

原 著

Mycobacterium avium complex の抗結核剤に対する耐性形式

束 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和 62 年 4 月 15 日

THE PATTERN OF DEVELOPMENT OF RESISTANCE TO ANTITUBERCULOSIS
AGENTS IN *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX

Michio TSUKAMURA *

(Received for publication April 15, 1987)

The patterns of *in vitro* development of drug-resistance in three strains of *M. avium* complex which were isolated from patients previously untreated with antituberculosis agents were studied. The principle of the study and the methods used were described previously (7, 10, 15). Of the three strains, strain 13034 (serotype 18) was originally resistant to, except for isoniazid, all antituberculosis agents, and strains 13008 (serotype 20) and 13016 (serotype 4) were relatively susceptible. The results obtained are shown in Figures 1-23 and Table.

1) In development of resistance to rifampicin, ansamycin and streptomycin, strains 13008 and 13016 showed a two-step pattern, and strain 13034 an obligatory single-step pattern, whereas *M. tuberculosis* strain H37Rv an obligatory single-step pattern. There was a complete cross-resistance between rifampicin and ansamycin. The cross-resistance patterns of R1 and R2 mutant strains obtained by the selection with rifampicin were the same as that of those obtained by the selection with ansamycin.

2) In development of resistance to kanamycin, all three strains showed an obligatory single-step pattern, and highly resistant mutants could be isolated from parent strains.

3) In development of resistance to enviomycin, strains 13008 and 13016 showed an obligatory single-step pattern, and the level of the obtained resistant strains was only 2-4 fold higher than that of the parent strains.

4) In development of resistance to ethambutol and isoniazid, three strains showed three different patterns. No ethambutol-resistant mutants could be isolated from strain 13034.

5) The population of *M. avium* complex organisms previously not exposed to any antituberculosis agent contained resistant bacteria that were considered as had been generated by spontaneous mutation. The *M. avium* complex strains can develop easily resistant population by use of antituberculosis agents, as in the case of *M. tuberculosis*.

Key words : *Mycobacterium avium* complex,
pattern of development of drug resistance,
antituberculosis agents

キーワード : *Mycobacterium avium* complex,
耐性形式, 抗結核剤

* From the National Chubu Hospital, Department of Internal Medicine, Obu, Aichi 474 Japan.

緒 言

最近、欧米及び日本では、肺結核の減少に伴って、非定型抗酸菌症が注目されるようになったが、なかんずく、*Mycobacterium avium* complex 症は、菌の抗結核剤感受性の低さの故に治療が困難で、多くの臨床家の関心を引いている。しかるに、この菌の抗結核剤に対する耐性については、全く研究が行われていないと言ってよい。筆者及びその共同研究者は、1950年代から1980年にかけて、*Mycobacterium tuberculosis* の抗結核剤耐性形式について研究を行った^{1)~15)}。本報では、*M. avium* complex の抗結核剤耐性形式を、同じ方法で研究し、*M. tuberculosis* のそれと比較してみることとした。*M. avium* complex の抗結核剤感受性に著明な菌株差があることは、水野ほか¹⁶⁾、Tsukamura¹⁷⁾、内藤ほか¹⁸⁾により、Ethambutol、Rifampicin、アミノグリコシッド系抗生物質について、それぞれ、報告された。従って、本報では、感受性検査の結果、比較的感受性が高い2株と低い1株について研究した。

実験方法

M. avium complex 13008 (血清型20)、13016 (血清型4) 及び13034 (血清型18) の3株を使用した。前2者は、比較的抗結核剤に感受性が高く、後の1株は低い。3株とも抗結核剤使用前の患者から分離された。以上の他に、*M. tuberculosis* H37Rv 株を Ansamycin 耐性形式研究のためにのみ使用した。

培地は「1%小川培地」を使用し、生菌単位数(生菌数)の測定は渦巻白金耳接種法によった。この方法及びその基礎については既報した^{19)~21)}。*M. avium* complex は、結核菌と異なり、集落もS型で、菌液を作っても clumping の傾向がないので、得られた数値は真の生菌数に近いと思われる。

本報の基礎的原理は、単個集落を clone とみなし、単個集落由来株の生残曲線 (survival curve) を表現型 (phenotype) と定義することにある。この根拠については既報した⁷⁾¹⁰⁾。生残曲線を調べる方法については、既報のとおりであるが、希釈液はすべて0.1% Tween 80 水溶液を使用した。その方法を以下に簡単に記述する。

前述のごとく、*M. avium* complex は clumping を示さないで、小川培地2週培養菌株を使用した。小川培地14日培養の集落をガラス玉コルベンで10分間振盪して均一化し、これを0.1% Tween 80 水溶液に浮遊し、10 mg/ml (湿菌量) の菌液を作った。これを、0.1% Tween 80 水溶液で10倍段階希釈し、 10^{-6} まで希釈した。この6種の希釈菌液から、渦巻白金耳で0.02 ml ずつを、種々の薬剤濃度の小川培地に接種し、37℃28

～42日間培養した。13008 及び13016 株は比較的発育が遅く、42日後に集落数を数えたが、13034 株は発育が速く、28日後に集落数を数えることが可能であった。上述の実験結果から、原株の生残曲線 P を作り、次に、この P の各濃度に発育した集落3個をとって別々に培養し、各集落由来株について次の生残曲線 R1 を作った。同一濃度に発育した3集落由来株が同一の生残曲線を作った場合は、その1つのみを図に記入した。この操作を繰り返して、次の生残曲線 R2 を作り、それ以上高い耐性度の株が得られない時、実験を中止した。

本報では、次の述語を使用した。

1) 耐性表現型 (phenotype)。単個集落由来株 (clone) の生残曲線 (survival curve)。

2) 耐性度 (resistance level または resistance degree)。単個集落由来株の10～100生菌単位を接種した時に集落形成を示す最高薬剤濃度 (“actual count” 法による耐性度²²⁾)。

3) 耐性形式 (pattern of development of drug-resistance)。次の3形式に分類した⁷⁾。

a) Obligatory single-step pattern. 耐性表現型は1つだけで、耐性突然変異は1種のみと考えられる場合。

b) Facultative single-step pattern. 耐性表現型は複数。そのいずれもが、原株から single step-selection で得られる。即ち、耐性突然変異の種類は複数であるが、そのいずれもが原株の中に見出される。

c) Two step-pattern. 耐性表現型は2型で、低耐性と高耐性と2種類がある。原株中には、低耐性菌だけが見出される。高耐性菌は、前記の低耐性菌の中にもみ見出される。Two step-pattern は、multi-step-pattern の一種であるが、抗酸菌では、これまで two step-pattern しか観察されていない⁷⁾。

4) 耐性上限 (upper limit of resistance)

