

短 報

Colonization ないし起炎菌と考えられた *M. intracellulare* 株
における薬剤感受性の比較

前 崎 繁 文 ・ 東 山 康 仁 ・ 光 武 耕 太 郎
 松 田 治 子 ・ 山 田 洋 ・ 杉 山 秀 徳
 賀 来 満 夫 ・ 古 賀 宏 延 ・ 河 野 茂
 原 耕 平

長崎大学医学部第2内科

受付 平成2年12月25日

THE COMPARISON OF DRUG SUSCEPTIBILITY OF ANTITUBERCULOUS
AGENTS AGAINST COLONIZED *M. intracellulare* AND
INFECTED *M. intracellulare*

Shigefumi MAESAKI*, Yasuhito HIGASHIYAMA, Kohtaro MITSUTAKE,
 Haruko MATSUDA, Hiroshi YAMADA, Hidenori SUGIYAMA,
 Mitsuo KAKU, Hironobu KOGA, Shigeru KOHNO,
 Kohei HARA

(Received for publication December 25, 1990)

The susceptibility of antituberculous agents against colonized *M. intracellulare* which were isolated from patients with pulmonary disease and infectious *M. intracellulare* (pathogens) isolated from atypical mycobacterial culture was investigated.

Aminoglycosides were more potent against colonized organisms than against pathogens. Isoniazid, ethambutol and rifampicin showed less potent antimicrobial activity against both colonized organism and pathogens as compared to aminoglycosides. On the contrary susceptibility of cycloserine against colonized organisms was as potent as against pathogens.

Key words : DNA probe, colonization, *M. intracellulare*, drug susceptibility, atypical mycobacteriosis

キーワードズ : DNA プローブ, コロニゼーション, *M. intracellulare*, 薬剤感受性, 非定型抗酸菌症

非定型抗酸菌は自然環境からも分離されるため、結核菌と異なり、臨床検体から分離されてすぐに起炎菌と断定できない。また、本菌はヒトに対する病原性も弱く、臨床検体より分離される菌量が少量であったり、分離頻度

が少ない場合には colonization として、治療の対象とならない。しかし、結核症が年々減少している反面、非定型抗酸菌症は年々に増加傾向を示し、その治療のための抗結核剤の選択が重要な問題となっている。中でも

* From the Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, 7-1 Sakamoto-machi, Nagasaki 850 Japan.

M. avium-intracellulare complex (MAC) 株による感染が70%を占めており¹⁾、本菌は一般の抗結核剤に耐性で、難治性であることが知られている。また、分子生物学の進歩により、種々の細菌の遺伝子が解明され、細菌の同定や迅速診断に利用されるようになってきている。MAC株は、従来生化学的方法では *M. avium* と *M. intracellulare* の分離同定ができなかったが、DNAプローブによりこれまで同一菌種として扱われてきたMAC株が、*M. avium* と *M. intracellulare* に分けて、それぞれの分離頻度や薬剤感受性また臨床像などについて比較検討することが可能となった²⁾³⁾。

今回、私たちは1983年から1990年までに長崎大学第2内科およびその関連施設において分離された臨床分離保存株のうち、DNAプローブにて *M. intracellulare* と同定された54株について、非定型抗酸菌症の診断基準を満たした患者から分離された株を起炎菌株とし、臨床検体から分離された株ではあるが、診断基準を満たさない株を colonization 株として、それぞれの菌株について Microtiter plate 法にて薬剤感受性を比較検討した。

DNAプローブによる同定は Gen-Probe[®] rapid diagnostic system を用いた。方法は1%小川培地上の菌塊を2mlの滅菌蒸留水に溶解し、菌量を McFarland No.1 に調整した後、¹²⁵I で標識された DNA プローブを加え、72℃で1時間処理し、沈渣をガンマカウンターにて計測した。% Hybridization 値を算出し、10%以上を陽性とした。次に薬剤感受性は Microtiter plate 法にて測定した。1%小川培地上で3~4週間培養した後、湿菌量で1~3mgの菌塊を1mlの滅菌蒸留水に加え、菌液を0.2mlずつ Microtiter plate に接種し、1週間および2週間後に観察した⁴⁾。今回検討した臨床分離保存54株はすべてDNAプローブにて *M. intracellulare* と同定された株を用いた。11株は colonization と考えられ、43株は非定型抗酸菌症の起炎菌と考えられた。

Colonization と考えられた11株が分離された患者背景を Table に示した。男女比はほぼ同じで、年齢は60歳以上の高齢者が多かった。基礎疾患として、肺に全く疾患を有しない例も含まれており、肺結核にて経過観察中に一時的に *M. intracellulare* を排菌した症例が4例と最も多く、他の呼吸器疾患でも3例に *M. intracellulare* の colonization を認めた。

薬剤感受性について Fig. に示した。感受性株と完全耐性株の分離頻度を各々の株について示した。Colonization と起炎菌としての *M. intracellulare* の感受性で最も異なるのは、アミノ配糖体の感受性であり、特に enviomycin (EVM) の感受性株が colonization の株では11株中6株(55%)と多く認められるのに対して、起炎菌

