

原 著

試験管内感受性検査からみた Streptomycin, Kanamycin および
Enviomycin の非定型抗酸菌症に対する臨床効果の推定

東 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和 63 年 11 月 7 日

IN VITRO SUSCEPTIBILITY TESTING OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA
TO STREPTOMYCIN, KANAMYCIN AND ENVIOMYCIN

Michio TSUKAMURA *

(Received for publication November 7, 1988)

In vitro susceptibility testing to streptomycin, kanamycin and enviomycin was carried out in nontuberculous mycobacteria and the results were compared with those of *M. tuberculosis* strains. Among nontuberculous mycobacteria tested, only *M. xenopi* strains exhibited similar minimal inhibitory concentration (MIC) values to streptomycin with *M. tuberculosis* strains. On the other hand, *M. xenopi*, *M. malmoense* and *M. marinum* strains showed the same MIC values to kanamycin with the MIC values for *M. tuberculosis* strains. The MICs of enviomycin for *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. szulgai*, *M. xenopi* and *M. marinum* strains were similar to those for *M. tuberculosis* strains. Out of 64 strains of *M. avium* complex, the MIC value similar to that for *M. tuberculosis* strains was shown in 16% of strains to streptomycin, in 42% of strains to kanamycin, and in 50% of strains to enviomycin.

Key words : *In vitro* susceptibility testing, Streptomycin, Kanamycin, Enviomycin, Nontuberculous mycobacteriosis, Estimation of clinical effectiveness.

キーワード : 試験管内感受性検査, Streptomycin, Kanamycin, Enviomycin, 非定型抗酸菌症, 臨床効果の推定

緒 言

Streptomycin (SM), kanamycin (KM), enviomycin (EVM) の筋肉注射で使用される 3 薬剤は、これまで、*Mycobacterium avium* complex 感染症、*Mycobacterium kansasii* 感染症の治療に、rifampicin (RFP), ethambutol (EB) などの他抗結核剤

と併用して用いられてきた(東村¹⁾²⁾, 総説参照)。しかしながら、その使用に明確な基礎があるわけではなく、結核化学療法の延長として漫然と使用された感みがある。そこで、われわれは、これら 3 剤の非定型抗酸菌 (nontuberculous mycobacteria) に対する発育阻止作用を測定し、その使用に根拠があるかどうか検討しようと試みた。

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

方 法

使用した菌株は前報³⁾と同一の合計 295 株である。これらの菌株につき、「1%小川培地」を用いて、SM, KM, EVM に対する感受性を測定し、最低発育阻止濃度 (MIC) として表した。Streptomycin sulfate (明治製菓, 東京), kanamycin sulfate (明治製菓, 東京) および enviomycin sulfate (東洋醸造, 静岡) は、蒸留水に溶解し、その 1 容を、滅菌前の小川培地 100 容に加えて所要の濃度とした。感受性試験に使用した濃度は、SM, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.6, 0.8 $\mu\text{g/ml}$, KM と EVM は 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.6, 0 $\mu\text{g/ml}$ であった。被検株は、10 mg/ml 菌液とし、その 0.02 ml ずつを渦巻白金耳で各培地に接種した。発育の観察は、37°C 14 日培養後に行った (*M. tuberculosis* と *M. xenopi* は 21 日培養後、*M. fortuitum* は 5 日培養後)。方法の詳細は前報³⁾に記載した。

成 績

成績は、Fig. 1~9 に示した。

1) Streptomycin 感受性 (Fig. 1~3)

M. tuberculosis 20 株に対する SM の MIC は、3.2

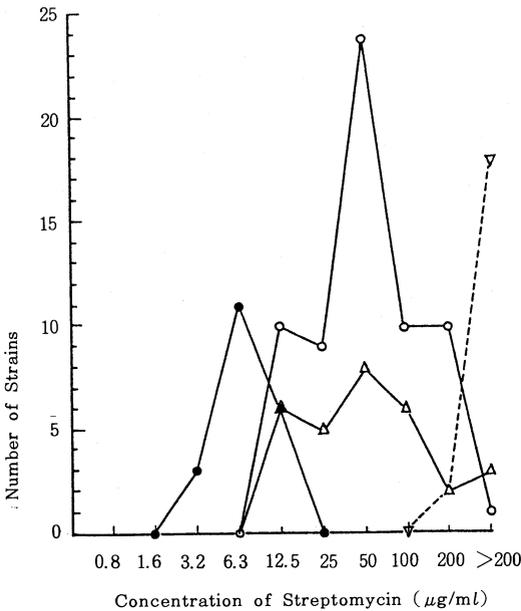


Fig. 1. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of streptomycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●—●), 64 strains of *M. avium* complex (○—○), 30 strains of *M. scrofulaceum* (Δ — Δ), and 20 strains of *M. fortuitum* (∇ — ∇).