被検株が到達し得る最高耐性度。過去における *M. tuberculosis* の耐性研究では、Streptomycin、Kanamycin などでは無限大であったが、Isoniazid、p-Aminosalicylate では上限があることが分かった。耐性上限も、“actual count” 法で測定し、原株の耐性度の何倍かという倍数で示した⁷⁾。

5) 突然変異頻度 (mutation frequency)。単個集落由来株で、生菌単位当たりの突然変異菌 (resistant mutants) の出現頻度。

なお、本報では、次の薬剤について研究した。Streptomycin sulfate (SM)、Kanamycin sulfate (KM)、Enviomycin sulfate (EVM)、Ethambutol (EB)、Rifampicin (RFP)、Ansamycin (ASM)、Isonia-

zid (INH)。

RFP 及び ASM は propylene glycol に溶解して滅菌前の培地に添加した。他の薬剤は、蒸留水に溶解して添加した。

ASM は, rifamycin SV の新しい誘導体で, Farmitalia Carlo Erba, Milono の提供によった。

研究 成 績

1) INH 耐性形式

研究に使用した 3 株が、それぞれ異なった耐性形式を示した。13008 株は, facultative single-step-pattern (F 型) で耐性表現型は 2 種 (Fig.1)。13016 株は, obligatory single-step-pattern (O 型) で、耐性表現型は 1 種 (Fig.2)。13034 株は, two step-pattern (T 型) で、もちろん、耐性表現型は 2 種

(Fig.3)。3 株ともに耐性上限があり、それぞれ、100, 20, 100 $\mu\text{g/ml}$ であった。原株の耐性度は、それぞれ、0.4, 1.25, 0.4 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2) SM 耐性形式

13008 株は T 型, 13016 株も T 型, 13034 株は O 型であった。原株の耐性度は、それぞれ、1.6, 3.13, 50 $\mu\text{g/ml}$ であった (Fig.4~6)。

3) KM 耐性形式

原株の耐性度は、それぞれ、12.5, 3.13, 50 $\mu\text{g/ml}$ と異なっていたが、耐性形式は、3 株とも O 型であった。即ち、原株中に耐性度無限大といえる高耐性菌が存在していた。(Fig.7~9)。

4) EVM 耐性形式

13008 株は O 型で、耐性表現型は 1 つしかなく、耐性上限も 12.5 $\mu\text{g/ml}$ という低い濃度にあった (Fig.10)。

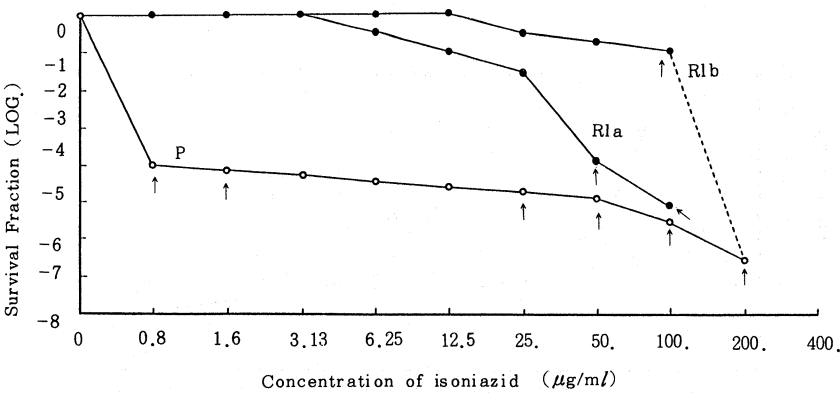


Fig. 1. Pattern of development of isoniazid resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008. Arrows show the concentrations from which single colonies were picked up.

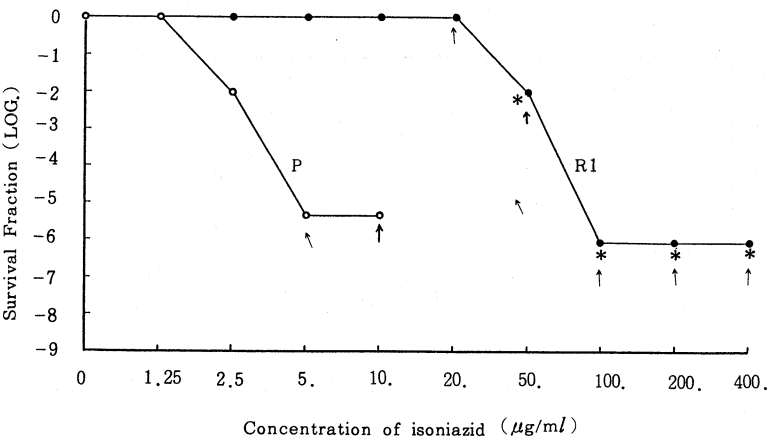


Fig. 2. Pattern of development of isoniazid resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016.

* Small colonies grown after incubation for 8 weeks.

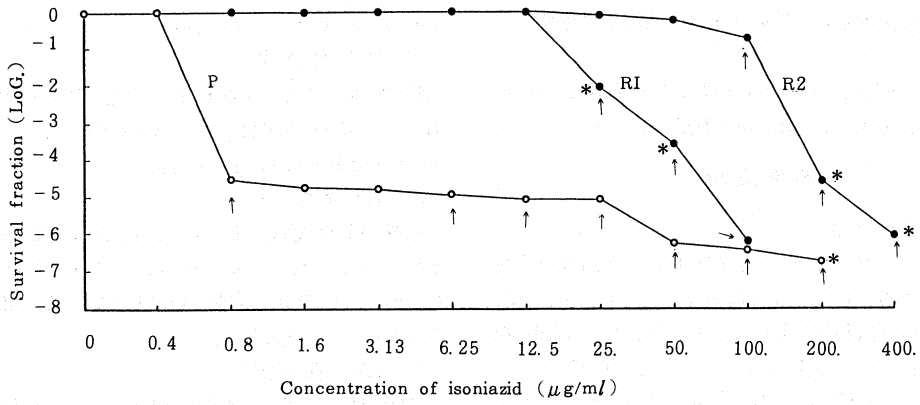


Fig. 3. Pattern of development of isoniazid resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034.

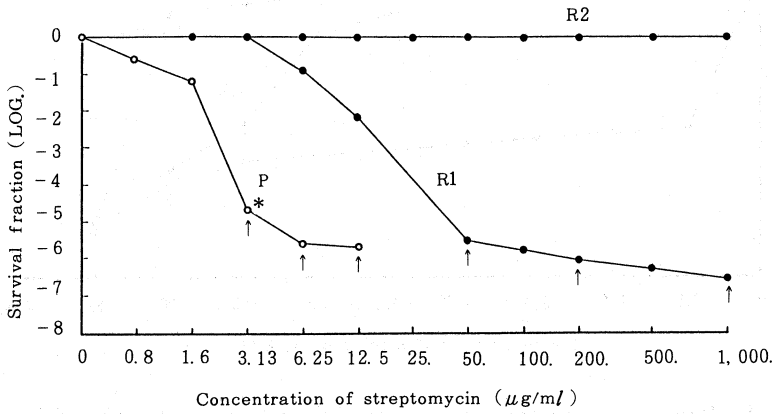


Fig. 4. Pattern of development of streptomycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008.

