

原 著

Mycobacterium avium Complex 株の抗結核剤感受性の 特徴——*Mycobacterium tuberculosis* 株と対比して

束 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和62年2月10日

A COMPARATIVE STUDY OF THE SUSCEPTIBILITIES TO ANTITUBERCULOSIS AGENTS BETWEEN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AND *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX STRAINS

Michio TSUKAMURA *

(Received for publication February 10, 1987)

Clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* were considered as a group of homogeneous strains showing similar or, if any, only slightly different susceptibilities to antituberculosis agents, whereas those of *Mycobacterium avium* complex as a group of heterogeneous strains showing greatly different susceptibilities to the agents. The *M. avium* complex strains had been considered as resistant to most antituberculosis agents and their levels of the resistance were never studied in detail. The results of the present study revealed that they were not uniformly resistant but greatly different in their susceptibilities to antituberculosis agents.

Key words : *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium tuberculosis*, Susceptibility to antituberculosis agents

キーワード : *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium tuberculosis*, 抗結核剤感受性

はじめに

Mycobacterium avium complex が感受性検査でも、また実際の治療においても、抗結核剤に耐性を示すことは周知のとおりである¹⁾。ここに言う感受性検査での耐性とは、*Mycobacterium tuberculosis* の耐性境界値に基づく耐性で、具体的に *M. avium* complex がどの程度の耐性を示すかについては知見が少ない。個々の薬剤については若干の知見がある。例えば、Tsukamura²⁾ は、1972年に *M. avium* complex 117

株の Rifampicin 感受性を検討しているし、内藤ほか³⁾ は、15株についてアミノ配糖体及びペプチッド抗生物質感受性をみているし、水野ほか⁴⁾ は、1966年に49株で ethambutol 感受性をみている。これらの成績をみると、*M. avium* complex 株の感受性には、かなりの菌株差が認められる。しかし、同一菌種でも菌株により感受性の差があることは特に珍しいこととは言えない。感受性のバラツキが多い、少ないと言っても、何らかの対比に対する多い、少ないが具体的に述べられなければならない。本報では、*M. tuberculosis* と *M. avium*

* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

complex を比べて、その感受性のバラツキに差があるのかどうか比較してみることにした。比較にあたっては、抗結核剤を使用した患者の菌株は、当然、耐性度が上昇していることが考えられるので、抗結核剤使用前に分離した菌株同志で比較してみることにした。(注. 抗結核剤の使用によって、結核菌の耐性度が上昇することは、Streptomycin の出現以来、広く知られているが、最近、私共は、*M. avium* complex についても、抗結核剤使用により耐性度が上昇することを証明できた(別報の予定)。

方 法

被検株は、抗結核剤使用歴のない患者の喀痰から分離した *M. tuberculosis* 20 株及び *M. avium* complex 26 株である。これらの株の同定は、既報の方法⁴⁾によった。菌株の培養及び抗結核剤感受性検査には、「1%小川培地」を使用した。抗結核剤は滅菌前に添加し、次の濃度を用いた。Kanamycin (KM), Enviomycin (EVM) 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 0 $\mu\text{g/ml}$, Rifampicin (RFP) 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32, 0 $\mu\text{g/ml}$, Streptomycin (SM), Ethionamide (TH) 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.6, 0 $\mu\text{g/ml}$, Ethambutol (EB), Minocycline (MC), Sulfadimethoxine (SX), Kitasamycin (KT) 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.6, 0.8, 0.4, 0 $\mu\text{g/ml}$ 以上は、*M. avium* complex 株用で、*M. tuberculosis* 株用には、次の濃度を用いた。RFP 40~1.25, INH 0.2, 0.1, 0.05, 0.03, 0.02, 0.01, Sodium p-aminosalicylate (PAS) 0.2, 0.1,

0.05, 0.02, 0.01, SM, 40~1.25, KM 80~5, EVM 80~5, Capreomycin (CPM) 80~5, EB 8~0.25, TH 80~5, Cycloserine (CS) 80~10 $\mu\text{g/ml}$ (INH 及び PAS 以外は倍数希釈列)。この各々に、薬剤なしの対照培地を加えた。RFP, TH, SX は propylene glycol に、他は蒸留水に溶解し、終末濃度の 100 倍溶液を作り、その 1 容を滅菌前の培地 100 容に加えた。培地は 7 ml ずつ、165 × 16.5 mm の試験管に分注し、90 °C 60 分間滅菌して斜面培地とした。