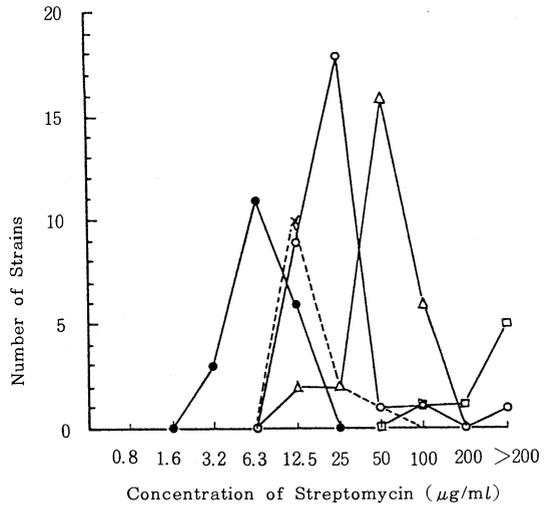


Fig. 2. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of streptomycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●—●), 30 strains of *M. kansasii* (○—○), 26 strains of *M. marinum* (Δ — Δ), 13 strains of *M. malmoense* (×—×), and 7 strains of *M. simiae* (□—□).

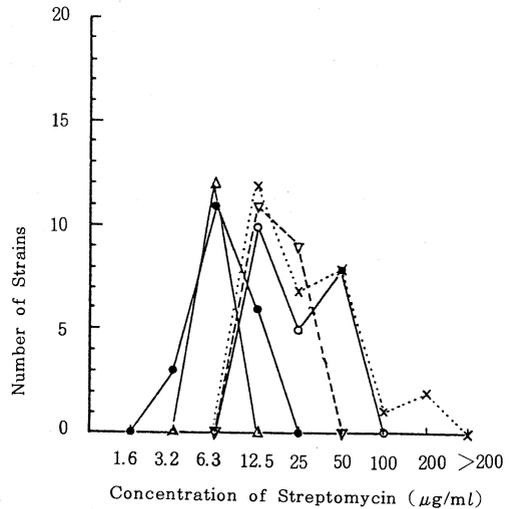


Fig. 3. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of streptomycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●—●), 23 strains of *M. szulgai* (○—○), 12 strains of *M. xenopi* (Δ — Δ), 20 strains of *M. nonchromogenicum* (∇ — ∇), and 30 strains of *M. gordonae* (×—×).

~12.5 µg/mlであった。*M. avium* complex 64株に対するMICは、12.5~>200 µg/ml、*M. scrofulaceum* 30株に対するMICもほぼ同じで、12.5~>200 µg/mlであった。*M. fortuitum* 20株に対するMICは、200 µg/mlまたはそれ以上であった。また、*M. kansasii* 30株に対するMICは、12.5~50 µg/ml (2株は例外的に、これより高い)、*M. marinum* 26株に対するMICは、12.5~100 µg/ml、*M. malmoense* 13株に対するMICは、12.5~50 µg/ml、*M. simiae* 7株に対するMICは、100 µg/mlまたはそれ以上であった。*M. szulgai* 23株に対するMICは、12.5~50 µg/ml、*M. nonchromogenicum* 20株に対するMICは、12.5~25 µg/ml、*M. gordonae* 30株に対するMICは、12.5~200 µg/mlであった。以上のごとく、非定型抗酸菌のSM感受性は、一般に、*M. tuberculosis* よりも低かったが、*M. xenopi* 12株に対するMICのみは、6.3 µg/mlで、*M. tuberculosis* とほぼ等しかった。

2) Kanamycin 感受性 (Fig. 4~6)

M. tuberculosis 20株に対するKMのMICは、12.5~50 µg/mlであった。これに対して、*M. avium* complex 64株に対するMICは、3.2~>400 µg/mlと大きな幅があった。少数ながら、*M. tuberculosis* に匹敵する感受性を示す株があった。*M. scrofulaceum* 30株に対するMICは、25~200 µg/mlであった。また、*M.*