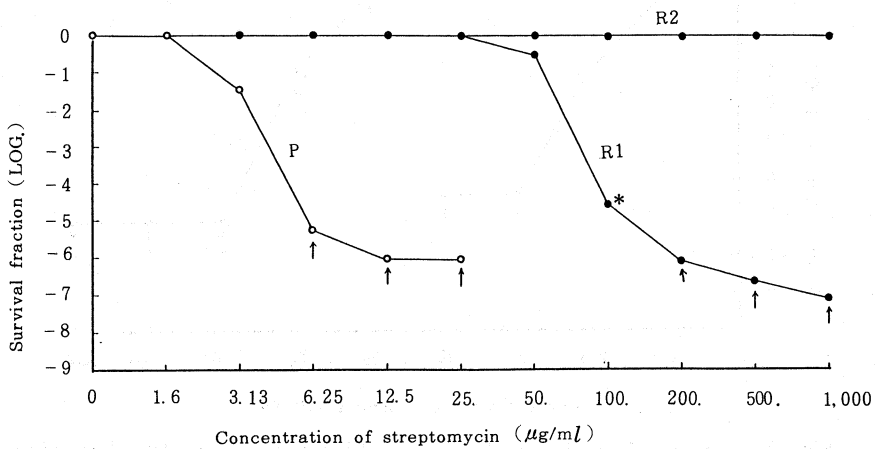


Fig. 5. Pattern of development of streptomycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016.

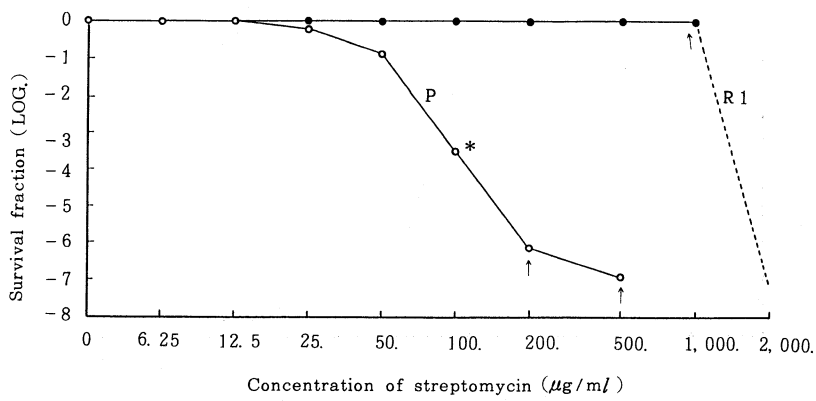


Fig. 6. Pattern of development of streptomycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034. Resistant mutants could be isolated only after incubation for 6 weeks.

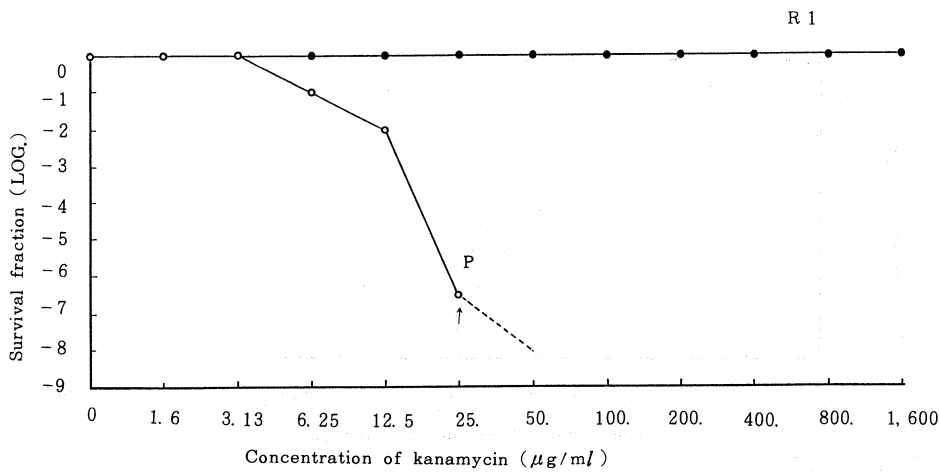


Fig. 7. Pattern of development of kanamycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008.

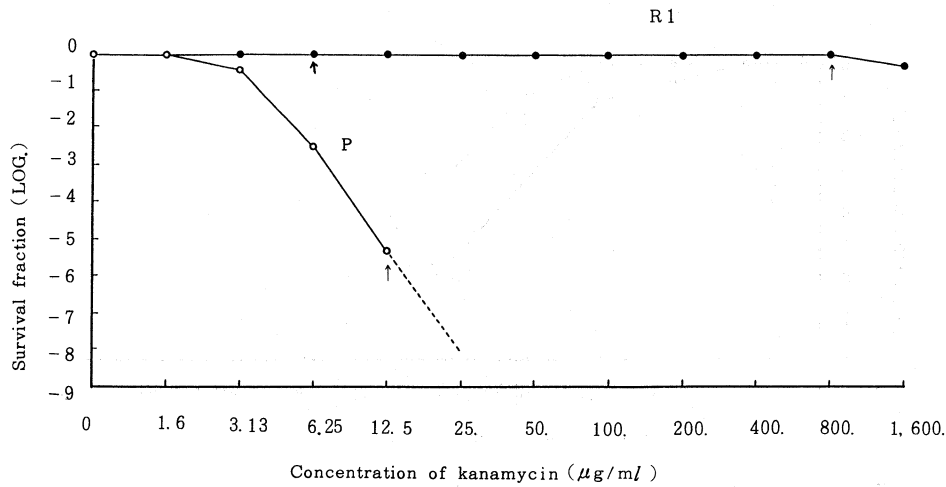


Fig. 8. Pattern of development of kanamycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016.

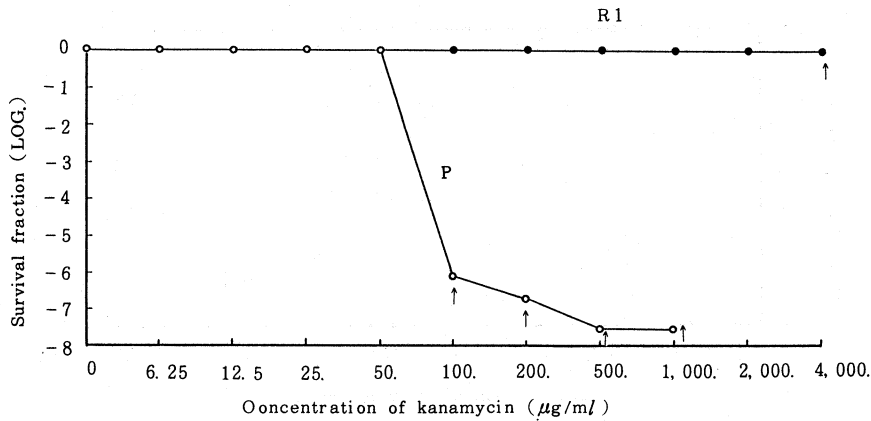


Fig. 9. Pattern of development of kanamycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034.

