

原 著

Mycobacterium avium Complex と *Mycobacterium fortuitum*
及び *Mycobacterium chelonae* の抗結核剤感受性の比較

束 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和 63 年 3 月 30 日

COMPARISON OF MULTIPLE DRUG-RESISTANCE BETWEEN
MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX AND *MYCOBACTERIUM*
FORTUITUM AND *MYCOBACTERIUM CHELONAE*

Michio TSUKAMURA *

(Received for publication March 30, 1988)

The multiple drug-resistance of *Mycobacterium avium* complex strains which were not exposed to antituberculosis drugs was compared with that of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* strains which were also not exposed previously to antituberculosis drugs. The number of strains in this study were 55, 20 and 20, respectively, and the Ogawa egg medium was used in the drug susceptibility testings.

The distribution curves of minimal inhibitory concentrations of rifampicin, minocycline and kitasamycin for the *M. avium* complex strains were bimodal and the strains were divided into two groups, one naturally highly resistant and another relatively susceptible. The susceptibility to rifampicin was correlated to the susceptibility to minocycline and to the susceptibility to kitasamycin (Tables 1 and 2). The susceptibility of the naturally resistant group of the *M. avium* complex strains to rifampicin, minocycline and kitasamycin were almost similar to the susceptibility of *M. fortuitum* and *M. chelonae* strains to these drugs.

M. fortuitum and *M. chelonae* strains were more resistant than *M. avium* complex strains in respect to the susceptibility to most drugs except ethionamide.

The susceptibility to rifampicin of the susceptible group of the *M. avium* complex was almost equal to that of *Mycobacterium tuberculosis* strains. This finding suggests that rifampicin may be useful in the treatment of infection due to rifampicin-susceptible strains of the *M. avium* complex. Furthermore, it was shown also that the susceptibilities to enniomycin and kanamycin of the *M. avium* complex strains are not so markedly different from those of *M. tuberculosis* strains. This suggests that these drugs may, to some extent, be useful in the treatment.

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

Key words : *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae*, Susceptibility to antituberculosis drugs

キーワード : *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae*, 抗結核剤感受性

緒言

Mycobacterium avium-*Mycobacterium intracellulare* complex (*Mycobacterium avium* complex), *Mycobacterium fortuitum* 及び *Mycobacterium chelonae* は、いずれも抗結核剤に対して元来感受性が低い抗酸菌として知られている¹⁾。しかし、抗結核剤に「自然耐性」があるといっても、具体的にどの程度の耐性があるのか、比較的に高い濃度までの薬剤を使用して比較研究したものはない。我々は、本報で、これを行ってみた。

研究方法

Mycobacterium avium complex, *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* は、いずれも患者感染株で、抗結核剤投与前に、喀痰から分離された（一部、肺切除病巣分離株を含む）。菌株数は、各々、55株、20株、20株で、各株は別々の患者から分離された。*M. chelonae* は、subspecies *chelonae* 10株、subspecies *abscessus* 10株を合わせた。これらの菌株の同定は、既報の方法によった²⁾³⁾。

M. avium complex は、1%小川培地に37°C 14日間、*M. fortuitum* と *M. chelonae* は、3日間培養して集落をとり、ガラス玉コルベンで振盪して均一化した後、0.1% Tween 80水溶液に10mg 湿菌量/mlの割合に浮遊させて菌液とした。感受性テスト（自然耐性度測定）には、この菌液の0.02mlを渦巻白金耳で培地に接種した。感受性テストに使用した培地は「1%小川培地」で、次の組成を持つ。原液（1% KH_2PO_4 及び1% sodium glutamate 含有水溶液）、100ml；全卵液、200ml；glycerol、6ml；2% malachite green 水溶液、6ml (pH 6.8)。

Streptomycin sulfate (明治製菓、東京)、kanamycin sulfate (明治製菓、東京)、enviomycin sulfate (東洋醸造、静岡)、ethambutol (科研化学、東京)、isoniazid (塩野義製菓、大阪)、kitasamycin (東洋醸造、静岡)、minocycline hydrochloride (日本レダグリー、東京)は、蒸留水に溶解し、rifampicin (Lepetit, Milano, Italy)、ethionamide (塩野義製菓、大阪)、sulfadimethoxine (中外製薬、東京)は、propylene glycol に溶解し、薬剤液1容を、滅菌前の

