

原 著

Mycobacterium kansasii および *Mycobacterium xenopi*
感染症の治療薬として期待される Sulfadimethoxine

—Sulfadimethoxine 感受性試験による *M. kansasii* と *M. marinum*
の区別および *M. gordonae* と *M. scrofulaceum* の区別—

束 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和 63 年 9 月 9 日

SULFADIMETHOXINE AS A PROMISING DRUG IN THE TREATMENT
OF INFECTIONS CAUSED BY *MYCOBACTERIUM KANSASII*
AND *MYCOBACTERIUM XENOPI*

—Differentiation between *M. kansasii* and *M. marinum* and between *M. gordonae*
and *M. scrofulaceum* by the susceptibility testing to Sulfadimethoxine—

Michio TSUKAMURA *

(Received for publication September 9, 1988)

Susceptibility testing to sulfadimethoxine of various mycobacteria was made using Ogawa egg medium containing various concentrations of the drug. Each medium was inoculated by a 0.02 ml-sample of bacterial suspensions (10 mg wet weight per ml) prepared from 10 day-old (*M. tuberculosis*, 14 day-old) cultures growing on Ogawa egg medium after homogenizing the bacteria by shaking with glass beads. The media inoculated were incubated at 37°C for 14 days (*M. marinum*, at 28°C). The minimal inhibitory concentration (MIC) was determined as the lowest drug concentration on which the growth of bacteria was completely inhibited. However, residual growth occurred often. This was regarded as negative growth, because control medium containing no drug always exhibited abundant membranous growth.

Of the mycobacteria tested, *M. kansasii* (MICs, 0.8–3.2 µg/ml) and *M. xenopi* (MICs, 0.2–3.2 µg/ml) were most susceptible to this drug. Other mycobacteria showed the MICs higher than 3.2 µg/ml. The drug seemed to be useful in the treatment of infections caused by *M. kansasii* and *M. xenopi*. Furthermore, the susceptibility testing to sulfadimethoxine was considered to be useful for differentiation between two photochromogens, *M. kansasii* and *M. marinum* and for differentiation between two scotochromogens, *M. scrofulaceum* and *M. gordonae* (Fig. 3 and 4).

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

Key words : *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium gordonae*, sulfadimethoxine

キーワード : *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium gordonae*, sulfadimethoxine

緒 言

Sulfadimethoxine (SX) は, *Mycobacterium avium* complex に対して試験管内抗菌力を示すことが報告され¹⁾, 実際に治療にも試用された²⁾。その後, われわれは, SX の発育阻止作用について実験した結果, *Mycobacterium kansasii* と *Mycobacterium xenopi* に対して最も強い作用をもつことが分かった。また, SX 感受性試験が, Group I photochromogens の *M. kansasii* と *Mycobacterium marinum* を区別するのに有用であり, Group II scotochromogens の *Mycobacterium scrofulaceum* と *Mycobacterium gordonae* を区別するのに役立つことを知りえたので報告する。

方 法

使用した菌株は次のごとくである。*Mycobacterium tuberculosis* 30 株, *M. avium* complex 64 株, *M. scrofulaceum* 30 株, *M. kansasii* 30 株, *M. marinum* 26 株, *M. szulgai* 15 株, *M. xenopi* 14 株, *M. malmoense* 13 株, *M. nonchromogenicum* 20 株, *M. gordonae* 30 株, *M. fortuitum* 20 株の合計 292 株である。この中で, *M. nonchromogenicum* のみは土壌から分離された。*M. gordonae* は, 患者喀痰から単発性分離株として分離された。また, *M. marinum* の半数 13 株は魚から分離され, 他の 13 株はヒトの皮膚病変から分離された。*M. malmoense* の全株と *M. xenopi* の 13 株は, 外国で患者から分離された。また, *M. scrofulaceum* の一部も外国人のリンパ節炎起因株である。他の株は, すべてわが国の分離株で, 感染症を起こしたと思われる患者から, 化学療法前に分離した。これらの株は, 既報の方法によって同定し^{3)~5)}, 凍結乾燥または -20°C 凍結によって保存した。