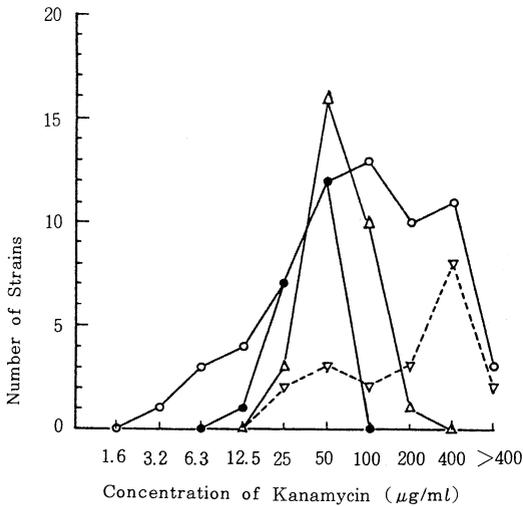


Fig. 4. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of kanamycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●-●), 64 strains of *M. avium* complex (○-○), 30 strains of *M. scrofulaceum* (△-△), and 20 strains of *M. fortuitum* (▽-▽).

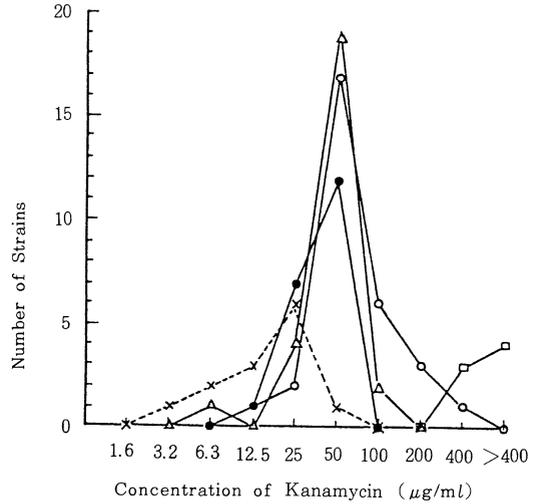


Fig. 5. Comparison of the minimal inhibitory concentration of kanamycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●-●), 30 strains of *M. kansasii* (○-○), 26 strains of *M. marinum* (△-△), 13 strains of *M. malmoense* (×-×), and 7 strains of *M. simiae* (□-□).

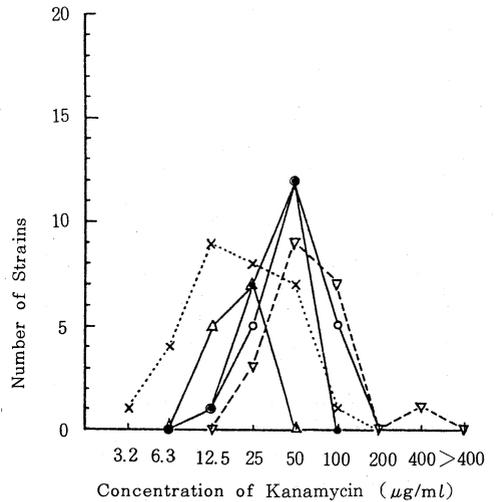


Fig. 6. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of kanamycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●-●), 23 strains of *M. szulgai* (○-○), 12 strains of *M. xenopi* (△-△), 20 strains of *M. nonchromogenicum* (▽-▽), and 30 strains of *M. gordonae* (×-×).

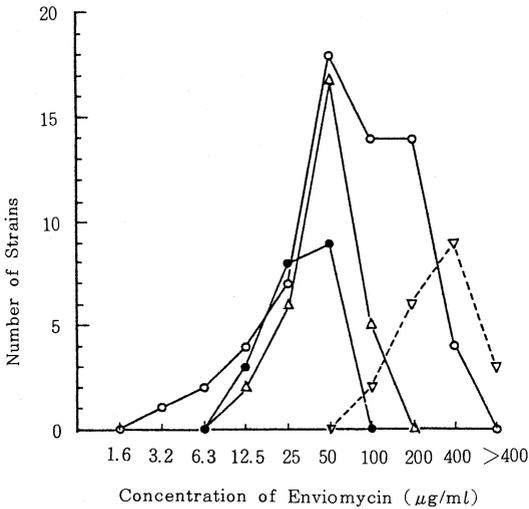


Fig. 7. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of enviomycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●-●), 64 strains of *M. avium* complex (○-○), 30 strains of *M. scrofulaceum* (△-△), and 20 strains of *M. fortuitum* (▽-▽).