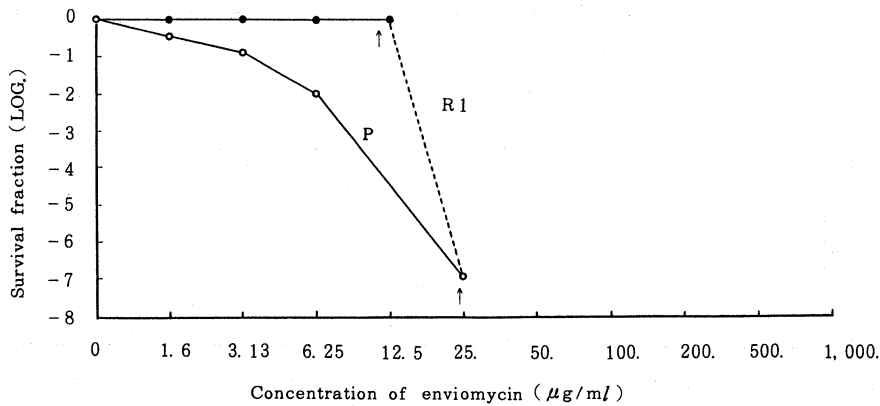


Fig. 10. Pattern of development of enviomycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008.

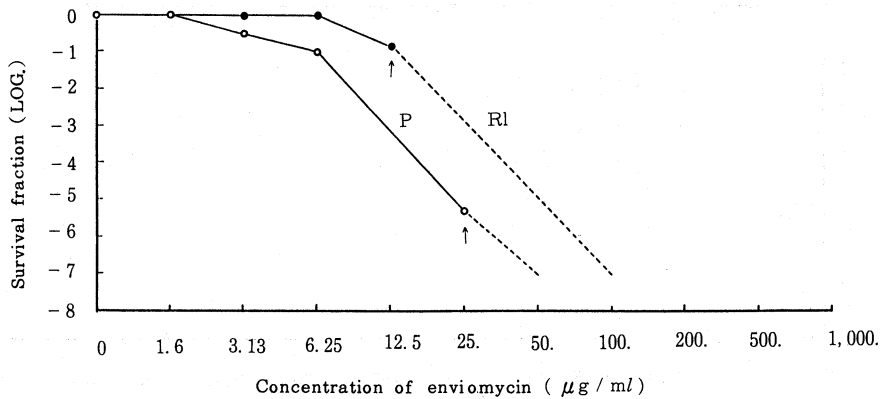


Fig. 11. Pattern of development of enviomycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016. Dotted line shows that no growth colony has not been isolated, even at the rate indicated by the end of arrow.

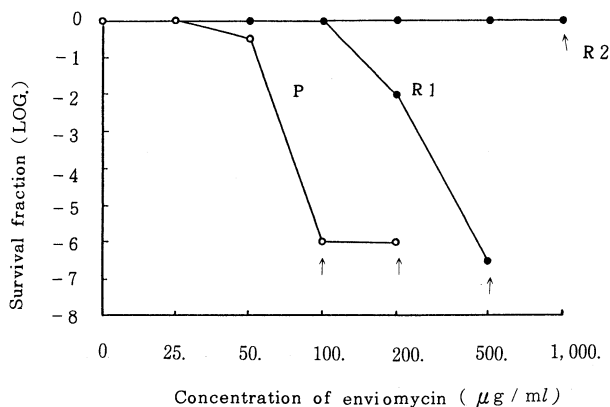


Fig. 12. Pattern of development of enviomycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034.

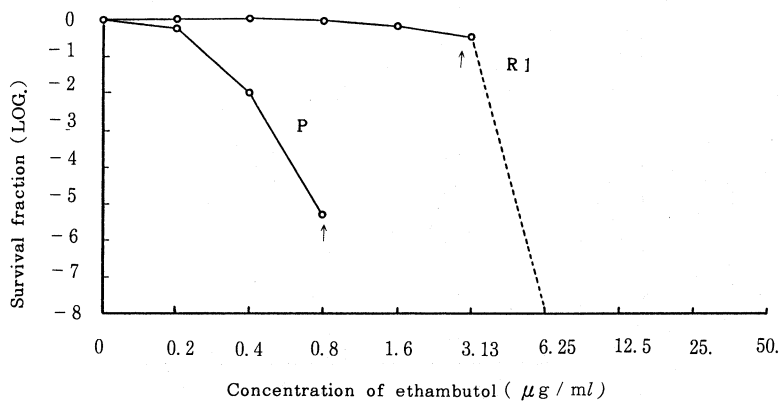


Fig. 13. Pattern of development of ethambutol resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008.

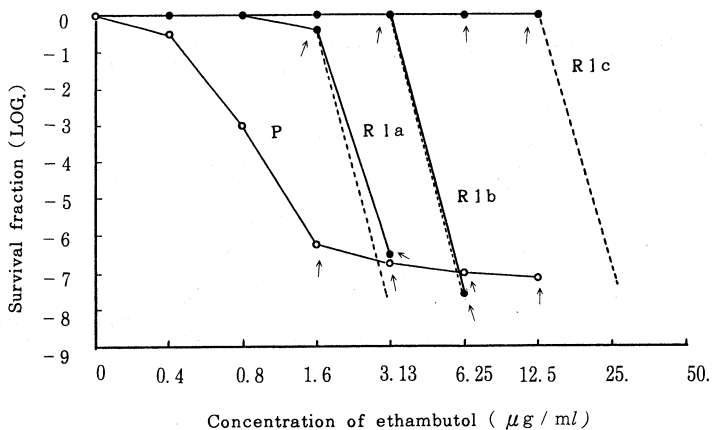


Fig. 14. Pattern of development of ethambutol resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016. No higher resistance was obtained from the R1 strains.