培地は「1%小川培地」を使用した。SX は, まず propylene glycol に溶解し, その 1 容を滅菌前の小川培地 100 容に添加して所定の濃度を得た。SX の濃度は, 倍数希釈列で, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.2, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2 および $0\mu\text{g/ml}$ とした。小川培地は, 7 ml ずつ $165\times 16.5\text{ mm}$ の試験管に分注し, 90°C 60 分滅菌することにより斜面培地とした。接種に用いた菌株は, 小川培地に 10 日間 (*M. tuberculosis* は 14 日, *M. for-*

tuition は 3 日) 培養した後, 集落をガラス玉コルペンで 5 分間振盪して均一化し, 0.1% Tween 80 水溶液に, 湿菌量 10 mg/ml に浮遊したものを接種源とした。すなわち, この菌液の 0.02 ml ずつを渦巻白金耳で培地に塗抹接種した。接種した試験管に, 底に 3 mm の切れ目の入ったダブルゴム栓を覆せ 37°C に培養した。*M. marinum* も分離後継代した株は, 37°C でよく発育したので 37°C で培養した。最小発育阻止濃度 (MIC) の判定は, 14 日培養後に行ったが, *M. tuberculosis* は 21 日後, *M. fortuitum* は 5 日培養後に判定した。MIC の判定は, 完全発育阻止濃度を取ったが, 場合により, 完全阻止濃度と対照同様の菌膜状発育を示す濃度の中間濃度で, 小範囲の僅少の発育 (residual growth) がみられることがあった。この場合, この中間濃度 (対照よりも急に発育が減少した濃度) をもって MIC とした。このような “residual growth” は, サルファ剤の抗酸菌に対する作用が, 発育遅延的であるために起こると思われる⁶⁾。しかし, SX の場合, 他のサルファ剤, 例えば sulfamethoxazole などと比較すると, その発育阻止作用が強く, 他のサルファ剤のように MIC の判定に迷うことは, ほとんどなかった。

成 績

成績は, Fig. 1~4 に示した。SX に対して最も高い感受性を示したのは, *M. kansasii* (MIC, $0.8\sim 3.2\mu\text{g/ml}$) と *M. xenopi* (MIC, $0.2\sim 3.2\mu\text{g/ml}$) であった。他の菌種に対する MIC は, $3.2\mu\text{g/ml}$ 以上であった。

M. kansasii と *M. marinum* は, とともに Group I photochromogens に属するが, *M. kansasii* は, 30 株全部が $3.2\mu\text{g/ml}$ で阻止され, 一方, *M. marinum* は, 26 株全部が, $3.2\mu\text{g/ml}$ で発育した (Fig. 3)。また, *M. scrofulaceum* と *M. gordonae* は, とともに Group II scotochromogens の members であるが, *M. scrofulaceum* の 30 株中 27 株 (90%) まだが, SX $12.5\mu\text{g/ml}$ に発育したが, *M. gordonae* は, 30 株中 29 株 (97%) まだが, この濃度で発育を阻止された (Fig. 4)。(注: Fig. 3 は Fig. 1 より *M. kansasii* と *M. marinum* の成績を抽出した。また, Fig. 4 の *M. scrofulaceum* の成績は Fig. 1 より再掲。)