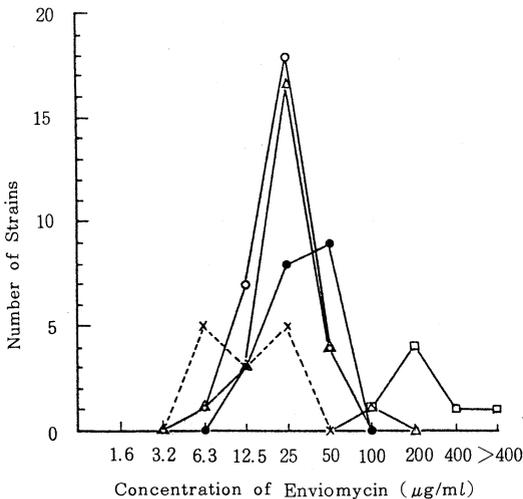


Fig. 8. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of enviomycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●-●), 30 strains of *M. kansasii* (○-○), 26 strains of *M. marinum* (△-△), 13 strains of *M. malmoense* (x-x), and 7 strains of *M. simiae* (□-□).

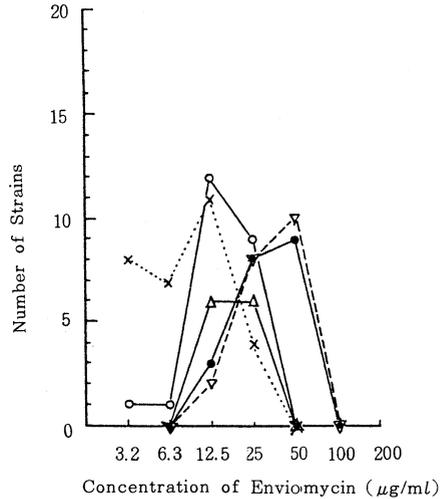


Fig. 9. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of enviomycin against 20 strains of *M. tuberculosis* (●-●), 23 strains of *M. szulgai* (○-○), 12 strains of *M. xenopi* (△-△), 20 strains of *M. nonchromogenicum* (▽-▽), and 30 strains of *M. gordonae* (x-x).

fortuitum 20株に対するMICは、25~>200 µg/mlであった。*M. kansasii* 30株に対するMICは、12.5~400 µg/ml、*M. marinum* 26株に対するMICは、25~100 µg/ml (1株のみは、例外的に6.3 µg/ml)、*M. malmoense* 13株に対するMICは、3.2~50 µg/mlで、*M. tuberculosis* よりもやや高い感受性を示した。*M. simiae* 7株に対するMICは、400 µg/mlまたはそれ以上であった。*M. gordonae* 30株に対するMICは、極めて幅が広く、大部分は3.2~100 µg/mlであったが、1株は400 µg/mlであった。*M. szulgai* 23株に対するMICは12.5~100 µg/ml、*M. xenopi* 12株に対するMICは12.5~25 µg/mlで、*M. tuberculosis* よりもやや感受性が高かった。*M. nonchromogenicum* に対するMICは、25~100 µg/ml (1株だけは、例外的に400 µg/ml)であった。

3) Enviomycin感受性 (Fig. 7~9)

M. tuberculosis 20株に対するEVMのMICは、12.5~50 µg/mlで、KMのMICとほぼ同じであった。これにして、*M. avium* complex 64株に対するMICは、3.2~400 µg/mlと幅が広がった。KMの場合と同様に、一部の株のEVM感受性は、*M. tuberculosis* と同等またはそれ以上であった。*M. scrofulaceum* 30株に対するMICは、12.5~100 µg/mlで *M. tuberculosis* よりやや低く、*M. fortuitum* に対するMIC

は、100~>400 $\mu\text{g/ml}$ で、*M. tuberculosis* よりもはるかに感受性が低い。*M. kansasii* 30株に対するMICは、6.3~50 $\mu\text{g/ml}$ 、*M. marinum* 26株に対するMICは、6.3~50 $\mu\text{g/ml}$ 、*M. malmoense* 13株に対するMICは6.3~25 $\mu\text{g/ml}$ で、この3菌種に対するMICの分布は、*M. tuberculosis* よりも感受性が高いことを示している。*M. simiae* 7株は、EVMに対しても感受性が低く、MICは、100~>400 $\mu\text{g/ml}$ であった。*M. szulgai* 23株に対するMICは、3.2~25 $\mu\text{g/ml}$ 、*M. xenopi* 12株に対するMICは、12.5~25 $\mu\text{g/ml}$ 、*M. nonchromogenicum* 20株に対するMICは、12.5~50 $\mu\text{g/ml}$ 、*M. gordonae* 30株に対するMICは、3.2~25 $\mu\text{g/ml}$ 、いずれも*M. tuberculosis*と同じか、それよりも感受性が高かった。