被検株は、「1%小川培地」に 37 °C で 14 日間培養し(遅発育性の場合は 21 日間)、ガラス玉コルベンで振盪して均一化し、0.9% NaCl 水溶液に浮遊して、5 mg/ml (湿菌量) の菌液を作った。接種には渦巻白金耳を用い、菌液の 0.02 ml を各培地に塗抹接種した。試験管にダブルゴム栓をかぶせ、37 °C に培養し、*M. avium* complex は 14 日後に、*M. tuberculosis* は 21 日後に発育を観察した。最小発育阻止濃度 (MIC) は、膜状発育(薄膜状発育を含む)を示さない最小濃度として判定した。

成績・考察

M. tuberculosis 株は、INH 及び PAS に対する感受性が最も高く、次いで、EB, SM, RFP, TH, EVM, KM, CS, CPM の順であった。同一薬剤について、最小の「最小発育阻止濃度 (MIC)」と最大の MIC の比は、例えば RFP を例にとると、5 $\mu\text{g/ml}$: 10 $\mu\text{g/ml}$ = 1 : 2 であった。即ち、20 株の MIC は、5 $\mu\text{g/ml}$ から 10 $\mu\text{g/ml}$ であった。20 株の MIC の平均値は、8.8 ± 2.2 $\mu\text{g/ml}$ であった (Table 1)。ここに { (標準偏差) ÷

Table 1. The Susceptibilities to Antituberculosis Agents of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from Patients who did not Receive Previously Any Antituberculosis Agents

	Minimal inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$)		Ratio of MIC ^b	Deviation coefficient ^c (%)
	(M ± SD) ^a	Range		
Rifampicin	8.8 ± 2.2	5 - 10	1 : 2	25
Streptomycin	6.4 ± 2.9	2.5 - 10	1 : 4	45
Ethionamide	16.5 ± 7.5	10 - 40	1 : 4	45
Isoniazid	0.05 ± 0.01	0.05 - 0.1	1 : 2	20
Ethambutol	1.9 ± 0.7	0.5 - 4	1 : 8	37
Kanamycin	31.5 ± 10.9	10 - 40	1 : 4	35
Enviomycin	26.5 ± 13.5	10 - 40	1 : 4	51
Capreomycin	39.0 ± 20.0	20 - 80	1 : 4	51
p-Aminosalicylate	0.05 ± 0.03	0.02 - 0.1	1 : 5	60
Cycloserine	36.0 ± 8.2	20 - 40	1 : 2	23

a (M ± SD) = (Mean) ± (Standard deviation). The number of strains examined is 20.

b Ratio of the minimal inhibitory concentration (MIC), the lowest and the highest.

c (SD/M) × 100 %.

Table 2. The Susceptibilities to Antituberculosis Agents of *Mycobacterium avium* Complex Strains Isolated from Patients who did not Receive Previously Any Treatment with Antituberculosis Agents

	Minimal inhibitory concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		Ratio of the MIC ^b	Deviation coefficient ^c (%)
	(M $\pm$ SD) ^a	Range		
Rifampicin	108.3 $\pm$ 95.3	1.6 - >200	1 : >125	88
Streptomycin	71.2 $\pm$ 65.1	12.5 - >200	1 : > 16	91
Ethionamide	101.9 $\pm$ 77.0	12.5 - >200	1 : > 16	76
Isoniazid	69.1 $\pm$ 79.2	1.6 - >200	1 : >125	115
Ethambutol	21.3 $\pm$ 17.5	3.13 - >50	1 : > 16	82
Kanamycin	89.9 $\pm$ 100.4	12.5 - >400	1 : > 32	112
Enviomycin	63.0 $\pm$ 41.9	12.5 - 200	1 : 16	67
Sulfadimethoxine	35.8 $\pm$ 17.5	12.5 - > 50	1 : > 4	49
Kitasamycin	37.8 $\pm$ 18.0	3.13 - >50	1 : > 16	48
Minocycline	25.8 $\pm$ 21.9	0.8 - > 50	1 : > 64	85

a (M $\pm$ SD) = (Mean) $\pm$ (Standard deviation). The number of strains examined is 26. When the minimal inhibitory concentration could not be determined showing growth in the highest concentration used, this highest concentration was used, instead of the minimal inhibitory concentration, for calculating the mean concentration and the standard deviation.

b Ratio of the minimal inhibitory concentration, the lowest and the highest.

c (SD/M) $\times$ 100 %.