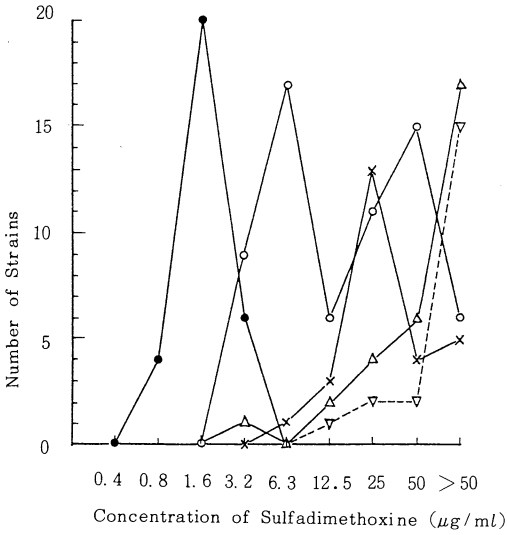


Fig. 1. Distributions of the minimal inhibitory concentrations determined in Ogawa egg medium : *M. avium* complex ($\circ-\circ$); *M. kansasii* ($\bullet-\bullet$); *M. scrofulaceum* ($\triangle-\triangle$); *M. marinum* ($\times-\times$) and *M. fortuitum* ($\nabla\cdots\nabla$).

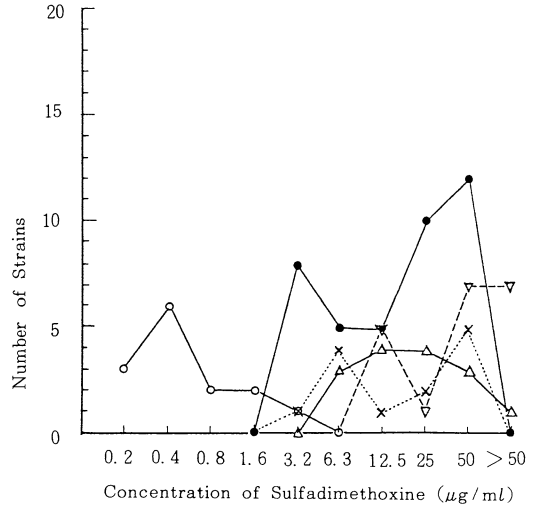


Fig. 2. Distributions of the minimal inhibitory concentrations determined in Ogawa egg medium : *M. tuberculosis* ($\bullet-\bullet$); *M. xenopi* ($\circ-\circ$); *M. szulgai* ($\triangle-\triangle$); *M. nonchromogenicum* ($\nabla-\nabla$); *M. malmoeense* ($\times\cdots\times$).

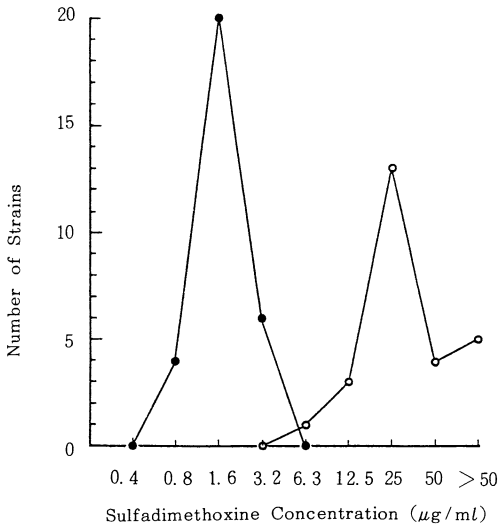


Fig. 3. Differentiation between *Mycobacterium kansasii* ($\bullet-\bullet$) and *Mycobacterium marinum* ($\circ-\circ$) by susceptibility testing to sulfadimethoxine.

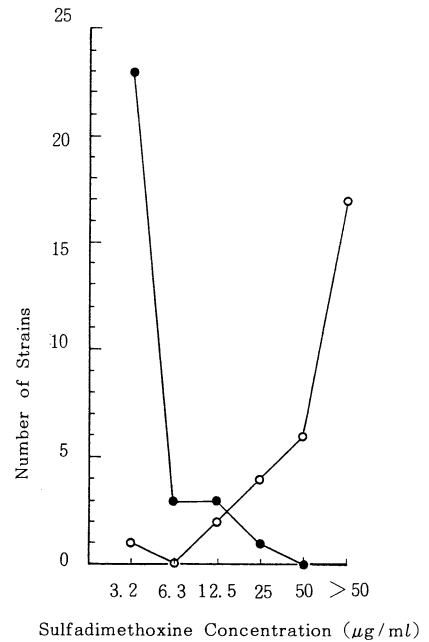


Fig. 4. Differentiation between *Mycobacterium scrofulaceum* ($\circ-\circ$) and *Mycobacterium gordonae* ($\bullet-\bullet$) by susceptibility testing to sulfadimethoxine.