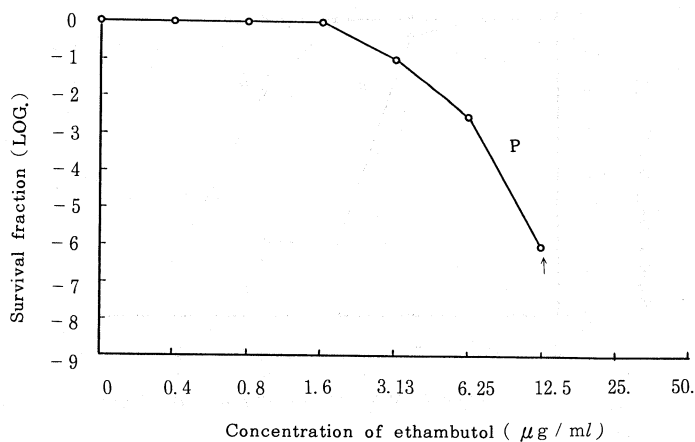


Fig. 15. Pattern of development of ethambutol resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034.

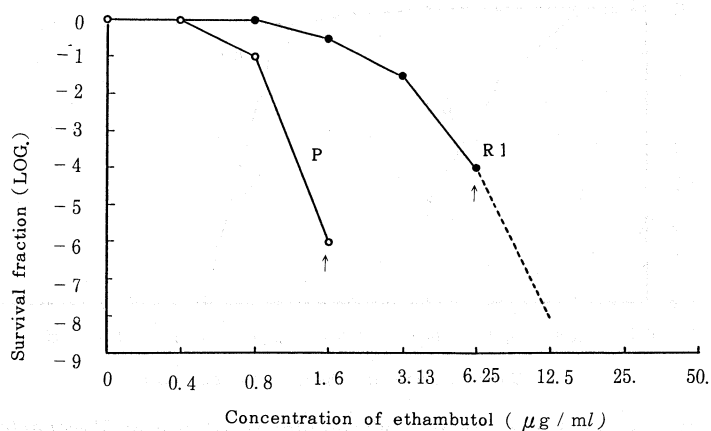


Fig. 16. Pattern of development of ethambutol resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13038.

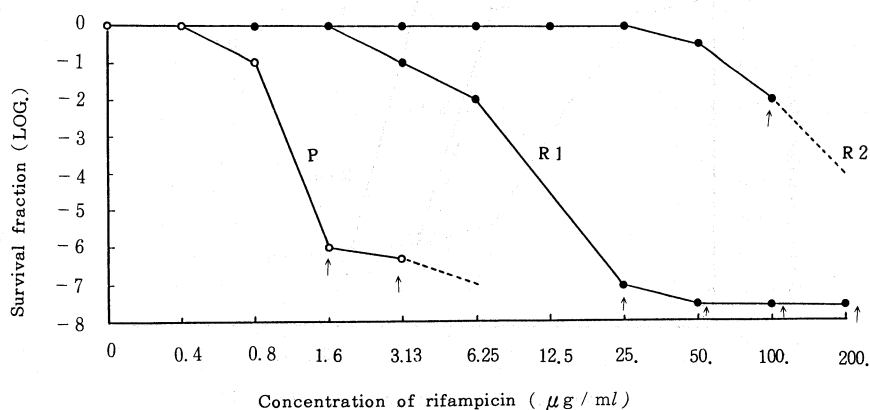


Fig. 17. Pattern of development of rifampicin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008.

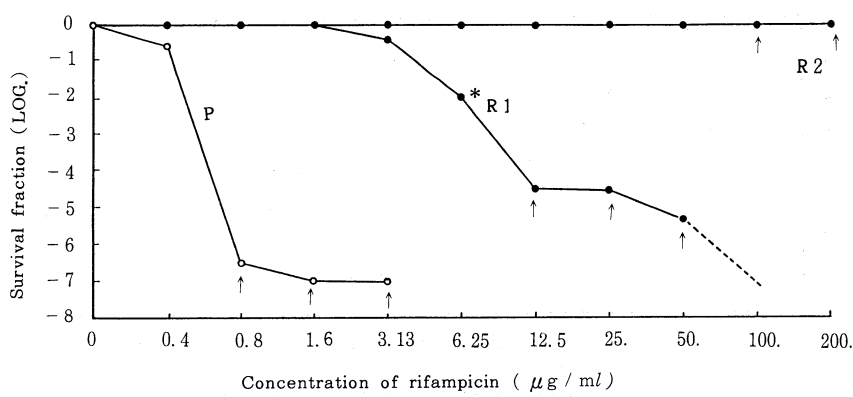


Fig. 18. Pattern of development of rifampicin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016.

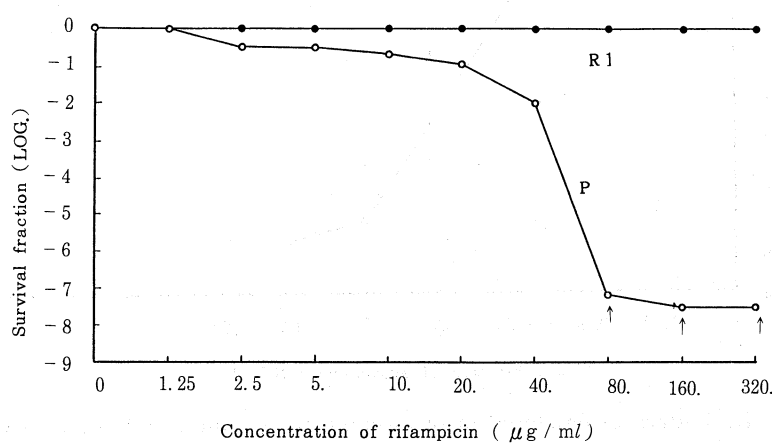


Fig. 19. Pattern of development of rifampicin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034.

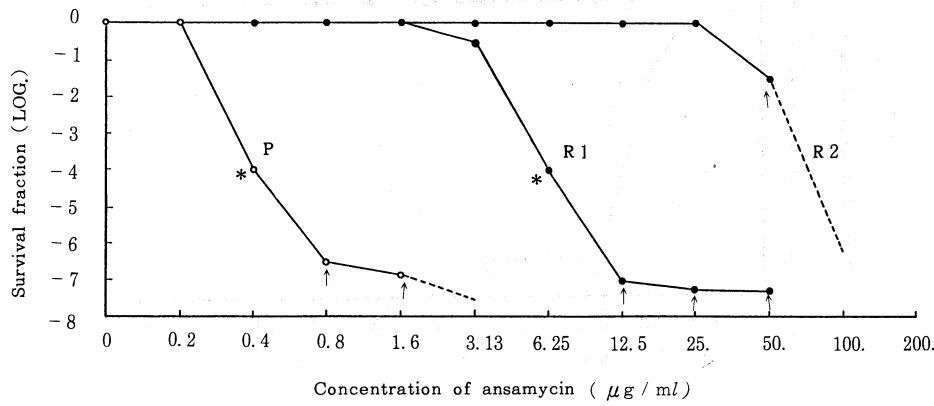


Fig. 20. Pattern of development of ansamycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13008.