小川培地100容に加えて所定の濃度とした。使用濃度は、各図に示してある。これに、各薬剤について1本ずつの対照培地（薬剤なしの小川培地）を設定した。培地は、7mlずつを、165×16.5mmの試験管に分注し、90°C 60分滅菌して斜面培地とした。上記の薬剤については、次の略号を以下に使用する。SM, KM, EVM, EB, INH, KT, MC, RFP, TH, SX。

菌を接種した試験管には、底に3mmの切れ目のある「ダブルゴム栓」を覆せ、37°Cに培養した。最小発育阻止濃度(MIC)は、*M. avium* complexでは、14日培養後に、*M. fortuitum* と *M. chelonae* では7日培養後に、菌膜を生じない濃度として判定した。

注。*M. chelonae* subsp. *chelonae* は、分離培養の際には、28°Cの方が37°Cよりも発育がよい。しかし、いったん分離継代した後は、37°Cでよく発育する。従って、上記のMIC測定では37°C培養によった。

研究成績

M. avium complex と *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* の抗結核剤感受性の比較の成績を Fig. 1~3 に示す。その結果は次のごとくいえると思われる。

1) *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* の方が、*M. avium* complex よりも明らかに感受性が低い薬剤は、RFP, SM, KM, EVM, MC, SX, KTである。

2) *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* と比較して、*M. avium* complex の感受性があまり変わらない薬剤は、THである。

3) EB感受性については、*M. chelonae* は明らかに *M. avium* complex よりも感受性が低いが、*M. avium* complex と *M. fortuitum* との感受性の差は、はっきりしない。

4) INH感受性に関しても、*M. fortuitum* 及び *M. chelonae* の方が、感受性が低い傾向を示す。

5) *M. fortuitum* と *M. chelonae* の感受性はほぼ等しい。ただし、MC感受性については、*M. chelonae* の方が *M. fortuitum* よりも若干感受性が低い。

6) *M. avium* complex 55株の感受性(MIC)の分布は、SM, TH, EB, KM, EVMに関しては、正規分布に近似している。しかし、一方、RFP, MC, KTに関しては、分布曲線は2相性で、おおよそ2群に分けることができる。興味あることに、この2群の感受性の

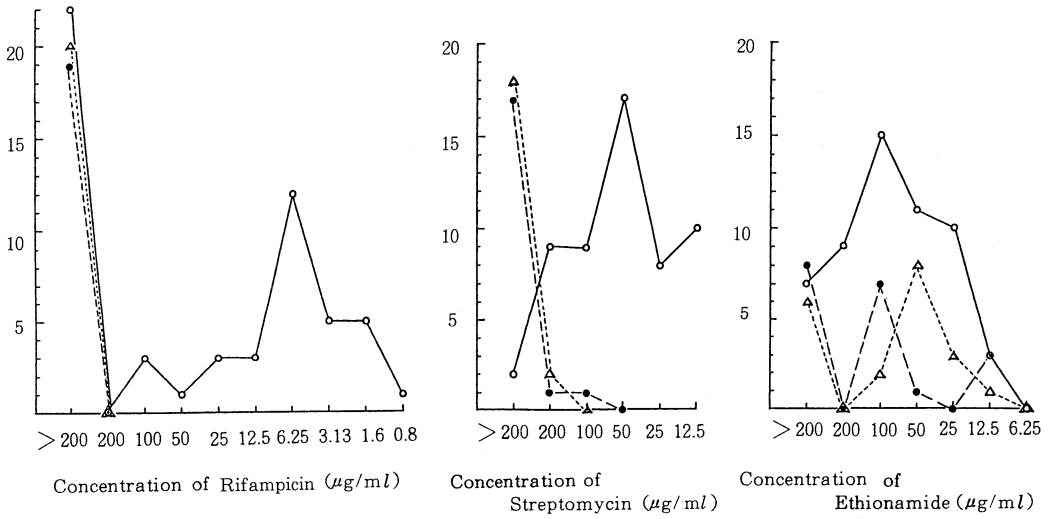


Fig. 1. Comparison of the distribution curve of minimal inhibitory concentrations of rifampicin, streptomycin and ethionamide against *M. avium* complex (open circles), *M. fortuitum* (open triangles) and *M. chelonae* (closed circles) strains.

