

原 著

Rifabutin 並びに Rifampicin の 7H10 寒天培地並びに
小川培地における抗マイコバクテリア活性の比較

佐藤 勝昌・斎藤 肇・富岡 治明

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 昭和 63 年 4 月 20 日

COMPARATIVE *IN VITRO* ACTIVITIES OF RIFABUTIN AND
RIFAMPICIN AGAINST VARIOUS MYCOBACTERIA
USING 7H10 AGAR AND 1% OGAWA EGG MEDIA

Katsumasa SATO*, Hajime SAITO and Haruaki TOMIOKA

(Received for publication April 20, 1988)

In vitro antimicrobial activities of rifabutin (RFB) and rifampicin (RFP) against *Mycobacterium tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. avium* complex, *M. fortuitum* and *M. chelonae* were evaluated using 7H10 agar and 1% Ogawa egg medium. RFB showed appreciable antimicrobial activity against RFP-sensitive *M. tuberculosis* ($MIC_{90}=0.05 \mu\text{g/ml}$), *M. kansasii* ($0.05 \mu\text{g/ml}$), *M. scrofulaceum* ($1.56 \mu\text{g/ml}$), and *M. avium* complex ($0.78 \mu\text{g/ml}$) when MICs were determined on 7H10 agar medium. The activity of RFB was higher than that of RFP in all organisms tested. In the case of both the antimicrobials, their MIC values against test organisms were considerably lower by using 7H10 agar medium instead of Ogawa egg medium.

Key words : *M. tuberculosis*, *M. avium* complex, Various mycobacteria, Rifabutin, Rifampicin

キーワード : *M. tuberculosis*, *M. avium* complex, 諸種抗酸菌, Rifabutin, Rifampicin

はじめに

諸種抗菌剤の *in vitro* 活性は種々の要因によって左右されるが、生体内における抗菌力を正しく反映する測定法が望ましいことは言をまたないところである。わが国における抗酸菌の薬剤感受性試験には小川培地が最も広く用いられているが、欧米諸国では Löwenstein-Jensen 培地が、加えるに米国では血清アルブミンを添

加した寒天培地、例えば 7H10 寒天あるいは 7H11 寒天もよく用いられているところである。ところで、諸種の抗酸菌種について、これらの寒天培地を用いた場合の薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) と小川培地におけるそれとを比較した実験は少なく、したがって、これらの成績を相互に比較することは困難である。そこで、今回は Rifabutin (RFB) と Rifampicin (RFP) をとりあげ、これら両薬剤の小川培地と 7H10 寒天培地における

* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo 693 Japan.

抗マイコバクテリア活性を比較したので以下報告する。

材料と方法

1. 菌株

Mycobacterium tuberculosis 15株, *M. kansasii* 10株, *M. scrofulaceum* 10株, *M. avium* complex 15株, *M. fortuitum* 5株, *M. chelonae* subsp. *abscessus* 5株および *M. chelonae* subsp. *chelonae* 5株の計 65株を既報¹⁾ のようにして純化したものを実験に供した。なお, *M. avium* complex はいずれも本菌感染症患者より分離され, 7H10 寒天平板上で平滑, 透明, 扁平, 辺縁不規則な集落形態を有するものを用いた。

2. 薬剤

Rifabutin (Farmitalia Carlo Erba, Italy) 並びに Rifampicin (第一製薬) を供試した。

3. 薬剤感受性試験

1) 7H10 寒天平板法

供試薬剤の 100~0.0125 $\mu\text{g/ml}$ に至る 2 倍階段希釈液を含む 7H10 寒天平板上に, Dubos Tween[®]-albumin 培地 (Difco) 培養菌 (約 10^6 CFU/ml) の 5 μl (約 5×10^3 CFU) を Microplanter (Model MIT-P, 佐久間製作所) を用いてスポットした。そして, 5% CO₂ 環境下で遅発育菌は 37°C, 14 日, また迅速発育菌は 37°C (*M. chelonae* subsp. *chelonae* は 33°C), 7 日培養後に発育がまったくみられないか, または 5 個以下の集落発生しかみられなかったところの培地含有薬剤濃度をもって供試菌に対する MIC とした。