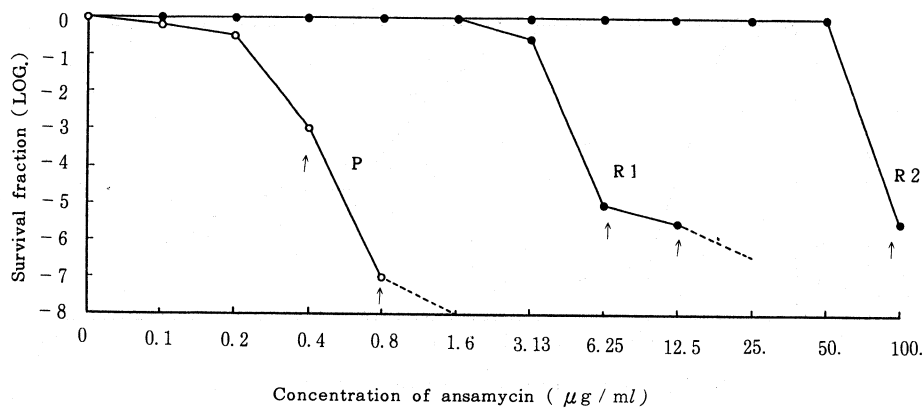


Fig. 21. Pattern of development of ansamycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13016.

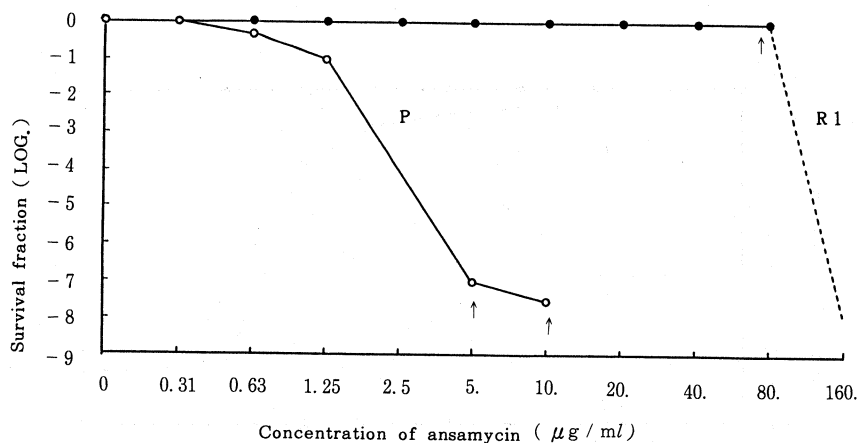


Fig. 22. Pattern of development of ansamycin resistance in *Mycobacterium avium* complex strain 13034.

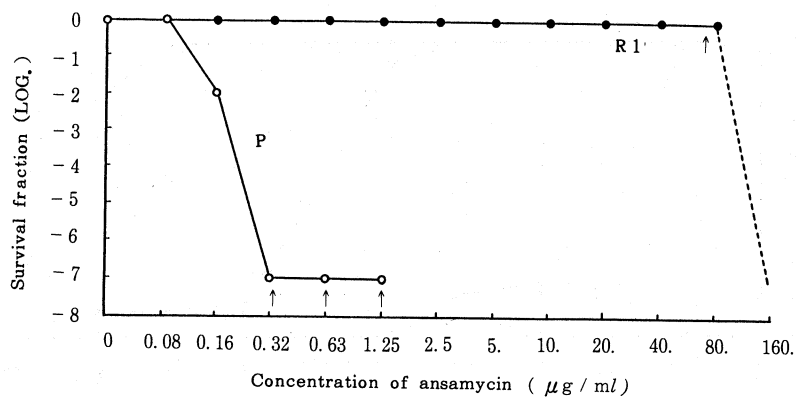


Fig. 23. Pattern of development of ansamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strain 05001 (H37Rv).

Table The patterns of development of resistance to antituberculosis agents in *Mycobacterium avium* complex and *Mycobacterium tuberculosis* strains

Agent		<i>Mycobacterium avium</i> complex			<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Strains H37Rv and Aoyama-B
		Strain 13008	Strain 13016	Strain 13034	
Isoniazid	Susceptibility ^a	0.4	2.5	0.4	0.02
	Mutation frequency ^b	10 ⁻⁴ - 10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶
	Pattern ^c	Facultative	Obligatory	Two step	Two step
	No. of phenotypes ^d	2	1	2	2 or 4
	Upper limit ^e	250 x	20 x	250 x	2,500 - 10,000 x
Streptomycin	Susceptibility	1.6	3.13	5.0.	2.5
	Mutation frequency	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷	10 ⁻⁶ or 10 ⁻⁸
	Pattern	Two step	Two step	Obligatory	Facultative
	No. of phenotypes	2	2	1	2
	Upper limit	> 625 x	> 625 x	20 x	> 1,000 x
Kanamycin	Susceptibility	12.5	6.25	50.	20.
	Mutation frequency	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷	10 ⁻⁶ or 10 ⁻⁷ - 10 ⁻⁸
	Pattern	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Facultative
	No. of phenotypes	1	1	1	2
	Upper limit	> 256 x	> 512 x	> 80 x	> 1,000 x
Enviomycin	Susceptibility	3.13 - 6.25	6.25	50.	10.
	Mutation frequency	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶ or 10 ⁻⁸
	Pattern	Obligatory	Obligatory	Two step	Facultative
	No. of phenotypes	1	1	2	2
	Upper limit	2 - 4 x	2 x	> 20 x	> 2,000 x
Ethambutol	Susceptibility	0.2 - 0.4	0.4	3.2	1.
	Mutation frequency	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷	No mutants	10 ⁻⁶
	Pattern	Obligatory	Facultative		Obligatory
	No. of phenotypes	1	3	0	1
	Upper limit	8 - 16 x	32 x	No increase	5 x
Rifampicin	Susceptibility	0.8	0.4	40.	6.25 - 12.5
	Mutation frequency	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷
	Pattern	Two step	Two step	Obligatory	Obligatory
	No. of phenotypes	2	2	1	1
	Upper limit	128 x	> 500 x	> 8 x	> 20 x
Ansamycin	Susceptibility	0.2	0.2	1.25	0.16
	Mutation frequency	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷
	Pattern	Two step	Two step	Obligatory	Obligatory
	No. of phenotypes	2	2	1	1
	Upper limit	250 x	250 x	64 x	500 x

a The resistance level ($\mu\text{g/ml}$) of the parent strain measured by the actual count method (22).

b The mutation frequency of the first step resistance.

c The pattern of development of drug-resistance. Obligatory, Obligatory single step-pattern; Facultative, Facultative single step-pattern; Two step, Two step-pattern.

d The number of resistant phenotypes.

e The upper limit of resistance to which the test strain could attain. It is expressed as a multiple of the resistance level of the parent strain which was measured by the actual count method.