Remark. All 26 strains were resistant to p-aminosalicylate 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, and to cycloserine 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

(平均値) $\times$ 100 % を偏差係数と定義すると, RFP の場合は, $(2.2/8.8) \times 100 \% = 25 \%$ となった。

20 株の菌株の間の感受性のバラツキが小さいのは, RFP, INH, CS で, 偏差係数も, それぞれ, 25 %, 20 %, 23 % となった。その他の薬剤については, 最小, 最大の MIC の比は 1 : 4 ないし 1 : 8 あったが, 偏差係数は, 平均値の関係で PAS が 60 % で最大となった。それでも, 最小, 最大 MIC の比は, 1 : 2 から 1 : 8 で, 偏差係数は 20 ~ 60 % となった (Table 1)。

これに対して, *M. avium* complex 株では, 菌株間の感受性のバラツキは, はるかに大きい。例えば, RFP では, MIC が 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の株もあれば, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でも阻止されない株もある。従って, 最小 MIC は 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であるのに, 最大 MIC は 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であり, 最小と最大の MIC の比は, 1 : > 125 で, 先の *M. tuberculosis* の場合の 1 : 2 に比較してはるかにバラツキが大きい。MIC 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ として, MIC の平均値を計算すると, 108.3 $\pm$ 95.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となった (Table 2)。従って, 偏差係数は 88 % となり, *M. tuberculosis* の RFP 感受性についての偏差係数 25 % よりもはるかに大であった。しかも, この値は, MIC 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とみなしているのので, 実際の偏差係数は, この値よりやや大きいはずである。

他の薬剤についても同様に計算した結果を Table 2 に示

す。SX 感受性を例外として, 他の薬剤では, 最小と最大の MIC の比は, 1 : 16 から 1 : > 125 で, *M. tuberculosis* の場合よりもはるかにバラツキが大きい。偏差係数も 48 ~ 115 % で, SX と KT を除いて, すべて *M. tuberculosis* の偏差係数より大きい。

次に, *M. avium* complex に対する抗結核剤の阻止濃度であるが, 一応小さいものから並べると次のようになる (Table 2)。EB < MC < SX < KT < EVM < INH < SM < KM < TH < RFP。

実際の臨床効果は, 菌の感受性と血中濃度 (病巣中濃度) に関係するであろうから, 上述の順序は, 臨床効果とは関係がない。しかし, 概観して表 2 の MIC の平均値は, これらの薬剤の血中濃度よりも高いので, 抗結核剤が *M. avium* complex の感染症にあまり著明な効果がない理由も説明できる。しかし, *M. avium* complex の感受性には, 大きいバラツキがあるので, MIC の小さい菌株には抗結核剤がある程度効果がある可能性も考えられる。即ち, MIC が血中濃度より低い株も一部あることは確かで, これらの菌株の感染症に対して, RFP, SM, INH, EB, EVM などの抗結核剤が効を奏することもあると思われる。

更に, 明確な結論は出せないが, 抗結核剤に対する感受性が高い株は, 種々の抗結核剤に対して感受性が高い傾向があるように思われた。そして, 逆に, 低い株は多くの抗結核剤に対して感受性が低い傾向があると思われ

た。ただし、INH と SX に対する感受性は連関がないように思われた。

Table1 及び 2 に示すように、*M. avium* complex に対する抗結核剤の MIC は、*M. tuberculosis* と比較してはるかに大きい。この機作としては、plasmid, permeability barrier の違いなどが考えられているが、私共は、それに論及する知識がないので、ここには触れない。ただ、本報に示したように、同じ *M. avium* complex でも、菌株によって感受性に大差があることは、耐性に関与する因子が単一なものではなく、かなり複雑な機構によることが示唆される。

結 論

M. tuberculosis 株では、抗結核剤感受性の菌株差が小で、菌株による最小発育阻止濃度 (MIC) のバラツキは、測定誤差を含めて大抵の場合、1:2 か 1:4 の間に留まる。これに対して、*M. avium* complex 株では菌株差が大で、菌株による MIC のバラツキは、Sulfadimethoxine を除き、1:16 から 1:125、あるいは、それ以上である。また、*M. avium* complex の発育阻止に要する MIC を示した。

文 献

- 1) 束村道雄他 (国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班) : *Mycobacterium avium-intracellulare* complex による肺感染症の臨床像, 結核, 51:41, 1976.
- 2) Tsukamura, M. : Susceptibility of *Mycobacterium intracellulare* to Rifampicin: A trial of ecological observation, Jpn J Microbiol, 16:444, 1972.
- 3) 内藤祐子他: 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, 結核, 54:423, 1979.
- 4) 水野松司・束村道雄他: 種々の抗酸菌の Ethambutol 感受性について, 日本細菌学雑誌, 41:672, 1966.
- 5) Tsukamura, M.: Identification of mycobacteria, p.1-90, The National Chubu Hospital, Obu, Aichi, 1984.