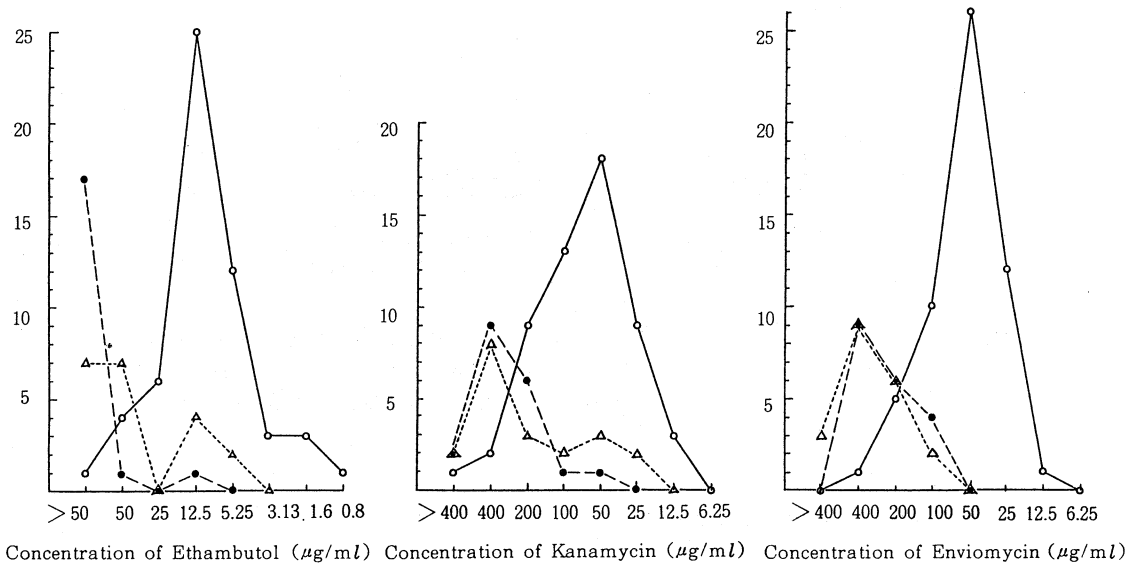


Fig. 2. Comparison of the distribution curve of minimal inhibitory concentrations of ethambutol, kanamycin and enviomycin against *M. avium* complex (open circles), *M. fortuitum* (open triangles) and *M. chelonae* (closed circles) strains.

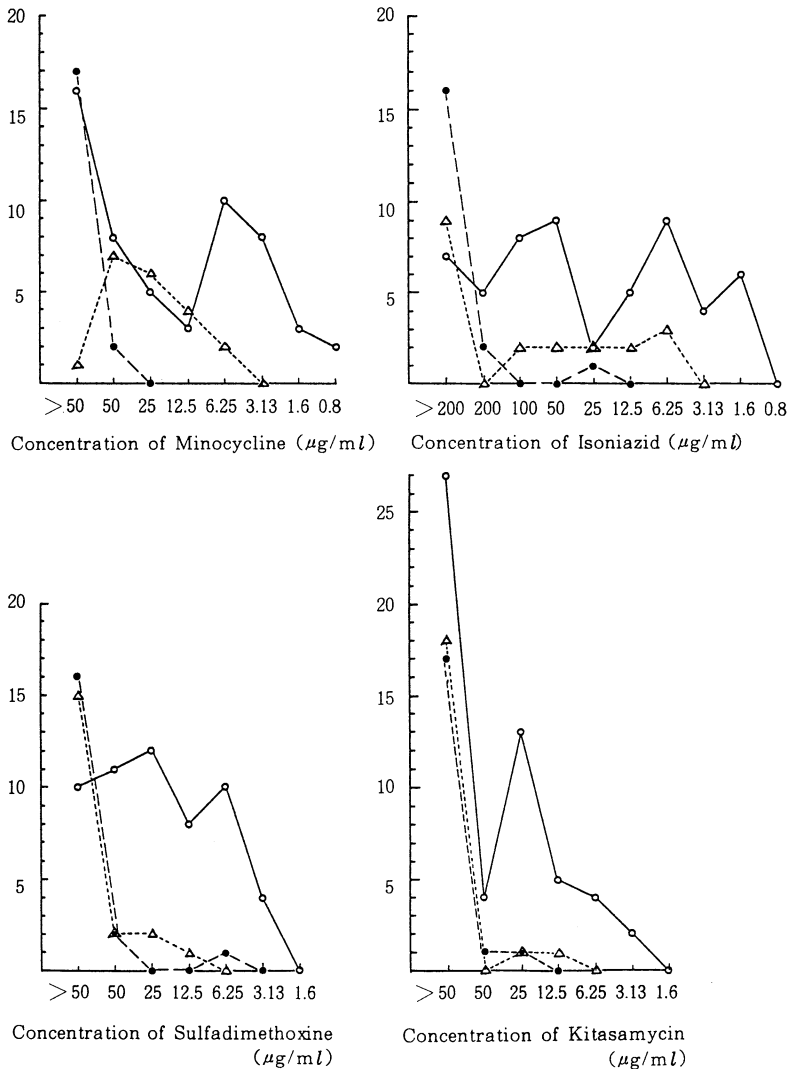


Fig. 3. Comparison of the distribution curve of minimal inhibitory concentrations of minocycline, isoniazid, sulfadimethoxine and kitasamycin against *M. avium* complex (open circles), *M. fortuitum* (open triangles) and *M. chelonae* (closed circles) strains.