Remark. The data of *M. tuberculosis* strains were cited from Tsukamura et al. (1-15).

同じく 13016 株も O 型で、耐性上限は $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig.11)。これに対して、13034 株は T 型で、耐性上限も $1,000 \mu\text{g/ml}$ 以上であった (Fig.12)。

5) EB 耐性形式

EB 耐性形式も、INH の場合と同じく、3 株 3 様であった。まず、13008 株は O 型で、耐性表現型は唯一、耐性上限も $3.13 \mu\text{g/ml}$ と低かった (Fig.13)。13016 株は、F 型で耐性表現型は 3 種であった。このいずれもが原株中に見出された。3 種の耐性菌の中の耐性度の最も高い菌の耐性度は $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig.14)。13034 株の耐性度は $3 \mu\text{g/ml}$ 程度であった。原株を EB $12.5 \mu\text{g/ml}$ 培地に接種すると 10^6 生菌単位に約 1 個の割合で、この培地に発育する集落がみられた。しかし、これをいったん薬剤なしの培地で増殖させて、その生残曲線をとると、原株のそれと同じ生残曲線が得られた (Fig.15)。即ち、耐性株を得ることはできなかった。なお、EB については、他の 1 株、13038 株 (血清型 18) についても検したが、その耐性形式は、13008 株と同じ O 型であった (Fig.16)。

6) RFP 耐性形式

13008 株は、原株の耐性度 $0.8 \mu\text{g/ml}$ と低かったが、その耐性形式は T 型であった (Fig.17)。13016 株も原株の耐性度 $0.4 \mu\text{g/ml}$ と低かったが、耐性形式は T 型であった (Fig.18)。13034 株は、原株の耐性度が $40 \mu\text{g/ml}$ と高かったが、耐性形式は O 型であった (Fig.19)。即ち、原株の耐性度が低い前 2 株では、耐性表現型が 2 つあり、原株の耐性度が始めから高い 13034 株では、耐性表現型は 1 つしかなかった (ただし、 $320 \mu\text{g/ml}$ 以上は、培地作製不能—propylene glycol の量が多くなる—であったので検討できない)。

7) ASM 耐性形式

13008 株は、原株の ASM 耐性度が $0.2 \mu\text{g/ml}$ と低く、耐性形式は T 型、耐性表現型は 2 つであった (Fig.20)。13016 株も原株の耐性度 $0.2 \mu\text{g/ml}$ で、耐性形式は T 型、耐性表現型は 2 つであった (Fig.21)。しかし、耐性上限が比較的低く、両者ともに $50 \mu\text{g/ml}$ であった。これに対して、原株の耐性度が、 $1.25 \mu\text{g/ml}$ と比較的高かった 13034 株では、耐性形式は O 型で、耐性表現型も 1 つであった。この株の耐性上限は、 $80 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig.22)。

ASM については、*M. tuberculosis* H37Rv 株の耐性形式も研究した。その結果は、耐性形式は O 型で、耐性表現型は 1 つだけであり、耐性上限は $80 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig.23)。

考 察

1. 菌株による耐性形式の差

被検 3 株の中で、13008 株と 13016 株の 2 株は、INH

を例外として、すべての抗結核剤 (SM, KM, EVM, EB, RFP, ASM) に比較的感受性が高く、13034 株は低かった。

前 2 株は、SM, EVM, RFP, ASM に関して同じ耐性形式を示し、後の 1 株は異なった耐性形式を示した。一方、KM については、3 株とも同じ耐性形式を示し、INH 及び EB については、3 株 3 様の耐性形式を示した (Table)。従って、比較的感受性の高い 2 株と低い 1 株とは、少なくとも SM, EVM, RFP, ASM について異なった遺伝的要素をもつものと思われる。そして、前 2 株は共通の遺伝的要素をもつことが示唆される。しかし、INH, EB, KM 耐性を支配する遺伝的要素は、上記 4 剤に対するものとは別物であろうと考えられる。このように、同一菌種に属しながら、耐性に関する遺伝的要素が異なっている株があることが注目された。

2. *M. avium* complex と *M. tuberculosis* との耐性形式の差

INH と EB を除いて、他の抗結核剤に対する耐性形式は、*M. avium* complex と *M. tuberculosis* とで異なっていると思われる (Table)。SM 及び EVM について、*M. avium* complex 3 株は、two-step pattern または obligatory single-step pattern であるのに対し、*M. tuberculosis* は、facultative single-step pattern であった。また、RFP 及び ASM については、*M. avium* complex は上と同じ形式であるのに、*M. tuberculosis* は obligatory single-step pattern であった。KM については、*M. avium* complex は obligatory single-step pattern であるのに対し、*M. tuberculosis* は facultative single-step pattern で、耐性表現型は 2 つであった。このように、両者の間では、耐性形式が異なり、従って、耐性に関する遺伝的体系も異なることが示唆された。

3. *M. avium* complex の抗結核剤耐性形式と臨床との関連性

単個集落由来の菌株 (clone) は $10^{-4} \sim 10^{-7}$ の比率で耐性菌を含んでいた。*M. avium* complex 株は S 型集落を作り、*M. tuberculosis* のように clumping を示さないで、単個集落は単個菌かまたはそれに近い少数菌の子孫と考えられる。従って、起原となる菌が感受性菌であることは確実である。この菌集団を薬剤培地に接種して $10^{-4} \sim 10^{-7}$ の率で得られた耐性菌は単個菌由来と考えてよい。得られた耐性株の性状は安定していて、5~6 代薬剤なし培地に継代しても不変である。従って、変異は遺伝的変異であることは確実で、耐性菌は自然突然変異による耐性菌と考えてよい。以上の結果は、*M. avium* complex における薬剤耐性も突然変異によることを示している。本報に示したように、薬剤の選択により容易に耐性株が得られることは、*M. avium*

complex の場合も、*M. tuberculosis* の場合と同様に、化学療法により耐性株が出現することを強く示唆している。

KM, SM, EVM の3薬剤について比較的感受性の高い2株の耐性形式をみると、KM は one step で高耐性菌が得られるのに、SM では two step ではじめて高耐性菌が得られる (Fig.7, 8 と Fig.4, 5)。これに対して、EVM は one step で低耐性菌が得られるだけで高耐性菌がとれない。従って、*in vitro* 実験の結果だけからみると、KM が高耐性発現が速く、最も不利と考えられ、SM がこれに次ぎ、EVM が最も有利と思われる。このような理論が、臨床の実際に通用するかどうかは、臨床研究の結果を待たねばならない。

