重感染による多剤耐性肺結核

[1]伊藤 邦彦 [2]高橋 光良 [1]吉山 崇 [1]和田 雅子
[3]尾形 英雄

要旨：症例は47歳男性，住所不定者。4歳時肺門リンパ節結核で治療歴あり。特記すべき合併症なくHIV陰性。病型bⅡ2，喀痰塗抹Gaffky 4号全剤感受性の肺結核の診断で複十字病院命令入所し標準的化学療法開始。治療開始2カ月目に一度喀痰培養陰性化するも，内服は規則的と考えられたにもかかわらずその約2週後の喀痰で再排菌し，それ以降治療終了後も喀痰培養が断続的に続いた。薬剤感受性試験では再排菌以降の菌が多剤耐性化していたことが繰り返し確認された。RFLP分析では再排菌時以降の多剤耐性菌と治療開始時から排菌停止までの菌で菌株が全く異なることが判明し，Double-strain infectionによる多剤耐性肺結核と判断された。

キーワーズ：命令入所，多剤耐性結核，外来性再感染，二重感染，RFLP

はじめに

結核の発病は通常単一strainの結核菌によると考えられ，また，従来外来性再感染による発病も稀と考えられてきた。すなわち同一患者が，同時性であれ異時性であれ，異なる菌株の排菌をともなって結核を発病ないし再発することは稀であるというのがこれまでの常識であった。しかし近年DNA fingerprinting（restriction fragment length polymorphism/以下RFLP）の開発普及に伴い外来性再感染の報告例が散見されるようになりこうした「常識」の再考を迫られている[1)]。

本報告は，RFLPによって確認された感性菌と多剤耐性菌の重感染による化学療法失敗の1例を報告し，重感染による発病/再発/治療失敗の可能性に対して注意を喚起するものである。

症　例

47歳男性。住所不定者。4歳時（1955年頃）父の結核診断を機に「肺門リンパ節結核」と診断され1年半ほど通院したとのことだが，治療内容に関する情報は不明。他に特記すべき既往なく易感染性を思わせるエピソードもない。1998年末頃より咳痰が増加し1999年7月近医受診し喀痰塗抹Gaffky 4号にて同年7月14日複十字病院命令入所。一般血液検査では，白血球分画や血糖値も含め異常なし。当院では，喀痰塗抹陰性培養陽性で結核菌と同定（以下，菌検査結果はTable参照）。病型はbⅡ2でCTでも肺結核に典型的な画像所見であった。入院時の喀痰培養菌に対する小川培地絶対濃度法による薬剤感受性試験では10薬剤すべて感受性。

7月20日よりisoniazid（以下INH）＋rifampicin（以下RFP）＋pyrazinamide（以下PZA）およびstreptomycin（以下SM）週2回にて治療開始。

10月2日よりINH＋RFP＋SM週2回。

10月9日よりINH＋RFP。副作用もなく胸部X線写真の改善も順調に推移した。

11月12日退院し当院外来にて治療継続。

2000年2月2日をもって化学療法終了。全外来経過を通じての規則的服薬が患者によって報告されており，胸部X線写真も退院時とほぼ同様の所見であった。

3月16日に，2000年1月20日外来での検痰培養陽性（結核菌）が報告され，治療失敗を疑い外来受診を指示。胸部X線写真の悪化はなかったが計4回の検痰を追加した（Table参照）。3月に培養された菌および1999年10・11・1月の3菌株にも薬剤感受性試験を施行した。

結核予防会結核研究所[1]研究部，[2]抗酸菌リファレンスセンター結核菌情報科，[3]結核予防会複十字病院呼吸器科
連絡先：伊藤邦彦，結核予防会結核研究所研究部，〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24（E-mail: ito@jata.or.jp）
（Received 10 Mar. 2004/Accepted 9 Apr. 2004）

Table Summaries of mycobacterial laboratory tests

Date	Smear	Culture result		AccuProbe		Drug sensitivity test													
						Absolute concentration method/1% Ogawa										MGIT[cf]			
		Ogawa[b]	MGIT[c]	T[d]	M[e]	Control	INH			RFP		SM		EB		Other[g]				
							0.1	1	5	10	50	20	200	2.5	5		INH	RFP	SM	EB
1999/7/14	0	1+(36)		+		4+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
7/15	0	0																		
7/16	0	1+																		
[a]7/16	Gaffky 2	2+																		
8/17	Gaffky 2	1+(1)	+	+[h]	−[h]	4+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	S	S	S	S
9/21	Gaffky 1	0																		
10/8	0	1+(67)		+		4+	4+	0	0	4+	4+	4+	4+	4+	0	0				
11/10	0	1+(34)		+		3+	3+	0	0	3+	3+	3+	3+	0	0	0				
11/25	0	0																		
12/16	0	0																		
2000/1/20	0	1+(4)		+		2+	2+	0	0	2+	2+	1+	1+	0	0	0	R	R	R	R
3/16	0	1+(1)		+																
3/21	0	0	−																	
3/22	0	0	−																	
3/23	0	1+(8)	−			3+	3+	0	0	3+	3+	3+	3+	0	0	[i]				