低い群と、*M. fortuitum* 及び *M. chelonae* の感受性は、ほぼ等しい。

7) *M. avium* complex は、上記のように、RFP, MC, KT 感受性に関して、感受性が低い群 (自然耐性群) と感受性が高い群 (感性群) の2群に分けることができる (Fig. 1 及び 3)。この2群は、互いに連関があるようで、RFP 自然耐性の菌株は、MC にも自然耐性のことが多い (Table 1)。また、RFP 自然耐性の菌株は、KT にも自然耐性を示すことが多い (Table 2)。

考 察

M. avium complex が、一般に結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) に比して感受性が低いことは、よく知られている事実である。しかし、具体的に、*M. avium* complex の抗結核剤感受性がどの程度のものであるかは知られていない。本報では、この研究を行ったが、結核菌の感受性に比して⁴⁾、確かに、SM, EB, TH, INH については、*M. avium* complex の感受性

Table 1. Correlation of the Susceptibility to Rifampicin to the Susceptibility to Minocycline in 55 Strains of *Mycobacterium avium* Complex which were Isolated from Patients Not Treated Previously by Any Antituberculosis Drugs

	Minimal inhibitory concentration of minocycline($\mu\text{g/ml}$)							
	>50	50	25	12.5	6.25	3.13	1.6	0.8
Minimal inhibitory concentration of rifampicin ($\mu\text{g/ml}$)								
>200	13	6	2		1			
200								
100	1	1	1					
50	1							
25	1		1			1		
12.5	1				1	1		
6.25				1	4	2	3	2
3.13			1		3	1		
1.6	1			2		2		
0.8						1		

The number in table shows the number of strains.

Table 2. Correlation of the Susceptibility to Rifampicin to the Susceptibility to Kitasamycin in 55 Strains of *Mycobacterium avium* Complex which were Isolated from Patients Not Treated Previously by Any Antituberculosis Drugs

	Minimal inhibitory concentration of kitasamycin($\mu\text{g/ml}$)					
	>50	50	25	12.5	6.25	3.13
Minimal inhibitory concentration of rifampicin ($\mu\text{g/ml}$)						
>200	19	2		1		
200						
100	3					
50	1					
25	1		1		1	
12.5	2			1		
6.25		1	4	2	3	2
3.13	1	1	3			
1.6			5			
0.8				1		

The number in table shows the number of strains.

の方が低い。しかし、KM、EVMについては、著明な差があるとは思われない。特に、RFPに関しては、*M. avium* complexは、その感受性によって2群に分かれたれ、「自然耐性群」の感受性は確かに結核菌よりはるかに低い、「感性群」の感受性は、結核菌と著明な差があるとはいえない。この事実は、最近、筆者が指摘したとおりであるが⁵⁾、*M. avium* complexの「感性群」の菌株は、臨床的にもRFPの効果が十分期待できると思われる。*M. avium* complexのRFP感受性は、RFP出現当時にも研究されたのであるが、何故、2群の存在

が分からなかったかといえば、それは、当時、RFP感受性の分布を累積曲線で画いたためであろう⁶⁾⁻¹⁰⁾。

M. avium complexが plasmidsを持つことは報告がある¹¹⁾⁻¹³⁾。しかし、実際に、*M. avium* complexの自然耐性に plasmidsが、どう関与しているかは分かっていない。この事態は、*M. fortuitum*及び*M. chelonae*に関しても同様である¹⁴⁾。ただ、plasmidsと考えて都合のよい結果が本報で得られた。それは、*M. avium* complexのRFP、MC、KT自然耐性がしばしば互いに連関している事実である。この現象は、

RFP, MC, KT 耐性に関与する遺伝子が plasmid の小片に相近接して, loci を持っていると考えれば, 説明に都合がよいからである。しかし, これは, 現在, たんに仮設の段階にとどまる。向後, 我々は, これに関する研究を進めてゆきたい。