考 察

M. tuberculosis 20株は、抗結核剤使用前の肺結核患者喀痰から分離された株であるが、これに対するSMのMICは3.2~12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、KMのMICは12.5~50 $\mu\text{g/ml}$ 、EVMのMICは12.5~50 $\mu\text{g/ml}$ であった。一方、1g筋注で到達する最高血中濃度は、SM 30 $\mu\text{g/ml}$ ⁴⁾、KM 50 $\mu\text{g/ml}$ ⁵⁾、EVM 36 $\mu\text{g/ml}$ ⁶⁾と報告され

ている。先のMICと血中濃度を比較する時、SMの人体内有効性は、血中濃度とMICの関係から説明可能であるが、KMとEVMの場合、血中濃度に比較してMICが高すぎる。果たして十分な効果が得られるかどうか疑問に思われる。この関係は、KM、EVMの両者の臨床効果が、SMに劣ることを示しているのかもしれない。一方、卵培地にSM、KM、EVMを加えて滅菌し、卵蛋白を凝固させた場合、SMの力価は1/4に、KMとEVMの力価は1/6に減弱する⁷⁾。この現象のために、添加濃度で表示したMICが高くでることも考えられる。このように考えれば、KM、EVMの人体内有効性も説明がつくように思われるが、それ自体、蛋白である人体の病巣で、これらの薬剤が、いかにどの力価を発揮しているかが問題となる。このように、*M. tuberculosis*に対するMICを規準として、抗結核剤の非定型抗酸菌症に対する効果を推定することは、かなり無理がある。しかし、ここでは、そのような無理を承知しながら、おおよその推定を試みようと思う。SM、KM、EVMは、既に抗結核剤として確立された薬剤であるから、*M. tuberculosis*に対するMICを基準にして、これらの薬剤の有効性を推定してみることも許されるものと思われる。そこで、*M. tuberculosis* 20株に対するMICの上

Table Percentages of Strains of Each Species, the Growth of Which was Inhibited by the Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) Equal to the MICs for *Mycobacterium tuberculosis* Strains

Species*	Percentage of Strains		
	Streptomycin	Kanamycin	Enviomycin
<i>M. tuberculosis</i> (20)	100	100	100
<i>M. avium</i> complex (64)	16	42	50
<i>M. gordonae</i> (30)	40	97	100
<i>M. kansasii</i> (30)	30	67	100
<i>M. malmoense</i> (13)	77	100	100
<i>M. marinum</i> (26)	8	92	96
<i>M. nonchromogenicum</i> (20)	55	60	100
<i>M. scrofulaceum</i> (30)	20	63	83
<i>M. simiae</i> (7)	0	0	0
<i>M. szulgai</i> (23)	0	78	100
<i>M. xenopi</i> (12)	100	100	100
<i>M. fortuitum</i> (20)	0	25	0

* The number in parentheses shows the number of strains tested. The MICs of streptomycin for *M. tuberculosis* strains ranged from 3.2 to 12.5 $\mu\text{g/ml}$, those of kanamycin from 12.5 to 50 $\mu\text{g/ml}$ and those of enviomycin from 12.5 to 50 $\mu\text{g/ml}$ in Ogawa egg medium. The testing of susceptibility was made by the use of inoculation size of 0.2mg wet weight of 10 day-old cultures (*M. tuberculosis* 21 day-old and *M. fortuitum* 3 day-old cultures). The MIC was determined after incubation at 37°C for 14 days (*M. tuberculosis* and *M. xenopi* after incubation for 21 days and *M. fortuitum* after incubation for 5 days).

限である SM 12.5 $\mu\text{g/ml}$, KM 50 $\mu\text{g/ml}$, EVM 50 $\mu\text{g/ml}$ を取って、この範囲の MIC を示す菌株の比率を、各菌種について計算した結果を Table に示す。ただし、この場合、有効性の推定は、各薬剤について、*M. tuberculosis* に対する効果との比較で行われるものであるから、SM 有効の推定値が 70%, KM 有効の推定値が 90% であったとしても、KM の方が SM よりも余計に効果があることを示すわけではないことに注意する必要がある。しかしながら、次のことがいえそうである。*M. tuberculosis* 感染症に対する SM の効果が期待できそうな症例は、*M. xenopi* 感染症のみで、次は、*M. malmoense* 感染症の 77% の症例である。他の感染症では、この比率がずっと低い。*M. kansasii* 感染症では、30%, *M. avium* complex 感染症では 16% にすぎない。もし、有効の境界線を、SM の血中濃度 30 $\mu\text{g/ml}$ に近い MIC 25 $\mu\text{g/ml}$ に上げると有効率は 30% になる。それでも、以下に述べる EVM の 50% よりも低い。このいずれが臨床の実際と一致するかは、向後の臨床研究の結果を待つ他はない。