2) 小川培地法

上記と同濃度の薬剤を含む 1% 小川培地上に, Dubos 培地培養菌 (約 5×10^4 CFU/ml) の 0.1 ml を接種し,

遅発育菌は 37°C, 4 週, また迅速発育菌は 37°C (33°C), 1 週培養後において上述したと同様の基準に従って MIC の判定をおこなった。

結果

Table 1 は RFP の諸種抗酸菌に対する MIC を示した。MIC₉₀ の求めえた菌種についてみると, 7H10 寒天培地では RFP 感受性 *M. tuberculosis* が 0.2 $\mu\text{g/ml}$, *M. kansasii* が 0.2 $\mu\text{g/ml}$, *M. scrofulaceum* が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ および *M. avium* complex が 50 $\mu\text{g/ml}$ であったが, 小川培地ではそれぞれ 12.5, 12.5, 25 および >100 $\mu\text{g/ml}$ であって, いずれも 7H10 寒天培地におけるよりも高い MIC₉₀ を示し, 7H10 寒天培地における MIC が小川培地におけるよりも高く表現されることがわかった。このことは, *M. fortuitum* 並びに *M. chelonae* についても同様であった。

RFB の諸種抗酸菌に対する MIC を Table 2 に示した。MIC₉₀ を求めえた菌種についてみると, 7H10 寒天培地では RFP 感受性 *M. tuberculosis* が 0.05 $\mu\text{g/ml}$, *M. kansasii* が 0.05 $\mu\text{g/ml}$, *M. scrofulaceum* が 1.56 $\mu\text{g/ml}$ および *M. avium* complex が 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。他方, 小川培地ではそれぞれ 1.56, 1.56, 12.5 および 50 $\mu\text{g/ml}$ でいずれも 7H10 寒天培地におけるよりも高い MIC₉₀ を示した。MIC₉₀ を求めえなかった菌種 (*M. fortuitum* 並びに *M. chelonae*) でも同様な傾向がうかがわれた。さらに, いずれの菌株においても, RFP の場合と同様に, 小川培地上における MIC は 7H10 寒天培地のそれよりも高く表現されることがわかった。

RFB の *in vitro* 抗マイコバクテリア活性は 7H10 寒天培地あるいは小川培地の別なく RFP のそれよりも高

Table 1. Susceptibility of various mycobacteria to rifampicin

Organism	Number of organisms	MICs ($\mu\text{g/ml}$)			
		7H10		Ogawa	
		Range	MIC ₉₀ ^{a)}	Range	MIC ₉₀
<i>M. tuberculosis</i>					
Rifampicin-resistant	5	50 — 100	— ^{b)}	> 100	—
Rifampicin-sensitive	10	0.025 — 0.2	0.2	6.25 — 25	12.5
<i>M. kansasii</i>	10	0.025 — 0.2	0.2	3.13 — 25	12.5
<i>M. scrofulaceum</i>	10	0.1 — 6.25	6.25	1.56 — 25	25
<i>M. avium</i> complex	15	1.56 — 50	50	25 — > 100	> 100
<i>M. fortuitum</i>	5	12.5 — 100	—	> 100	—
<i>M. chelonae</i> (<i>abscessus</i>)	5	100 — > 100	—	> 100	—
<i>M. chelonae</i> (<i>chelonae</i>)	5	25 — > 100	—	> 100	—

a) MIC at which 90% of strains were inhibited.

b) Not determined.

Table 2. Susceptibility of various mycobacteria to rifabutin

Organism	Number of organisms	MICs ($\mu\text{g/ml}$)			
		7H10		Ogawa	
		Range	MIC ₉₀ ^{a)}	Range	MIC ₉₀
<i>M. tuberculosis</i>					
Rifampicin-resistant	5	6.25 — 12.5	— ^{b)}	100 — >100	—
Rifampicin-sensitive	10	0.025 — 0.05	0.05	0.78 — 1.56	1.56
<i>M. kansasii</i>	10	≤ 0.0125 — 0.1	0.05	0.2 — 6.25	1.56
<i>M. scrofulaceum</i>	10	0.025 — 1.56	1.56	0.78 — 12.5	12.5
<i>M. avium</i> complex	15	0.025 — 1.56	0.78	3.13 — 50	50
<i>M. fortuitum</i>	5	1.56 — 3.13	—	12.5 — 100	—
<i>M. chelonae</i> (abscessus)	5	12.5	—	100 — >100	—
<i>M. chelonae</i> (chelonae)	5	3.13 — 25	—	50 — >100	—

a) MIC at which 90% of strains were inhibited.

b) Not determined.