[a]This specimen is gastric aspirate/all other specimens are sputum.
[b]No. of colonies in parental/The morphologies of colonies were all compatible with TB complex, with no indication of mixed mycobacterial culture.
[c]BACTEC MGIT 460 [d]TB complex [e]*Mycobacterium avium-intracellulare* complex [f]R: resistants/S: sensitive
[g]KM, TH, PAS, cycloserine, enviomycin [h]AccuProbe on MGIT culture [i]TH 25γ: 2+/other: 0

小川培地ではいずれもINH 0.1γ，RFP，SMに耐性で，10月8日の菌のみethambutol（以下EB）2.5γに耐性であった。他の薬剤に対しては3月の菌のみethionamide（以下TH）25γに耐性を示した。1月の菌に対するBACTEC MGIT 960システムではINH・RFP・SM・EBの4剤すべてに耐性であった。

4月10日胸部CTを行い治療開始前の1999年7月の胸部CTと比較したが，病変の悪化を疑う所見はなかった。これらは，複数の培養陽性とほぼ同様の薬剤感受性結果から検査室内でのcross-contaminationによるものとは考え難いと判断された。小川培地およびBACTEC MGIT 960システムでの薬剤感受性試験を総合的に判断し多剤耐性結核菌による治療失敗と判断した。

5月12日結核病棟に再入院。HIVテスト，HTLV-1抗体は陰性。一般血液検査でも特に異常は認めなかった。入院時3連続痰では1回のみGaffky 1号であったが培養（小川培地）はすべて陰性であった。

5月19日より，kanamycin（以下KM/週3回）＋PZA＋TH＋ofloxacin（以下OFLX）にて再治療開始，7月18日よりTHをpara-aminosalicylat（以下PAS）に変更。

8月18日退院しPZAを中止し外来でKM（週3回）＋OFLX＋PASを継続。

11月20日よりOFLX＋PAS。

2001年11月27日治療終了。再治療の全期間を通じての月1回の検痰で排菌なく（小川培地），胸部X線写真所見の悪化も改善も認められなかった。

2003年12月24日までの経過観察では再発は認められていない。

RFLP

患者の自己申告によれば入院中の薬剤はすべて内服したとのことであり，10月からの突然の多剤耐性菌の再排菌とその持続はきわめて稀な事例と思われたため，RFLPによる分析が行われた。RFLPはIS*6110*を用いた標準的手法にそって行われた[2)]。今回の菌株ではすべて6バンド以上が検出されており，strain identificationの信頼性は高いものと思われた。

1999年7月14日（Fig.のA），8月17日（同Bおよび E），10月8日（同CとF），11月10日（同DとK），2000年1月20日（同G）の菌株では，再排菌以前の全剤感受性菌（8月17日以前）の菌はすべてRFLPパターンが一致し，再排菌以降の多剤耐性菌（10月8日以降，3月の菌を除く）の菌でもRFLPパターンが一致していた。しかし両グループの菌株のRFLPパターンは全く異なっていることが確認され，耐性化が2菌株による結核菌感染発病に起因するものであることが確かめられた。

本症例患者が結核病棟入院した1999年7月14日から多剤耐性菌の排菌が始まる同年10月8日までの間に，複十字病院に入所歴のある多剤耐性結核患者が14人確認されたが，このうち6人は7月14日以前に排菌停止が確認されており，4例はINH・RFP・SM・EB以外の抗結核薬に広範に耐性化していた慢性排菌例であった。

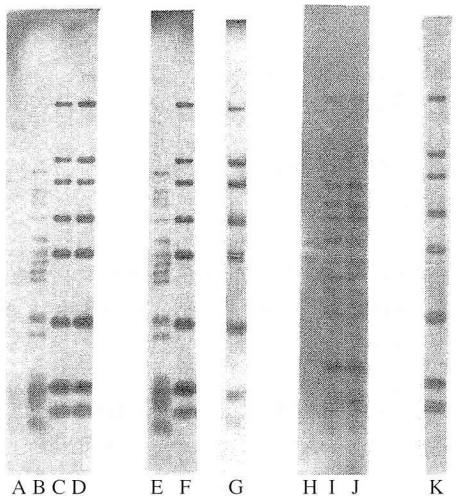

Fig. Results of RFLP analysis
A～G: strains of this case (A: Jul. 14, B&E: Aug. 17, C&F: Oct. 8, D&K: Nov. 10, G: Jan. 20), H～J: strains of the multi-drug resistant tuberculosis patients who had been staying in the tuberculosis ward and possible source of infection to the case.