M. fortuitum 及び *M. chelonae* の感受性についても, 知られるところが少なかったが, 本報では, これについての若干の知見を提供した。この両者は, RFP, SM, KM, EVM, EB, MC, INH, SX, KT など, TH 以外の抗結核剤に対して, *M. avium* complex よりも, より高度の自然耐性を持つことが明らかとなった。*M. avium* complex は, RFP, MC, KT について, ほぼ2群に分かたれるが, *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* は, *M. avium* complex の「自然耐性群」に, ほぼ匹敵する自然耐性を有していることが分かった。また, *M. fortuitum* と *M. chelonae* は, ほぼ同じ感受性を持つが, MC に対しては *M. chelonae* の方が少しく感受性が低い。

結 論

1. *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* は, Ethionamide 以外の抗結核剤 (Rifampicin, Streptomycin, Kanamycin, Enviomycin, Ethambutol, Isoniazid, Minocycline, Kitasamycin, Sulfadimethoxine) に対して, *M. avium* complex よりも, より感受性が低かった (より高度の自然耐性を示した)。

2. *M. avium* complex の抗結核剤治療前分離株 55 株は, その Rifampicin, Minocycline 及び Kitasamycin 感受性によって, おおよそ2群に分かつことができた。2群中の感受性の低い1群 (自然耐性群) の感受性は, ほぼ, *M. fortuitum* 及び *M. chelonae* の感受性に等しかった。*M. avium* complex 株の Rifampicin, Minocycline 及び Kitasamycin 感受性の間には, 連関関係があるように思われた。

3. *M. avium* complex の Rifampicin 「感性群」の菌株に対しては, Rifampicin の臨床効果が期待できるように思われた。また, Enviomycin 及び Kanamycin の臨床効果も期待できることが示唆された。

文 献

- 1) 束村道雄 : 非定型抗酸菌の薬剤感受性, 臨床と微生物, 13 : 671, 1986.
- 2) Tsukamura, M. : Numerical identification of slowly growing mycobacteria, Microbiol Immunol, 29 : 1039, 1985.
- 3) Tsukamura, M. : Identification of mycobacteria. pp. 1-90, The National Chubu Hospital, Obu, Aichi, Japan, 1984.

- 4) 束村道雄 : *Mycobacterium avium* complex の抗結核剤感受性の特徴—*Mycobacterium tuberculosis* 株と対比して, 結核, 62 : 345, 1987.
- 5) Tsukamura, M. : Two groups of *Mycobacterium avium* complex strains determined according to the susceptibility to rifampicin and ansamycin, Microbiol Immunol, 31 : 615, 1987.
- 6) McClatchy, J. K. et al. : *In vitro* susceptibility of mycobacteria to rifampicin, Am Rev Respir Dis, 100 : 234, 1969.
- 7) Ryneerson, T. K. et al. : Rifampicin : *In vitro* effect on atypical mycobacteria, Am Rev Respir Dis, 104 : 272, 1971.
- 8) Stottmeier, K. D. et al. : Antimycobacterial activity of rifampin under *in vitro* and simulated *in vivo* conditions, Appl Microbiol, 17 : 861, 1969.
- 9) Tsukamura, M. and Tsukamura, S. : Antituberculous action of rifamycin SV. *In vitro* and *in vivo* studies, J Antibiotics Ser A, 15 : 216, 1962.
- 10) Tsukamura, M. : Susceptibility of *Mycobacterium intracellulare* to rifampicin : a trial of ecological observation, Japan J Microbiol, 15 : 444, 1972.
- 11) Crawford, J. T. et al. : Characterization of plasmids from strains of *Mycobacterium avium-intracellulare*, Rev Infect Dis, 3 : 949, 1981.
- 12) Mizuguchi, Y. et al. : Mechanism of antibiotic resistance in *Mycobacterium intracellulare*, Microbiol Immunol, 27 : 425, 1983.
- 13) Meissner, P. S. and Falkinham, J. O., III. : Plasmid DNA profiles as epidemiological markers for clinical and environmental isolates of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* and *Mycobacterium scrofulaceum*, J Infect Dis, 153 : 325, 1986.
- 14) Wallace, R. J. et al. : Mutational resistance as the mechanism of acquired drug resistance to aminoglycosides and antibacterial agents in *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. Evidence is based on plasmid analysis, mutation frequencies, and aminoglycoside-modifying enzyme assays, Am Rev Respir Dis, 132 : 409, 1985.