のこりの INH, EB, RFP, ASM のいずれについても、*in vitro* 実験の結果は、臨床適用で耐性発現が起ることを示唆している。

INH, EB に関する耐性形式が、3株3様であるのは興味深く思われる。比較的高耐性の13034株が、耐性の上昇を示さなかったことは興味がある。たぶん、耐性菌の栄養要求性が高く、発育しにくいというような機作によるものと想像されるが、このような株は、元々 EB 耐性度が高いので、臨床的意義は少ないと思われる。

4. 交叉耐性

RFP と ASM は、ともに Rifamycin SV の誘導体である。*M. avium* complex 株の RFP と ASM に対する感受性については、部分的な交叉耐性があるといわれる²³⁾。しかし、RFP または ASM 存在下で増殖した菌の「獲得耐性」についての研究はまだ行われていない。本報では、これを行ったが、RFP 耐性と ASM 耐性の間には完全交叉耐性があることが分かった。データは示さなかったが RFP で分離された R_1 株 (Fig.17~19) と ASM によって分離された R_1 株 (Fig.20~22) の RFP 及び ASM に対する耐性度は同じであった。また、 R_2 株についても、同様な結果が得られた。従って、RFP で選択した場合も、ASM によって選択した場合も、同じ RFP-ASM 耐性菌がとれるのだと思われる。

一方、*M. tuberculosis* では、SM, KM, EVM について、*in vitro* 実験である程度の交叉耐性がみられた¹⁴⁾¹⁵⁾。H37Rv 株の原株の中には、おおよそ 10^{-8} の割合で、KM-EVM-VM-CPM-LVM-PM 6重耐性菌がとれる¹⁴⁾¹⁵⁾ (LVM は Lividomycin, PM は Paromomycin)。また、いったん、SM 高耐性にする、上記の6重耐性菌は、SM 高耐性株からは分離できなくなる¹⁴⁾。しかし、*M. avium* complex については、データは示さなかったが、SM, KM, EVM の間に全く交叉耐性はみられず、SM, KM, EVM 耐性菌は、他の薬剤に対し、全く感性菌同様の感受性を示した。

総 括

Mycobacterium avium complex の3菌株について、抗結核剤に対する耐性発現形式を研究した。被検3株の中で、13034株は、INHを除く抗結核剤に元来感受性が低く、他の13008株と13016株は比較的高かった。*M. avium* complex の耐性形式は、複雑で、13034株と他の2株は、頻々異なった形式を示した。

(1) RFP, ASM 及び SM については、13008株と13016株は two-step pattern を示し、13034株は obligatory single-step pattern を示した。

(2) KM については、3株ともが obligatory single-step pattern で、原株中に高度耐性株がみつかった。

(3) EVM については、13008株と13016株の2株は、obligatory single-step pattern で、原株の2~4倍の耐性度を示す耐性菌しか得られなかった。

(4) EB 及び INH については、耐性形式は、3株3様であった。13034株からは EB 耐性菌を分離できなかった。

(5) *M. avium* complex においても、特殊な例外を除き、原株に突然変異に由来すると思われる耐性菌を含んでおり、抗結核剤の使用により耐性菌集団を容易に生じ得ることが示唆された。

文 献

- 1) Tsukamura, M. et al. : A genetic study on the streptomycin resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. Jpn J Genetics, 33 : 341, 379, 1958.
- 2) Tsukamura, M. et al. : Genetic considerations of the mechanisms involved in PAS-resistant tubercle bacilli. Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis., 79 : 371, 1959.
- 3) Tsukamura, M. et al. : A genetic study on the PAS-resistance system of *Mycobacterium tuberculosis*. Jpn. J. Genetics, 34 : 43, 1959.
- 4) Tsukamura, M. et al. : Genetic studies on the 4-acetyl-aminobenzaldehyde-thiosemicarbazone (tibione) resistance in *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*. Jpn J Microbiol., 3 : 17, 1959.
- 5) Tsukamura, M. et al. : A genetic study on the cycloserine resistance of *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*. Jpn J Microbiol., 3 : 1, 1959.
- 6) Tsukamura, M. : Further mutational studies

- on the PAS resistance of *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*. J. Gen Microbiol, 23 : 203, 1960.
- 7) Tsukamura, M. : Variation and heredity of mycobacteria with special reference to drug resistance, Jpn J Tuberc, 9 : 43, 1961.
 - 8) Tsukamura, M. : Resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* to alpha-ethylthioisonicotinamide, Am Rev Respir Dis, 85 : 584, 1962.
 - 9) Tsukamura, M. et al. : Genetic studies on the isoniazid resistance-system of *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*. Jpn J Microbiol, 3 : 113, 1959.
 - 10) Tsukamura, M. et al. : Resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* to cycloserine, Jpn J Tuberc, 11 : 36, 1963.
 - 11) Tsukamura, S. et al. : Resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis* to rifampicin SV. Jpn J Microbiol, 5 : 457, 1961.
 - 12) Tsukamura, M. : Resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* to ethambutol, Acta Tuberc, et Pneumol Scand, 46 : 89, 1965.
 - 13) Tsukamura, M. : The pattern of resistance development to rifampicin in *Mycobacterium tuberculosis*, Tubercle, 53 : 111, 1972.
 - 14) Tsukamura, M. and Mizuno, S. : Studies on the crossresistance of *Mycobacterium tuberculosis*, strain H37Rv, to aminoglycoside and peptide antibiotics, Microbiol Immunol, 24 : 777, 1980.
 - 15) Tsukamura, M. and Mizuno, S. : Cross-resistance relationships among the aminoglycoside antibiotics in *Mycobacterium tuberculosis*. J Gen Microbiol, 88 : 269, 1975.
 - 16) 水野松司他 : 種々の抗酸菌の Ethambutol 感受性について, 特に *M. avium* と *M. terrae* の区別について, 日本細菌学雑誌, 21 : 672, 1966.
 - 17) Tsukamura, M. : Susceptibility of *Mycobacterium intracellulare* to rifampicin : a trial of ecological observation, Jpn J Microbiol, 16 : 444, 1972.
 - 18) 内藤祐子他 : 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性, 結核, 54 : 423, 1979.
 - 19) 束村道雄・野田 用 : 小川培地斜面と渦巻白金耳接種を用いる結核菌生菌数の測定, 結核, 32 : 639, 1957.
 - 20) 束村道雄他 : 小川培地斜面と渦巻白金耳接種を用いる結核菌生菌数の測定, 第2報, 希釈誤差と希釈液について, 結核, 33 : 43, 1958.
 - 21) 束村道雄・中村栄一 : Viable bacterial numbers 算定の際に起る希釈誤差の評価について, 日本細菌学雑誌, 13 : 916, 1958.
 - 22) Tsukamura, M. : "Actual count" method for the resistance test of tubercle bacilli, Jpn J Tuberc, 12 : 46, 1964.
 - 23) Heifets, L. B. and Iseman, M. D. : Determination of *in vitro* susceptibility of mycobacteria to ansamycin, Am Rev Respir Dis, 132 : 710, 1985.