残る4例の多剤耐性結核患者4名のうち2人は家族内の多剤耐性結核感染（RFLPで確認/データ未掲載）であった。このうち感染源の患者の菌株（Fig.のI），と他2名の多剤耐性結核患者（同HとJ）の菌株，および本症例患者の11月10日の菌株（同K）のRFLPパターンの比較を行ったが，本症例とパターンの一致する多剤耐性患者はなかった（しかし菌株IとJの菌株は一致した）。

考　　察

RFLPの結果から，本症例が異なった2菌株の結核菌による感染発病であることは明らかである。また本症例には明らかな易感染性素因も，サイトカインレセプター欠損症のような比較的不顕性の易感染性[3]を示唆するような既往歴も見当たらず，正常免疫能の患者に発生したエピソードと推測された。

これが結核病棟内入所後の，結核病棟内院内「外来性再感染」であるかどうかは不明であった。しかしRFLPを行っていない，耐性パターンの全く異なる慢性排菌患者（4人）のいずれかからの耐性パターンの異なったクローンによる感染の可能性や，排菌停止が確認されている患者（6人）の微量再排菌による感染の理論的可能性は否定できない。結核患者の結核病棟内での外来性再感染による排菌では感染曝露から排菌までが非常に短い例が報告されており[1]，入所から多剤耐性排菌までの期間（7月14日～10月8日）が比較的短いことは，結核病棟内の外来性再感染を否定する根拠にはならないと思われる。

本症例4歳時の結核感染のエピソードが確実であれば，年代的にこのときの菌が多剤耐性菌であった可能性や治療中の多剤耐性化の可能性はほとんどないものと思われる。とすればこのとき以降1999年10月8日までのいずれかの時期に多剤耐性菌による外来性再感染をうけたのであろう。

重感染ないし外来性再感染一般に関する文献的考察は現在投稿準備中の総説で行う予定である。

なお，Fig.の菌株Iは家族内で多剤耐性結核の感染発病が起こった事例の感染源であるが，当院入院時には5年間の多剤耐性結核菌の断続的排菌歴を有しており，自宅近くで接客業を行っていた。この患者とRFLPの一致した菌株Jを有する患者は初回多剤耐性患者で，菌株I（およびこの家族）の隣市に居住しており使用する最寄駅も同一線で隣駅であった。実際の疫学的つながりは追究できなかったが，casual contactによるcommunity内での多剤耐性菌伝播が推測された。

文　　献

1）Narvskaya O, Otten T, Limeschenko E, et al.: Nosocomial Outbreak of Multidrug-Resistant Tuberculosis Caused by a Strain of *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing Family in St. Petersburg, Russia. Eur J Clin Microbiolo Infect Dis. 2002; 21: 596–602.

2）van Embden JDA, Cave MD, Crawford JT, et al.: Strain Identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA Fingerprinting: Recommendations for a Standard Methodology. J Clin Microbiol. 1993; 31: 406–409.

3）Newport MJ, Huxley CM, Huston S, et al.: A Mutation in the Interferon-γ-receptor Gene and Susceptibility to Mycobacterial Infection. New Engl J Med. 1996; 335: 1941–1949.

Case Report

MULTI-DRUG RESISTANT LUNG TUBERCULOSIS DUE TO DOUBLE INFECTION OF MDR STRAIN

[1]Kunihiko ITO, [2]Mitsuyoshi TAKAHASHI, [1]Takashi YOSHIYAMA,
[1]Masako WADA, and [3]Hideo OGATA

Abstract The case is 47-year-old, homeless man. He was diagnosed as cavitary, sputum smear positive pan-sensitive lung tuberculosis, and admitted to TB ward of our hospital. At the age of 4-year-old he had tuberculous hilar lymphadenopathy and took medicine. He had no other associated disease, and HIV test was negative. He started standard chemotherapy and 2 months later his sputum culture was converted to negative. His adherence to medicine was thought to be good. But about 2 weeks after the sputum conversion, his sputum culture was re-converted to positive for *Mycobacterium tuberculosis*. Thereafter, during and after the completion of standard chemotherapy, his sputum culture had been intermittently positive. The drug sensitivity tests of the strain after re-conversion showed multi-drug resistance. RFLP analysis revealed that the strain before conversion was totally different strain from the strain after re-conversion to positive. The case was considered to be caused by the double infection of MDR strain of *Mycobacterium tuberculosis* during the course of treatment for tuberculosis due to a sensitive strain of *Mycobacterium tuberculosis*.

Key words: Isolation, Multi-drug resistant tuberculosis, Exogenous reinfection, Double-strain infection, RFLP

[1]Department of Research, [2]Division of Molecular Epidemiology, Mycobacterium Reference Center, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA), [3]Department of Respiratory Medicine, Fukujuji Hospital, JATA

Correspondence to: Kunihiko Ito, Department of Research, Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3−1−24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204−8533 Japan.
(E-mail: ito@jata.or.jp)