いことが明らかになった。

考 察

今回の成績は、RFBはRFPよりも強い *in vitro* 抗マイコバクテリア活性を有するという先の報告^{1)~3)}を追認するものであり、また供試した65株のすべてにおいて、小川培地でのRFB並びにRFPの *in vitro* 抗マイコバクテリア活性は7H10寒天培地におけるよりも低く表現されることがわかった。SakuraiとKuze⁴⁾はRFBとRFPの *M. avium* complex に対するMICを小川培地、Dubos液体培地および10%牛血清加キルヒナ液体培地によって測定したところ、RFBの *in vitro* 抗菌力はいずれの培地においてもRFPのそれよりも優れていること、またキルヒナ液体培地による抗菌活性はDubos液体培地によるそれよりも低く表現され、小川培地による抗菌活性はこれら以上に低く表現されることを報告している。ところで、結核菌の薬剤耐性検査に際して、小川培地による阻止濃度とKirchner寒天培地あるいは半流動寒天培地によるそれとの間には、使用した培地の種類によってかなり異なることが古くから知られている^{5)~7)}。すなわち、Streptomycin, Kanamycin, RFP, Ethionamideでは小川培地でのMICが血清加培地よりも高く、逆にIsoniazid, *p*-Aminosalicylic acid (PAS), Ethambutolでは若干低いかあるいはほぼ同程度に表現されるといわれている。この薬剤の力価低下の原因としてはいまだに確たる証明はなされていないが、工藤ら⁸⁾は薬剤の卵培地による吸着が主な原因であろうと述べている。いずれにしても、7H10寒天培地によるRFP並びにRFBのMICは、小川培地におけるよりも低く表現されることがわかった。

ま と め

Mycobacterium tuberculosis, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. avium* complex, *M. fortuitum* および *M. chelonae* に対する Rifabutin (RFB) 並びに Rifampicin (RFP) の7H10寒天培地並びに1%小川培地上における *in vitro* 抗菌活性を比較検討し、以下の知見を得た。

1) いずれの菌株においても培地の別なくRFBのMICはRFPのそれよりも低かった。

2) 小川培地による両薬剤の供試菌に対する *in vitro* 抗菌活性は、7H10寒天培地におけるよりも低かった。

謝 辞

供試薬剤を御提供いただいた Farmitalia Carlo Erba 並びに第一製薬に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 斎藤 肇, 佐藤勝昌他: Rifabutine 並びに Rifampicin の諸種抗酸菌, 特に *Mycobacterium tuberculosis* と *Mycobacterium avium* complex に対する *in vitro* 抗菌作用, 結核, 63: 167, 1988.
- 2) Sanfilippo, A. et al.: Biological activity of a new class of rifamycins spiro-piperidyl-rifamycins, J Antibiot, 33: 1193, 1980.
- 3) Tsukamura, M.: Two groups of *Mycobacterium avium* complex strains determined according to the susceptibility to rifampicin and ansamycin, Microbiol Immunol, 31: 615, 1987.

- 4) Sakurai, N. and Kuze, F. : *In vitro* and *in vivo* chemotherapeutic activity of rifabutin (LM 427) on *Mycobacterium avium-intracellulare* complex, 京大胸部研紀要, 20 : 50, 1987.
- 5) 賀来隆二 : 集落計数可能な培地における抗結核剤の抗菌力表現の差異に関する研究, 第1報, 1%小川培地, キルヒナー寒天培地およびキルヒナー半流動培地における抗菌力の差異, 結核, 38 : 517, 1963.
- 6) 工藤祐是, 工藤 禎 : 抗結核薬の試験管内抗菌濃度と卵培地におけるその表現, 結核, 43 : 9, 1968.
- 7) 田村昌敏他 : 各種の因子が Rifampicin の結核菌最低発育阻止濃度に及ぼす影響に関する研究, 結核, 48 : 463, 1973.