考 察

SX は、かつてわが国で INH と併用して肺結核の治療に用いられたが、その効果は、無効とはいえないが、PAS に劣るとされ⁷⁾、RFP の出現後、ほとんど臨床的に使用されなくなった。今、結核菌 (*M. tuberculosis*) に対する SX の MIC をみると、Fig. 2 に示すように、MIC は $3.2 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ で感受性の幅ははなはだ広い。この被検株 30 株は、いずれも抗結核剤未使用の患者 30 名から、入院当初に分離されたものである。したがって、SX に対する感受性は、菌株差がかなり大きいといわねばならぬ。一方、山田など⁸⁾によると、SX 1 g 内服後の血中濃度は $30 \sim 60 \mu\text{g/ml}$ が 12 時間以上持続するという。この血中濃度をみると、SX が臨床的にも、かなり有効であってもよいと思われるが、事実はそうではない。この間の事情は、抗結核剤では PAS に似ている。われわれの実験では、PAS の結核菌に対する発育阻止濃度 (小川培地) は、わずか $0.05 \sim 0.1 \mu\text{g/ml}$ である。一方、その血中濃度は、 $3 \sim 6 \text{ g}$ 内服後に $14 \sim 80 \mu\text{g/ml}$ に達するという⁹⁾。PAS もサルファ剤も *p*-aminobenzoic acid によって拮抗される点で類似している。これと関係があるかどうか分からないが、生体内で抗菌力を発揮するのを阻害するなんらかの要素が存在するのではないと思われる。しかし、PAS が生体内である程度有効であるように、サルファ剤も決して無効ではないと思われる。最近、Ahn et al.¹⁰⁾ は、RFP 耐性の *M. kansasii* 感染症に対して sulfamethoxazole (=sulfisomezole) を含む regimens を使用し有効であったと報告している。われわれの実験では、sulfamethoxazole の *M. kansasii* に対する MIC は、 $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以上で SX よりも大分弱い。したがって、sulfamethoxazole がある程度有効であれば、SX はより有効であろうと思われる。*M. kansasii* および *M. xenopi* は SX に高い感受性を示すので、治療に効果が期待できるのではないと思われる。

なお、われわれは、前に sulfamethoxazole (sulfisomezole) の *M. avium* complex に対する試験管内発育阻止作用を検討したが、SX よりもかなり抗菌力が弱かった¹⁾。

また、SX 感受性検査は、若干の抗酸菌の鑑別にも有用であることが分かった。*M. kansasii* と *M. marinum* は、ともに Group I photochromogens の members であり、両者の鑑別が必要である¹¹⁾。SX 感受性テストは、簡単であり、確実に両者を区別することができる (Fig. 3)。*M. kansasii* は、全株が SX $3.2 \mu\text{g/ml}$ (実際には $3 \mu\text{g/ml}$ を用いればよい) に感受性で、この濃度で完全に発育が阻止される。一方、*M. marinum* は、全株が、この濃度でよく発育する。したがって、 $3.2 \mu\text{g/}$

ml 含有の培地で両者の区別ができる。

また、*M. scrofulaceum* と *M. gordonae* は、ともに Group II scotochromogens に属し、両者の区別は臨床上重要である。現在、この区別のために、Tween 水解試験¹²⁾ と Ethambutol 感受性テスト¹³⁾ があるが、若干の例外があり、時に区別に困難を感じる時がある。SX 感受性テストは、第 3 のテストとして大いに役立つのではないと思われる。*M. scrofulaceum* は、90 % の株が SX $12.5 \mu\text{g/ml}$ 培地に発育可能であるが、*M. gordonae* の株は、その 97 % が、この濃度に発育しない (Fig. 4)。したがって、SX $12.5 \mu\text{g/ml}$ 培地を使用することにより、たいいていの場合、この両者を区別し得られると思われる。

