 8 | 15 | 0.4 | 0.8 | 0.4 | 3.13 | 12.5 | 25 | 25 | 25 | 50 | 100 | >100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | 17 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | >12.5 | 50 | 50 | 50 | 6.25 | 25 | 100 | >100 | 100 | 100 | >100 | >100 |
| | 12 | 2 | 3.13 | 12.5 | >12.5 | >12.5 | 25 | 50 | 50 | 25 | 50 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| | | 8 | 0.8 | 6.25 | 1.6 | >12.5 | 25 | 50 | 50 | 12.5 | 50 | >100 | >100 | 100 | 100 | >100 | >100 |
| | | 10 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | >12.5 | 12.5 | 50 | 50 | 12.5 | 25 | 100 | >100 | 100 | 50 | 100 | >100 |
| | | 14 | 0.8 | 1.6 | 12.5 | >12.5 | 1.6 | 6.25 | 6.25 | 0.8 | 25 | 100 | >100 | 100 | 3.13 | 50 | 50 |
| | 15 | 4 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | >12.5 | 6.25 | 25 | 25 | 6.25 | 25 | 50 | >100 | 6.25 | 6.25 | 50 | 50 |
| | | 18 | 0.8 | 3.13 | 0.8 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 3.13 | 12.5 | 25 | 50 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 12.5 |
| | New? | 11 | 3.13 | 12.5 | >12.5 | >12.5 | 1.6 | 3.13 | 3.13 | 3.13 | 25 | >100 | >100 | 12.5 | 50 | 50 | 50 |
| | Untestable | 6 | 0.05 | 0.4 | 0.1 | 0.4 | 0.2 | 0.8 | 0.8 | 0.2 | 0.8 | 0.2 | 6.25 | <0.2 | <0.2 | 0.4 | 0.4 |
| | | 19 | 0.1 | 0.8 | 0.2 | 0.8 | 3.13 | 6.25 | 6.25 | 1.6 | 12.5 | 12.5 | 50 | 3.13 | 3.13 | 25 | 25 |
| | 23 | 3.13 | 12.5 | >12.5 | >12.5 | 3.13 | 12.5 | 12.5 | 1.6 | 25 | 6.25 | 100 | 25 | 100 | 100 | 100 | |
| <i>M. kansasii</i> | 12 | >12.5 | >12.5 | >12.5 | >12.5 | 12.5 | 25 | 25 | 25 | 100 | 100 | >100 | 50 | >100 | >100 | >100 | |
| | 13 | >12.5 | >12.5 | >12.5 | >12.5 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 50 | 100 | 100 | 50 | 100 | 100 | 100 | |
| <i>M. goodii</i> | 9 | 0.025 | 0.05 | 0.025 | 0.025 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.2 | 0.4 | <0.2 | 0.2 | <0.2 | <0.2 | 0.2 | 0.2 | |
| | 21 | 1.6 | 6.25 | 0.8 | 3.13 | 0.4 | 3.13 | 3.13 | 0.2 | 3.13 | 12.5 | 50 | 3.13 | 3.13 | 50 | 50 | |
| <i>M. fortuitum</i> | 24 | >12.5 | >12.5 | >12.5 | >12.5 | 12.5 | 50 | 50 | 1.6 | 6.25 | 100 | >100 | 100 | 100 | >100 | >100 | |
| <i>M. nonchromogenicum</i> | 20 | 0.4 | 1.6 | 1.6 | >12.5 | 25 | 50 | 50 | 6.25 | 50 | >100 | >100 | 100 | 100 | >100 | >100 | |

ABPC, CEX, SM, TC, CP and EM are ampicillin, cephalixin, streptomycin, tetracycline, chloramphenicol, and erythromycin, respectively.