KM について同じことを考えると、結核症に対する KM の効果に匹敵する効果が期待できそうなのは、90% 以上の株が 50 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示す *M. malmoense*, *M. xenopi*, *M. marinum* の感染症であろう。*M. avium* complex 症では、症例の 42% に有効なことが期待される。次に、EVM について考えると、上記のような有効性期待の比率が高い菌種が多い。結核症に対する EVM の効果に匹敵する効果が期待されるのは、*M. kansasii* 症、*M. malmoense* 症、*M. szulgai* 症、*M. xenopi* 症、*M. marinum* 症である。*M. avium* complex 症でも、有効性の率は 50% で、3 剤の中で最も高い。

以上に、*M. tuberculosis* の感受性を標準として、各菌種の感受性を比較したのであるが、このような比較に問題があることも指摘する必要がある。抗酸菌感染症のように、発育が遅い菌の感染症の治療では、長期の治療を必要とし、そのような場合、必ず耐性発現が問題となると思われる。結核菌以外の抗酸菌の薬剤耐性発現の形式や突然変異頻度は、まだ、ほとんど研究されていない。もし、ある抗酸菌が、結核菌 (*M. tuberculosis*) よりも、高い突然変異頻度をもっておれば、より容易に耐性菌集団が発生して治療が無効となってしまうであろう。したがって、感受性が同じであるから、効果も結核の場合と同じとはいえないであろう。したがって、ここに行った推定は、おおよその見当づけにとどまる。かといって、現在、非定型抗酸菌の抗結核剤感受性について十分知られていない現況では、本報のような研究も、一つの問題提起となると信じる次第である。

結 論

種々の抗酸菌の SM, KM, EVM に対する感受性を測定し、これを *M. tuberculosis* の感受性と比較した。SM に対して、*M. tuberculosis* とほぼ同等の感受性を示したのは、*M. xenopi* のみであった。KM に対して、*M. tuberculosis* に匹敵する感受性を示したのは、*M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. marinum* であった。*M. szulgai* の株の 78%, *M. kansasii* の株の 67%, *M. scrofulaceum* 株の 63% も、このような感受性を示した。EVM に対して、*M. tuberculosis* に相応する感受性を示した菌種は、3 剤の中で最も多く、*M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. szulgai*, *M. xenopi*, *M. marinum* であった。これらの菌種の株は *M. tuberculosis* に対する MIC と同程度の MIC で阻止された。*M. avium* complex 64 株で、*M. tuberculosis* に対するのと同等の MIC で阻止される菌株の比率をみると、SM 16% (MIC 25 $\mu\text{g/ml}$ をとれば 30%), KM 42%, EVM 50% であった。

文 献

- 1) 東村道雄: *Mycobacterium avium*-*Mycobacterium intracellulare* 感染症 (その 2), 医療, 38 : 955-963, 1984.
- 2) 東村道雄: *Mycobacterium kansasii* による感染症, 医療, 39 : 18-23, 1985.
- 3) 東村道雄: 試験管内感受性試験からみた Rifampicin の非定型抗酸菌感染症に対する有効性の推定, 結核, 64 : 453-458, 1989.
- 4) Black, H. R., Griffith, R. S. and Peabody, A. M. : Absorption, excretion and metabolism of capreomycin in normal and diseased states. Ann New York Acad Sci, 135 : 974-982, 1966.
- 5) 市川篤二, 堀内誠三, 新島瑞夫他: カナマイシンによる尿路感染症の治療, 内科, 1 : 423-427, 1958.
- 6) Miyake, A., Ishikawa, H., Suzuki, T. and Ando, T. : The assay methods of tuberactinomycin-N in body fluid. Information from the Research Laboratory of the Toyo Jozo Company, Shizuoka, Japan.
- 7) Tsukamura, M. : Evidence that antituberculosis drugs are really effective in the treatment of pulmonary infection caused by *Mycobacterium avium* complex, Am Rev Respir Dis, 137 : 144-148, 1988.