結 論

M. kansasii と *M. xenopi* は、sulfadimethoxine (SX) に感受性が高く、全株が $3.2 \mu\text{g/ml}$ で発育阻止を受ける。したがって、SX が、この両者の感染症に臨床的にも有効であることが期待される。*M. avium* complex に対する発育阻止濃度は、 $3.2 \sim >50 \mu\text{g/ml}$ であった。

SX 感受性試験は、*M. kansasii* と *M. marinum* の区別および *M. scrofulaceum* と *M. gordonae* の区別にも役立つ。*M. kansasii* は、 $3.2 \mu\text{g/ml}$ で全株が発育を阻止され、*M. marinum* は、全株が、これに発育する。また、*M. scrofulaceum* は、90 % の株が SX $12.5 \mu\text{g/ml}$ 培地に発育するのに対して、*M. gordonae* は、97 % の株が、これに発育できない。

文 献

- 1) 東村道雄 : Sulfadimethoxine と kitasamycin の *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare* complex にたいする発育阻止作用, 結核, 58 : 247~250, 1983.
- 2) 東村道雄 : Sulfadimethoxine, minocycline および kitasamycin の併用による *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare* complex 肺感染症の治療, 結核, 59 : 33~37, 1984.
- 3) Tsukamura, M. : Numerical classification of slowly growing mycobacteria, Int J Syst Bacteriol, 26 : 409~420, 1976.
- 4) Tsukamura, M. : Numerical analysis of rapidly growing, nonphotochromogenic mycobacteria, including *Mycobacterium agri* (Tsukamura 1972) Tsukamura sp. nov., nom rev Int J Syst Bacteriol, 31 : 247~258, 1981.
- 5) Jenkins, P. A. and Tsukamura, M. : Infections with *Mycobacterium malmoense* in

- England and Wales, Tubercle, 60 : 71-76, 1979.
- 6) Tsukamura, M., Noda, Y. and Yamamoto, M. : The nature of antituberculous action of sulfisoxazole, Chemotherapy, 6 : 165-170, 1958.
- 7) 国立療養所結核化学療法共同研究班 : Sulfa 剤, pyrazinamide 及び INH 誘導体の評価, 日本胸部臨床, 22 : 323-337, 1963.
- 8) 山田生郷, 渡辺十郎, 阿部光夫, 京極啓義 : Sulfa-dimethoxine (sulxin) の血中並びに尿中排泄濃度およびその抗菌力, 内科の領域, 9 : 46-54, 1961.
- 9) Philips, S., Larkin, J. S., Jr. and Litzenberg, W. A. : Experience with high doses of para-aminosalicylic acid in the treatment of pulmonary tuberculosis, Dis Chest, 21 : 521-526, 1952.
- 10) Ahn, C. H., Wallace, R. J., Steele, L. C. et al. : sulfonamide-containing regimens for disease caused by rifampin-resistant *Mycobacterium kansasii*, Am Rev Respir Dis, 135 : 10-16, 1987.
- 11) Tsukamura, M., Mizuno, S., Murata, H. et al. : Differentiation between *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium marinum*, Am Rev Respir Dis, 107 : 145-148, 1973.
- 12) Wayne, L. G., Doubek, J. R., and Russell, R. L. : Classification and identification of mycobacteria. I. Tests employing Tween 80 as substrate, Am Rev Respir Dis, 90 : 588-597, 1964.
- 13) 束村道雄 : Ethambutol 耐性による病源性および非病源性抗酸菌 (Group II および Group III) の区別, 結核, 45 : 237-240, 1970.