一人からの同一菌種は1株として集めた24株を用いた。そのうち最も菌株数の多い *Mycobacterium intracellulare* については Schaefer らの方法³⁾⁴⁾に従って血清型別してある。

薬剤感受性試験：上記の菌株を Dubos 培地 (栄研) に37°C 1週間培養する。これを同じ培地で100倍に希釈し、各種薬剤の2倍階段希釈液を含む Dubos 培地に1/50量接種し、毎週菌の発育をしらべた。最小発育阻止濃度 (MIC) は、肉眼的に菌の発育がみられない最小薬剤濃度で表現した。被験薬剤としては、ampicillin (万有)、cephalexin (万有)、streptomycin (明治)、tetracycline (レダリー)、chloramphenicol (三共) および erythromycin (塩野義) を用いた。

成 績

被験菌株は *Mycobacterium intracellulare* 18株, *M. kansasii* 2株, *M. gordonae* 2株, *M. fortuitum* 1株, および *M. nonchromogenicum* 1株の計24株である。これらの菌株に対する各薬剤の1週間および2週間培養後の MIC 値を Table 1 にまとめた。

β -lactam 系抗生物質では ampicillin と cephalexin を用いた。各菌株に対するこれら2剤の MIC 値はおおよそ平行し、一般に cephalexin より ampicillin の方が MIC 値は低かった。菌種では、*M. kansasii* と *M. fortuitum* はこれらの薬剤に抵抗性が高く、*M. gordonae* は逆に感受性が高く、*M. intracellulare* はその中間であつた。

Streptomycin に対しては、*M. gordonae* は感受性が高く、*M. kansasii* および *M. intracellulare* では感受性の菌株もあり、*M. fortuitum* および *M. nonchromogenicum* は抵抗性であることがわかつた。

Tetracycline の MIC 値は、おおよそ streptomycin の MIC 値と同じであつたが、*M. intracellulare* および *M. kansasii* の一部の株では tetracycline の MIC 値の方がやや streptomycin の MIC 値より高く、一方、*M. fortuitum* および *M. nonchromogenicum* では tetracycline の MIC 値より streptomycin の MIC 値の方がやや低い傾向がみられた。

Chloramphenicol および erythromycin は *M. gordonae* を除いて、他の菌種にはほとんど無効であつた。ただ *M. intracellulare* の特殊な菌株にはこれらの薬剤も有効であると考えられるものもあつた。

M. intracellulare 株で、自然凝集性のために血清型別ができなかつた菌株中には、被験6薬剤のいずれにも高度に感受性の菌株がみられた。

考 察

非定型抗酸菌症は結核症と鑑別を必要とする疾患であり、その抗菌剤感受性も抗結核剤を中心にしらべられて

いて、一般の抗生物質に対する感受性の文献は少ない。そこで、一般細菌に用いられている代表的な抗生物質について、我々が臨床例から分離した非定型抗酸菌の感受性度をしらべた。これはまた、これらの抗生物質を一般の急性感染症の治療に使用した場合に、生体内の非定型抗酸菌がどのような影響を受けるかを考える参考にもなる。

一般に抗結核剤は化学的に安定な構造のものが多く、すなわち、薬剤含有小川培地を作製する際には、培地中で比較的長時間85°Cの温度が加えられるが、いずれの薬剤もこの加熱で失活しない。小川培地は蛋白を多量に含むので、培地蛋白と結合して一部失活するものはあるが、その後は培養中ではあまり失活しない薬剤がほとんどである。これに対して、 β -lactam 剤は熱に非常に不安定であり、tetracycline も培地中で比較的速やかに失活する。したがって、これらの薬剤は小川培地に添加するのが困難である。また多くの非定型抗酸菌は小川培地上で肉眼的に発育を確認するのに約3週間を要する。そこで、薬剤添加時に失活させず、失活が進行しない比較的短時日中に発育がみられる Dubos 培地を利用することにした。この培地では、いずれの菌株を1週間以内に肉眼的に発育を観察することができる。また、毎週観察を続けることによつてみられる MIC 値の上昇は、これらの薬剤の失活しやすさと平行することがわかつた。すなわち、1週後と2週後の MIC 値の相違は β -lactam 剤に最も大きく、tetracycline がそれに次ぎ、streptomycin, erythromycin, chloramphenicol の順で小さくなつて、各薬剤の化学的安定性とよく一致することがわかつた。

まず、最も広く急性感染症に用いられている β -lactam 剤では、ampicillin と cephalexin についてしらべた。ampicillin と cephalexin では ampicillin の方が非定型抗酸菌に対して抗菌活性が強いことがわかつた。菌種では、もしこれらの薬剤が感染局所の標的菌に到達できるならば、*M. gordonae* には充分有効であり、*M. intracellulare* の多くの菌株にも有効であると考えられる成績が得られた。とくに ampicillin は、*M. intracellulare* の最も抵抗性の菌株に対しても1週後の MIC 値が $3.13\mu\text{g/ml}$ であり、細胞外にあり、リンパ液に接している *M. intracellulare* 株には充分有効であろう。しかし *M. kansasii* および *M. fortuitum* に対しては1週後の MIC 値が $12.5\mu\text{g/ml}$ 以上であり、無効と考えられた。