Table. Colonizationとして *M. intracellulare* 株が分離された患者背景

| | |
|-----|----------------|
| 性別 | 男性 6例 |
| | 女性 5例 |
| 年齢 | 56~84歳 (平均69歳) |
| 肺病変 | 肺結核 4例 |
| | 慢性気管支炎 2例 |
| | 肺炎 1例 |
| | 肺癌 1例 |
| | 肺病変なし 3例 |
| 合計 | 11例 |

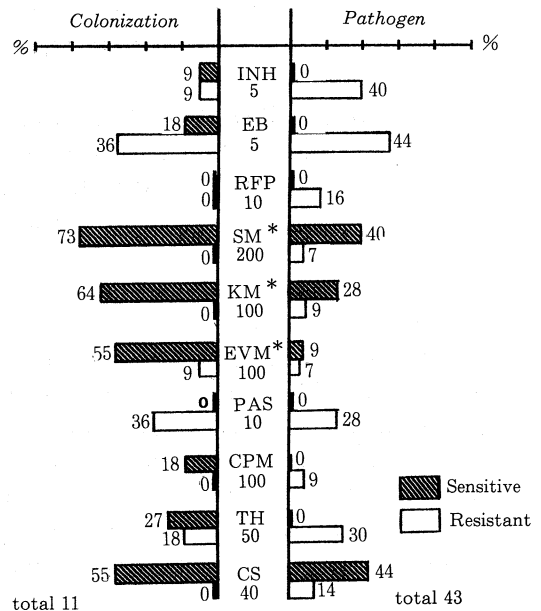


Fig. Drug susceptibility of *M. intracellulare*
* P<0.01

の株では43株中4株(9%)と少なく、 χ^2 検定にて両者に有意の差を認めた。また、streptomycin (SM) については最も感受性株が多く、colonization の株は11株中8株(73%)であり、完全耐性は1株も存在しなかった。起炎菌の株でも感受性株の比率は cycloserine (CS) について高く、17株(40%)で、完全耐性株は3株(7%)であった。SMの感受性についても両群間に有意の差を認めた。

Kanamycin (KM) は SM には劣ったが、coloniza-

tion 株で7株(64%)、起炎菌株で12株(28%)が感受性を示した。しかし、colonization 株では1株もない完全耐性株が、起炎菌株では4株(9%)に認められた。以上の結果よりアミノ配糖体については colonization 株で感受性が良好なのに対して、起炎菌の株ではやや耐性化が進んでいると考えられた。その他の抗結核剤については isoniazid (INH), ethambutol (EB), rifampicin (RFP) では両菌株共に感受性株が少なく、EBについては両者に耐性株が最も多く認められた。CSについては起炎菌株では最も感受性株が多く、19株(44%)であったが、colonization 株でも感受性株の割合はほぼ同様の6株(55%)であり、両者に有意の差は認めなかった。

このように薬剤感受性の比較において colonization と起炎菌と考えられる *M. intracellulare* 株の間に差が存在する理由としては、肺結核症の治癒後あるいは経過観察中に非定型抗酸菌症が発症するいわゆる二次性感染の症例が多いことが一つの原因ではないかと推定された。特にこのような非定型抗酸菌症の症例では、菌が分離された時すでに多くの抗結核剤に対して高度耐性を示し、アミノ配糖体を使用する機会が多いためアミノ配糖体に対する感受性が、colonization 株と起炎菌株で大きく違うと考えられた⁵⁾。

また、*M. intracellulare* は環境からも分離されるため colonization 株は検体を処理する際の contamination とも考えられ、結核病棟より分離される株は、環境から分離される *M. intracellulare* 株と比べ、INH, EB, RFP などの抗結核剤にすでに高度耐性となっているの

かどうかについて、それ以外の環境から分離される *M. intracellulare* 株と比較し、検討する必要があると考えられた。また、今後さらに非定型抗酸菌症にアミノ配糖体が頻回で使用された時、このような colonization 株が徐々に耐性を獲得していく可能性があるかどうかについても今後の重要な問題と考えられた。

文 献

- 1) 国立療養所非定型抗酸菌共同研究班：日本における非定型抗酸菌症の研究(国立療養所非定型抗酸菌共同研究班1986年度報告), 結核, 63: 493~499, 1988.
- 2) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K.: Identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes, J Clin Microbiol, 27, 994-997, 1989.
- 3) Maesaki, S., Kohno, S., Miyazaki, Y.: Non-tuberculous mycobacteria identified by DNA probes; *in vitro* susceptibility of *M. avium* and *M. intracellulare* to antituberculous agents. Tubercle. (投稿中)
- 4) 中島直人, 肥高 勲, 長井徹雄: Microtiter 法による結核菌薬剤耐性検査法について, 医療, 34, 471~477, 1980.
- 5) 山本正彦: 非定型抗酸菌症の現状, 化学療法の領域, 5: 651~658, 1989.