Streptomycin は結核症の第一次選択剤の一つである。正井は、小川培地を用いて、これが *M. intracellulare* および *M. fortuitum* にはほとんど無効であり、*M. gordonae* には有効で、*M. kansasii* および *M. tuberculosis* に対してはその中間であると報告している⁷⁾。我々の方法による結果もこれと全く同じであつた。ただ我々は、それぞれの菌株に対する MIC 値を求めており、これによれば、

M. intracellulare 18株中7株は1週後の MIC 値が 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下で、充分 streptomycin の抗菌活性を受ける株であると考えられた。

Tetracycline の非定型抗酸菌に対する抗菌域および抗菌活性はおおよそ streptomycin のそれと同じであることがわかった。tetracycline は streptomycin 以上に組織や動物細胞内への到達性のよい薬剤であるから、streptomycin が有効な菌株に対しては臨床的にも充分有効なのではないかと考えられる。

Chloramphenicol および erythromycin が有効なのは *M. gordonae* のみであることがわかった。しかし *M. intracellulare* でヒトではめずらしい血清型に属する菌株には erythromycin に対する感受性のみが上昇しているものが見出された。これは非定型抗酸菌の chloramphenicol と erythromycin に対する抵抗性が必ずしも同じ機構によるものでないことを示唆している。

M. intracellulare に属し、自然凝集性のために血清型別ができなかつた菌株中に被験6薬剤のすべてに高度に感受性になつた菌株が見出された。また *M. gordonae* はこれらの型別不能株と同様に被験全薬剤に高度感受性であつた。これは、これらの菌株ではすべての薬剤が標的に到達しやすくなつており、それが自然凝集性となんらかの関係があることを示唆している。

非定型抗酸菌は細胞内増殖性の細菌であると考えられるから、*in vitro* での薬剤の抗菌活性は必ずしも *in vivo* での有効性とは直接結び付けることができない。しかし、少なくとも tetracycline は streptomycin と同程度には有効なはずであるし、開放性で、細胞外に出た菌に対しては ampicillin も有効であると期待できることがわかつた。

結 論

我々が臨床で分離した非定型抗酸菌、*M. intracellulare*,

M. kansasii, *M. gordonae*, *M. fortuitum* および *M. nonchromogenicum* の菌株に対する6種の一般抗生物質の MIC 値を Dubos 培地中でしらべた。Ampicillin は *M. gordonae*, *M. nonchromogenicum* および *M. intracellulare* には有効であるが、*M. kansasii* と *M. fortuitum* には無効であつた。Cephalexin は ampicillin よりやや抗菌力が低いと同じ傾向であつた。Streptomycin および tetracycline は *M. gordonae* と、*M. kansasii* および *M. intracellulare* の一部の菌株には同程度に有効であつた。ただ *M. fortuitum* に対しては streptomycin より tetracycline の方が効果があり、*M. kansasii* に対しては streptomycin の方が tetracycline より効果があることがわかつた。chloramphenicol と erythromycin は *M. gordonae* にも有効であつた。なお *M. intracellulare* の菌株で、自己凝集性のために血清型別が不能であつた菌株には、どの薬剤にも感受性になつたものがみられた。

抗酸菌は細胞内増殖性の細菌であるから、*in vitro* の結果は直接臨床上有効であることは意味しない。しかし ampicillin でも細胞外の非定型抗酸菌には有効であり、tetracycline は streptomycin と同程度に有効であることがわかつた。

文 献

- 1) 正井秀雄: 抗結核剤耐性による抗酸菌の鑑別, 結核, 54: 297, 1979.
- 2) 永富鳳一他: 臨床分離非定型抗酸菌の同定および血清型別, 結核, 55: 519, 1980.
- 3) Schaefer, W.B.: Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination, Am Rev Respir Dis, 92: 85, 1965.
- 4) Wolinsky, E. and Schaefer, W.B.: Proposed numbering scheme for mycobacterial serotypes by agglutination, International J Systemic Bacteriol, 23: 182, 1973.